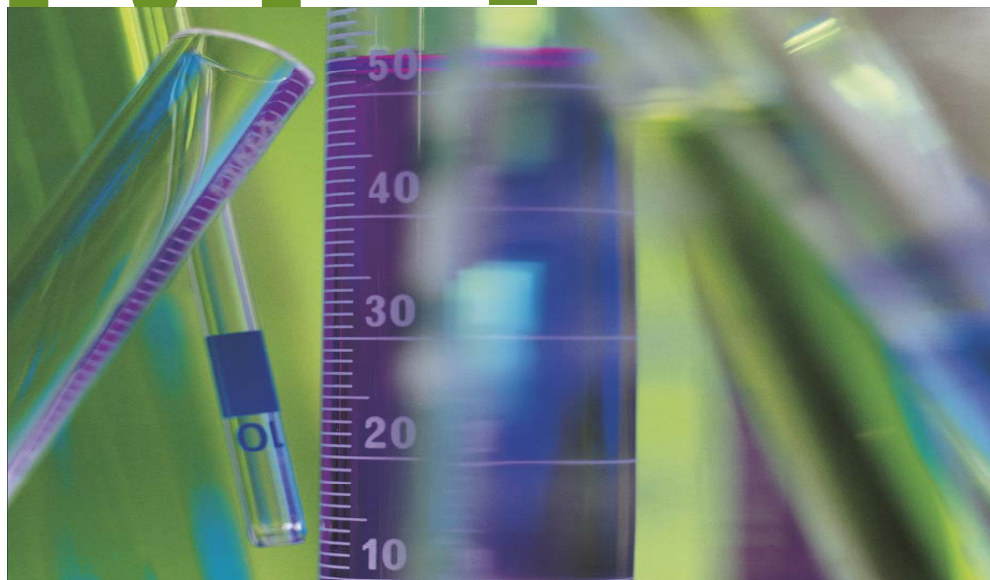


# M

## Méthodes de laboratoire

Caractérisation et dénombrement  
des spores de moisissures prélevées  
par impaction sur cassette

MÉTHODE ANALYTIQUE 367



### Applicabilité

Cette méthode est utilisée pour l'évaluation des spores de moisissures prélevées sur les cassettes de type trappe à spores.

### Norme(s)<sup>1</sup>

Aucune norme.

### Système d'échantillonnage

Cassette Allergenco®, Versa Trap® ou air-O-Cell®, ou autres cassettes qui produisent la déposition des spores sous forme d'une trace.

### Volume et débit d'échantillonnage recommandés

150L à 15 L/minute

Pour un environnement où la contamination est élevée, un temps de prélèvement plus court peut être utilisé (pour un minimum de 2 minutes).

### Analyse

Microscopie à la lumière transmise.

### Valeur minimale rapportée (VMR)

13 spores/m<sup>3</sup> d'air pour un volume d'échantillonnage de 150L.

### Domaine d'application

N.A.

### Fidélité

Répetabilité : 1,23 %.

### Incertitude analytique (CV<sub>A</sub>)

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](http://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 : 978-2-89631-219-1 (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](mailto:sac.labo@irsst.qc.ca)  
[www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)  
© Institut de recherche Robert-Sauvé  
en santé et en sécurité du travail,  
2008



# Méthodes de laboratoire

**Caractérisation et dénombrement  
des spores de moisissures prélevées  
par impaction sur cassette**

**MÉTHODE ANALYTIQUE 367**

## **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*



Cette publication est disponible  
en version PDF  
sur le site Web de l'IRSST.  
[www.irsst.qc.ca](http://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'IRSS**

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



## MÉTHODE ANALYTIQUE

### **Caractérisation et dénombrement des spores de moisissures prélevées par impaction sur cassette**

#### **Méthode 367**

<b>APPLICABILITÉ</b>	Cette méthode est utilisée pour l'évaluation des spores de moisissures prélevées sur les cassettes de type trappe à spores.
<b>NORME(S) <sup>1</sup></b>	Aucune norme
<b>SYSTÈME D'ÉCHANTILLONNAGE</b>	Cassette Allergenco®, Versa Trap® ou air-O-Cell®, ou autres cassettes qui produit la déposition des spores sous forme d'une trace
<b>VOLUME ET DÉBIT D'ÉCHANTILLONNAGE RECOMMANDÉS</b>	150L à 15 L/minute Pour un environnement où la contamination est élevée, un temps de prélèvement plus court peut être utilisé (pour un minimum de 2 minutes)
<b>ANALYSE</b>	Microscopie à la lumière transmise
<b>VALEUR MINIMALE RAPPORTÉE (VMR)</b>	13 spores/m <sup>3</sup> d'air pour un volume d'échantillonnage de 150L.
<b>DOMAINE D'APPLICATION</b>	N.A.
<b>FIDÉLITÉ</b>	Répétabilité : 1,23%
<b>INCERTITUDE ANALYTIQUE (CV<sub>A</sub>)</b>	N.A.

Responsable technique de la méthode :

Geneviève Marchand, Ph.D., microbiologiste, professionnelle scientifique - Services et expertises de laboratoire

Approbation :

Geneviève Marchand, professionnelle scientifique - Services et expertises de laboratoire  
Marie-Claude Barrette, responsable qualité - Services et expertises de laboratoire  
Jacques Lesage, directeur - Services et expertises de laboratoire

Autorisation pour publication :

Alain Lajoie, directeur - Direction de la recherche et de l'expertise

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 documents ont été validés au moment de la publication.

Ce document est également disponible sur le site Web de l'IRSST à l'adresse suivante :

<http://www.irsst.qc.ca/fr/listersst.html>

Dépôt légal  
Bibliothèque et Archives nationales

ISBN : 978-2-89631-219-1 (PDF)  
ISSN : 0820-8395

## TABLE DES MATIÈRES

Préambule .....	1
1. Principe de la méthode.....	2
2. Interférences .....	2
3. Matériel .....	2
4. Réactifs.....	2
5. Échantillonnage .....	2
6. Protocole analytique.....	3
6.1 Préparation des échantillons	3
6.2 Analyse	3
7. Paramètres d'application .....	4
7.1 Limite de détection et limite de quantification	4
7.2 Fidélité	4
7.3 Exactitude	4
7.4 Incertitude de mesure	4
8. Références.....	5
9. Bibliographie .....	6





## 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<sup>er</sup> août 2007). [http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=2&file=/S\\_2\\_1/S2\\_1.html](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](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<sup>e</sup> édition, 1992.
- ✓ ISO, Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie, 2<sup>e</sup> 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

L'échantillonnage se fait par impaction sur une surface enduite d'une pellicule adhésive. Les cassettes utilisées ont des ports de prélèvement rectangulaires qui produisent une trace de prélèvement sur la surface adhésive. Les spores prélevées se retrouvent dans la trace de dépôt. Cette trace est analysée à l'aide d'un microscope à lumière transmise afin de caractériser et dénombrer les spores qui ont été prélevées.

## 2. INTERFÉRENCES

La méthode d'analyse au laboratoire est réalisée par examen microscopique à lumière transmise. La densité mycologique présente et la quantité de poussière ou de matériel peuvent influencer la capacité de détection des spores présentes dans la trace.

L'évaluation de la densité de débris est enregistrée et notée de la façon suivante :

- 0 : Aucun débris.
- 1 : Quantité faible en débris  $\Rightarrow$  Aucune interférence.
- 2 : Quantité importante de débris  $\Rightarrow$  Interférence possible. Interpréter avec précaution.
- 3 : Trop de débris  $\Rightarrow$  Analyse impossible. Échantillon inadéquat.

## 3. MATÉRIEL

- ✓ Microscope à lumière transmise
- ✓ Oculaire 10X
- ✓ Objectif 20X
- ✓ Objectif 50X (immersion)
- ✓ Objectif 100X (immersion)
- ✓ Lame et lamelle
- ✓ Compteur manuel
- ✓ Pince pouvant être stérilisée
- ✓ Stéréomicroscope

## 4. RÉACTIFS

- ✓ Acide lactique avec bleu coton ou autre colorant facilitant la détection des spores.

## 5. ÉCHANTILLONNAGE

Les spores de moisissures présentes dans l'air sont prélevées à l'aide d'une cassette contenant une lame ou une lamelle de microscope enduite d'une pellicule adhésive. Le prélèvement est fait en utilisant une pompe d'échantillonnage dont le débit est réglé à 15 L/minute. Le débit a une influence sur l'efficacité de captation, il est donc important de faire les prélèvements uniquement à ce débit. Pour chaque série d'échantillons, une cassette témoin du même lot doit être analysée. Ce témoin doit être traité de la même manière que les cassettes utilisées pour l'échantillonnage pour tout ce qui concerne le stockage et le transport vers le point d'échantillonnage, mais sans toutefois y faire passer

de l'air. Les échantillons peuvent être conservés à la température ambiante. Les paramètres d'échantillonnage recommandés sont décrits dans le Tableau 1.

**Tableau 1. Paramètres d'échantillonnages recommandés**

<b>Débit</b>	15 L/min
<b>Durée</b>	2-15 minutes
<b>Volume</b>	30-225 L

Toutefois lorsque des concentrations élevées de spores dans l'air sont anticipées, la période d'échantillonnage devrait être plus courte. La recommandation est de 10 minutes pour un total de 150L d'air échantillonné.

Pour plus de détails sur la préparation du matériel d'échantillonnage, l'étalonnage et la stratégie utilisée, se référer au Guide d'échantillonnage de l'IRSST<sup>1</sup>.

## 6. PROTOCOLE ANALYTIQUE

### 6.1 Préparation des échantillons

Pour les échantillons dont le prélèvement a été réalisé sur lame (Allergenco FS), faire un montage humide avec de l'acide lactique et du bleu coton directement sur l'échantillon.

Pour les échantillons dont le prélèvement a été réalisé sur lamelle (Allergenco, Varsa-Trap ou Air-O-Cell) utiliser le stéréomicroscope pour faire le montage de la lamelle sur une lame de microscope. Il est important que la trace de prélèvement soit parallèle à la bordure de la lame du microscope. Utiliser du vernis à ongle pour fixer la lamelle sur la lame. La surface adhésive doit être vers le haut. Faire ensuite le montage humide avec l'acide lactique et le bleu coton. Utiliser une lamelle suffisamment grande pour couvrir la surface adhésive en entier.

Attendre quelques minutes avant de faire l'observation microscopique afin que la coloration puisse avoir été absorbée par les structures.

### 6.2 Analyse

#### 6.2.1 Examen des échantillons:

Faire un premier balayage de la lame à un grossissement de 200X (oculaire 10X objectif 20X)- pour détecter le début de la trace, la densité de débris ou toute anomalie. La densité de débris sur la lame est rapportée dans le cahier de manipulation. Cette densité doit être enregistrée et notée de la façon décrite à la section 2.

Par la suite, passer à plus fort grossissement, soit 500X (huile à immersion) (oculaire 10X objectif 50X)-, et positionner le premier champ au début de la trace dans la partie supérieur de celle-ci. Tout le dénombrement se fait à ce grossissement uniquement.

Effectuer le balayage de la première traverse en notant toutes les spores présentes dans le réticule rectangulaire de l'oculaire.

Le grossissement de 1000X (huile à immersion) est utilisé pour confirmer les caractéristiques des spores observées afin d'aider à l'identification. Ne pas dénombrer à ce grossissement.

Ensuite, déplacer la lame d'un espace équivalent à un réticule (rectangle) et refaire l'étape précédente pour toutes les traverses c'est-à-dire 100% de la lame.

L'identification se fait à l'aide des livres de référence <sup>2-5</sup> ou autres.

## **7. PARAMÈTRES D'APPLICATION**

### **7.1 Limite de détection et limite de quantification**

La limite de détection a été évaluée à 2 spores.

### **7.2 Fidélité**

La répétabilité de la méthode a été évaluée à 1,23 %. L'évaluation a été réalisée sur 4 lames de concentrations différentes qui ont été analysées par la même technicienne à des journées différentes.

Replicabilité : à venir

### **7.3 Exactitude**

À venir

### **7.4 Incertitude de mesure**

NA

## 8. CONTRÔLE DE QUALITÉ

### 8.1 Contrôle inter laboratoire

Un contrôle de qualité inter laboratoires est effectué avec l'AIHA (American Industrial Hygiene Association). Des images de spore nous sont envoyées à trois reprises à chaque année. Chaque série contient vingt images de spores qui doivent être identifiées. Une moyenne de 85% doit être obtenue pour chaque série.

### 8.2 Contrôle intra et inter techniciens

A venir

## 9. RÉFÉRENCES

- 1 *Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail*. Direction des opérations, IRSST, T-06 Guide technique, Montréal, Québec, (Février 2005).  
<http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/T-06.pdf>
- 2 E. Grant Smith, *Sampling and identifying allergenic pollens and molds*, 1990
- 3 ASTM, working document, wk 9298
- 4 ASTM, working document, wk 8015
- 5 Lacey, Maureen E. and West, Jonathan S., *The Air Spora – A manual for catching and identifying airborne biological particles*, Ed. Springer, 2006.

## 10. BIBLIOGRAPHIE

- 6 ACGIH. *Assessing Bioaerosols in indoor Environment*, Sponsored by the University of Michigan and ACGIH, Oct. 4-8, 1988, Ann Arbor, Michigan.
- 7 COLLINS, C.H. *Microbiological Methods*, Sixth Edition, Butterworths, London, 1989, 409 p.
- 8 HURST, C.J., et al., *Manual of Environmental Microbiology*, ASM Press, 1997, 894 p.