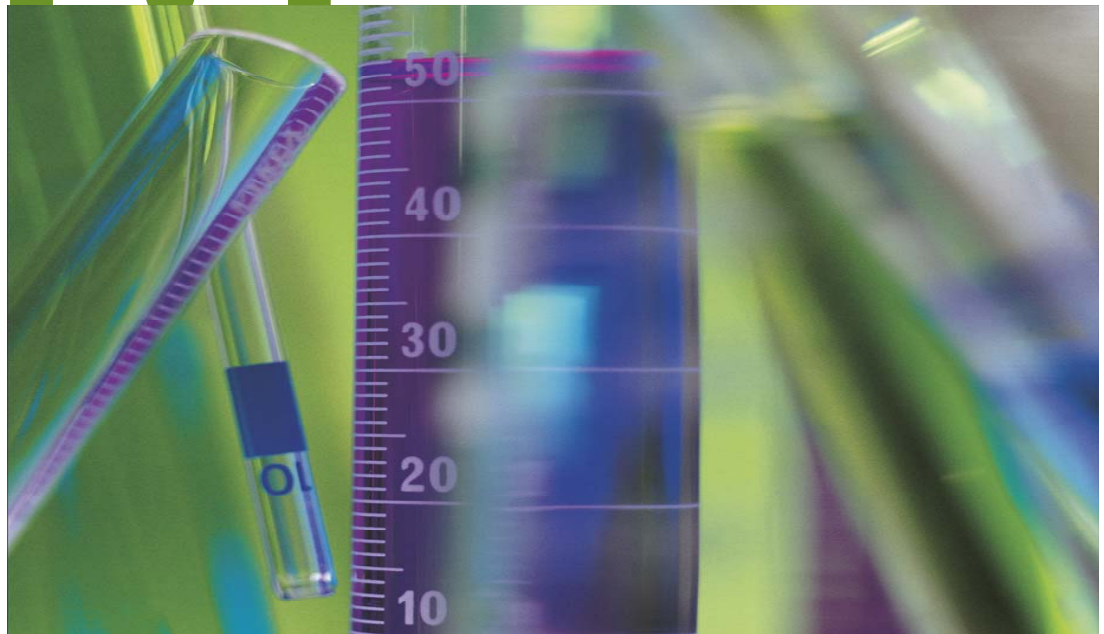


M

Méthodes de laboratoire

Identification des moisissures cultivables

MÉTHODE ANALYTIQUE 340



Applicabilité

Cette méthode est utilisée pour l'identification des moisissures viables.

Norme(s)¹

Aucune norme.

Système d'échantillonnage

N.A.

Volume et débit d'échantillonnage recommandés

N.A.

Analyse

N.A.

Valeur minimale rapportée (VMR)

N.A.

Domaine d'application

N.A.

Fidélité

N.A.

Incertitude analytique (CV_A)

N.A.



Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES

Mission *travaillent pour vous !*

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes.

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST. Abonnement : 1-877-221-7046

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales
2008
ISBN : 978-2-89631-220-7 (PDF)
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
Télécopieur : 514 288-7636
sac.labo@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
2008

Méthodes de laboratoire

Identification des moisissures cultivables

MÉTHODE ANALYTIQUE 340

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document.

En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

Les méthodes d'analyses ou d'étalonnage sont celles mises au point ou retenues par l'IRSST pour l'exécution de ses différents mandats. Elles peuvent requérir l'utilisation de matériels, d'opérations ou d'équipements dangereux. Ces méthodes n'ont pas pour but de mentionner tous les problèmes de sécurité associés avec leur utilisation. C'est la responsabilité de l'utilisateur d'établir les pratiques de santé et de sécurité appropriées. L'utilisation des données incluses dans ces méthodes se fera aux seuls risques de l'utilisateur : l'IRSST se dégage de toute responsabilité relative aux erreurs ou aux dommages qui découleraient de telle utilisation et de telle application. Les hyperliens qui apparaissent dans ce document ont été validés au moment de la publication

Responsable technique de la méthode

*Geneviève Marchand, Ph.D., microbiologiste,
Services et expertises de laboratoire, IRSST*

Approbation

*Geneviève Marchand, Ph.D., microbiologiste,
Marie-Claude Barrette, M.Sc., chimiste,
responsable du programme d'assurance qualité
et Jacques Lesage, M.Sc., chimiste, directeur,*

Services et expertises de laboratoire, IRSST

Autorisation pour publication

*Alain Lajoie, M.Sc., directeur
Direction de la recherche et de l'expertise, IRSST*

Cliquez recherche
www.irsst.qc.ca



Cette publication est disponible
en version PDF
sur le site Web de l'IRSST.
www.irsst.qc.ca

Ce document technique a été financé par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles des auteurs.

CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSST

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document
ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

TABLE DES MATIÈRES

Préambule	1
1. Principe de la méthode.....	2
2. Interférences	2
3. Matériel	2
4. Réactifs.....	2
5. Protocole analytique.....	3
5.1 Isolement d'une culture	3
5.2 Identification d'une moisissure	3
6. Paramètres d'application	3
7. Contrôle de Qualité.....	4
8. Références.....	4

Préambule

La [Loi sur la santé et la sécurité du travail](#) au Québec a comme objet l'élimination à la source des dangers pour la santé, la sécurité et l'intégrité physique des travailleurs. Des valeurs d'exposition admissibles (VEA) aux substances chimiques ont été fixées à l'annexe 1 du [Règlement sur la santé et la sécurité de travail](#) (RSST). L'article 44 de ce règlement intitulé « Méthodes » spécifie que :

« ... Ces gaz, ces fumées, ces vapeurs, ces poussières et ces brouillards présents dans le milieu de travail doivent être prélevés et analysés de manière à obtenir une précision équivalente à celle obtenue en appliquant les méthodes décrites dans le Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail publié par l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail ... »

Pour atteindre ces objectifs, des méthodes d'analyse visant à quantifier le degré d'exposition des travailleurs sont développées et rédigées pour implanter les moyens de contrôle adéquats. Afin d'assister les intervenants en milieu de travail, l'IRSST publie, révisé périodiquement et diffuse le [Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail](#) et la direction Services et expertises de laboratoire publie des méthodes d'analyses des contaminants.

Ces méthodes doivent être utilisées de concert avec les références réglementaires et normatives suivantes :

- ✓ *Loi sur la santé et la sécurité du travail*. L.R.Q., chapitre S-2.1. Éditeur officiel du Québec, (1^{er} août 2007).
http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=2&file=/S_2_1/S2_1.html
- ✓ *Règlement sur la santé et la sécurité du travail*. S-2.1, r.19.01, Décret 885-2001. Éditeur officiel du Québec (25 juillet 2007).
http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=2&file=%2F%2FS_2_1%2FS2_1R19_01.htm
- ✓ *Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail*. Direction des opérations, IRSST, T-06 Guide technique, Montréal, Québec, (mars 2005). <http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/T-06.pdf>
- ✓ NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health .
- ✓ ISO Guide 30, Termes et définitions utilisés en rapport avec les matériaux de référence, 2^e édition, 1992.
- ✓ ISO, Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie, 2^e édition, 1993.
- ✓ American Industrial Hygiene Association (AIHA), organisme qui accrédite le laboratoire de l'IRSST dans le domaine de l'analyse des contaminants chimiques en milieu de travail et pour l'analyse environnementale microbiologique.

Par ailleurs, toute la terminologie utilisée dans cette méthode est décrite dans l'instruction de travail « I-G-014 » du système de gestion documentaire associée au système qualité de l'IRSST.

1. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Isoler en culture pure chaque colonies de moisissures et les identifier à partir des caractéristiques macro et microscopiques basées sur des clés d'identification.

Cette méthode est limitée à la capacité de la moisissure à sporuler, aux conditions d'incubation ainsi qu'à l'obtention d'une culture pure.

2. INTERFÉRENCES

La sensibilité de cette méthode varie selon :

- ✓ La rencontre des conditions de croissance des microorganismes à leur développement.
- ✓ La capacité de la moisissure à sporuler sur la gélose sélectionnée. Aucune identification ne s'effectue sans sporulation.
- ✓ Une surpopulation sur un pétri qui rend l'isolement en culture pure impossible.
- ✓ L'envahissement de microorganismes pouvant empêcher l'isolement en culture pure et par le fait même l'identification d'autres moisissures.

L'obtention d'une culture pure de chaque colonie de moisissures est essentielle à l'identification.

3. MATÉRIEL

- ✓ Microscope à lumière transmise muni d'un contraste de phase
- ✓ Oculaire 12,5X
- ✓ Objectifs 10X, 40X et 100X
- ✓ Lame et lamelle
- ✓ Stéréomicroscope 20X-120X
- ✓ Source lumineuse à fibre optique
- ✓ Réfrigérateur à température constante ($4^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$)
- ✓ Incubateur ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)
- ✓ Scalpels chirurgicaux ou tout autre instrument semblable pouvant être stérilisé
- ✓ Autoclave (121°C , 15 PSI)
- ✓ Géloses Extrait de malt ou autres selon les besoins

4. RÉACTIFS

- ✓ Acide lactique 85%
- ✓ Bleu coton

5. PROTOCOLE ANALYTIQUE

5.1 Isolement d'une culture

- 5.1.1 À l'aide d'un scalpel de chirurgie stérile ou tout autre instrument semblable, faire le repiquage en culture pure de toutes les colonies de types différents retrouvées sur le pétri d'origine. Incuber 7 jours à 25°C.
- 5.1.2 Confirmer la pureté de la colonie au stéréomicroscope. Si une culture mixte est identifiée, il faut tenter à nouveau l'isolement des colonies présentes. Il faut s'assurer de ne pas doubler un isolement déjà réalisé à partir du pétri de départ.

5.2 Identification d'une moisissure

- 5.2.1 Pour chaque colonie isolée en culture pure, vérifier les caractéristiques macroscopiques de la colonie (dimension, couleur, texture, pigmentation du milieu, etc.).
- 5.2.2 Faire un montage humide à l'aide d'acide lactique avec du bleu coton et vérifier les caractéristiques microscopiques (hyphe, conidiophore, spores, etc.).
- 5.2.3 À partir des caractéristiques macro et microscopiques, effectuer l'identification à l'aide de clés d'identification contenues dans les livres de références¹⁻¹² ou autres. Selon le genre et l'espèce, l'identification peut nécessiter l'isolement sur d'autres milieux de culture¹⁻¹² ou autres.

6. PARAMÈTRES D'APPLICATION

6.1 Limite de détection et limite de quantification

Non applicable

6.2 Fidélité

Non applicable

6.3 Exactitude

Non applicable

6.4 Incertitude de la méthode

Non applicable

7. CONTRÔLE DE QUALITÉ

7.1 Contrôles inter-laboratoires

Un contrôle de qualité inter-laboratoires est effectué avec l'AIHA (« American Industrial Hygiene Association »). Les échantillons nous sont envoyés à trois reprises à chaque année. Chaque série d'échantillons contient au moins trois inconnus de moisissures qui nous proviennent sous forme lyophilisée. Dans certains envois, des échantillons d'eau ou de poussières contenant une ou plusieurs moisissures doivent également être traités.

7.2 Contrôles intra- et inter-techniciens

Un contrôle d'identification est effectué pour calculer la variation sur les identifications effectuées par un technicien ainsi que celle entre différents techniciens. Pour effectuer ce contrôle, un échantillon est retenu après 20 identifications, pour être ré-identifié.

8. RÉFÉRENCES

1. Collins, C.H., *Microbiological Methods*, Sixth Edition, Butterworths, London. 409 p. 1989.
2. Domsch, K.H., Gaus, W. et Anderson, T.N., *Compendium of Soil Fungi. Vol 1 et 2*, IHW, Verlag, 860 p. et 406 p. 1993.
3. Botton, B., *Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle*, Masson, Paris. 364 p. 1985.
4. Larone, D.H., *Medically Important Fungi-Aguide to Identification*, Elsevier, New-York, 230 p. 1987.
5. Hoog, G.S. et Guarro, J., *Atlas of Clinical Fungi*, CBS, Netherland, 720 p. 1995.
6. Nelson, P.E. Toussan, T.A. et Marasas, F.O., *Fusarium Species an Illustrated Manual for Identification*, The Pennsylvania State University Press, University Park and London, 193 p. 1983.
7. Wang, C.J. et Zabel R.A., *Identification Manual for Fungi from Utility Poles in the Eastern US*. ATCC, Kansas, 356 p. 1990.
8. Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J »C. et Filtenborg, O., *Introduction to Food-borne Fungi*. 4^{ième} édition, 322 p. 1995.
9. Raper, K.B., Fennell, D.I. et Austwick, P.K.C., *The Genus Aspergillus*. Robert E Hrieger Publishing Company, Florida, 686 p. 1965.
10. Klich, M.A. et Pitt, J.I., *A Laboratory Guide to Common Aspergillus Species and their Teleomorph*. 115 p. 1994.

11. Pitt, J.I., *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. 2nd edition, 187 p. 1988.
12. St-Germain, G. et Summerbell, R., *Champignons filamenteux d'intérêt médical*, STAR, California, 314 p. 1996.
- 13 IRSST, *Procédure en cas de déversement ou de contact avec du matériel pouvant contenir une substance infectieuse*, SST-4.6.3-V2. 2001,2 pages.