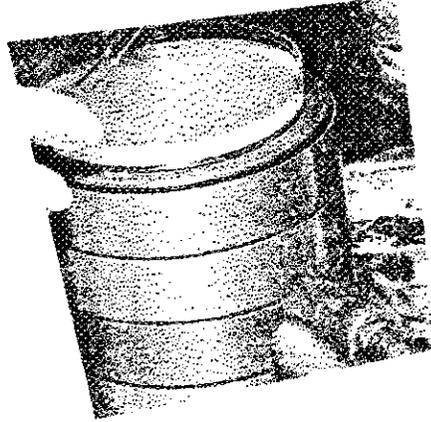


**L'échantillonnage
des microorganismes
dans le milieu de travail**



**BIANS DE
CONNAISSANCES**

Jacques Lavoie

Juin 1988

B-008

RAPPORT



IRSST
Institut de recherche
en santé et en sécurité
du travail du Québec

La recherche, pour mieux comprendre

L'Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec (IRSST) est un organisme de recherche scientifique voué à l'identification et à l'élimination à la source des dangers professionnels, et à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes. Financé par la CSST, l'Institut réalise et finance, par subvention ou contrats, des recherches qui visent à réduire les coûts humains et financiers occasionnés par les accidents de travail et les maladies professionnelles.

Pour tout connaître de l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par la CSST et l'Institut.

Les résultats des travaux de l'Institut sont présentés dans une série de publications, disponibles sur demande à la Direction des communications.

Il est possible de se procurer le catalogue des publications de l'Institut et de s'abonner à *Prévention au travail* en écrivant à l'adresse au bas de cette page.

ATTENTION

Cette version numérique vous est offerte à titre d'information seulement. Bien que tout ait été mis en œuvre pour préserver la qualité des documents lors du transfert numérique, il se peut que certains caractères aient été omis, altérés ou effacés. Les données contenues dans les tableaux et graphiques doivent être vérifiées à l'aide de la version papier avant utilisation.

Dépôt légal
Bibliothèque nationale du Québec

IRSST - Direction des communications
505, boul. de Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : (514) 288-1 551
Télécopieur: (514) 288-7636
Site internet : www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche en santé
et en sécurité du travail du Québec,

L'échantillonnage des microorganismes dans le milieu de travail

Jacques Lavoie
Programme soutien analytique, IRSST

**RECHERCHE
COMMISSAIRES**

RAPPORT

Cette étude a été financée par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles de l'auteur.

© Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec, juin 1988.
2^e trimestre 1988.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier, pour leurs judicieux conseils apportés à cet ouvrage, monsieur Robert Richards, de la revue Travail et Santé, messieurs Luc Ménard et Yves Cloutier de l'IRSST ainsi que madame Marie-Alix D'Halewyn du Laboratoire de santé publique du Québec.

Je désire aussi exprimer ma reconnaissance à mesdames Christine Lecours, Claudette Tessier et Diane Laprés-Beaupré pour le travail de dactylographie et à tous ceux qui m'ont donné leur opinion sur la pertinence d'un tel ouvrage.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
INTRODUCTION.....	1
1.- Les agents biologiques.....	3
1.1 Définition des agents biologiques dans le milieu de travail.....	3
1.2 Classification des agents biologiques.....	3
1.2.1 Les microorganismes.....	4
1.2.1.1 Les bactéries.....	4
1.2.1.2 Les virus.....	5
1.2.1.3 Les champignons.....	6
1.2.1.4 Les parasites.....	7
1.3 Les voies d'exposition aux agents biologiques (microorganismes).....	8
1.4 Dimension des microorganismes.....	9
1.5 La situation au Québec.....	10
2.- Échantillonnage des microorganismes.....	15
2.1 Facteurs à considérer lors de l'échantillonnage.....	15
2.2 Techniques d'échantillonnage.....	15
2.2.1 Échantillonnage des liquides.....	16
2.2.2 Échantillonnage de surface.....	17
2.2.2.1 Le tube écouvillon.....	17
2.2.2.2 Le rinçage.....	19
2.2.2.3 La méthode de contact sur gélose.....	19
2.2.2.4 La gélose.....	21
2.2.2.5 La sonde aspiratrice de surface.....	21
2.2.3 Échantillonnage de l'air.....	23
2.2.3.1 Les capteurs par inertie.....	26
2.2.3.1.1 La sédimentation.....	27
2.2.3.1.2 Le barbotage.....	27
2.2.3.1.3 Les slits samplers.....	30
2.2.3.1.4 Les impacteurs en cascades.....	31
2.2.3.1.5 L'échantillonneur d'Andersen....	33
2.2.3.1.6 L'échantillonneur d'air centrifuge.....	35
2.2.3.2 Les filtres.....	38
2.2.3.3 Les précipitateurs.....	40
2.3 Le choix d'un échantillonneur.....	42
2.4 Le choix d'un milieu de culture.....	46
2.4.1 Milieux de culture recommandés pour la détection générale et l'énumération des champignons.....	46
2.4.2 Milieux de culture recommandés pour la détection et l'énumération des bactéries, incluant les actynomycètes thermophiles.....	47

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Aérosols typiques et taille des particules.....	10
Figure 2 : Tube écouvillon.....	18
Figure 3 : Contenant stérile.....	20
Figure 4 : Gélose Rodac.....	20
Figure 5 : Gélose.....	22
Figure 6 : Sonde aspiratrice de surface.....	22
Figure 7 : Trajectoire de l'air et des particules.....	24
Figure 8 : All-glass impinger.....	28
Figure 9 : Slit sampler : a) côté.....	31
Figure 10 : Slit sampler : b) dessus.....	31
Figure 11 : Impacteur cascade modifié.....	32
Figure 12 : L'échantillonneur microbien d'Andersen.....	33
Figure 13 : L'échantillonneur d'Andersen.....	34
Figure 14 : Échantillonneur d'air centrifuge.....	37
Figure 15 : Filtre à membrane.....	39
Figure 16 : Filtre matelassé.....	39
Figure 17 : Échantillonneur à large volume.....	41
Figure 18 : Purificateur électrostatique.....	41

INTRODUCTION

Au Québec, la relation travail et santé-sécurité demeure, comme partout dans les pays industrialisés, d'une actualité brûlante. Les intervenants du réseau de la santé et de la sécurité du travail sont bien documentés pour reconnaître et mesurer les expositions des travailleurs aux agents chimiques et physiques mais, jusqu'à récemment, peu d'entre eux ont été sollicités dans le monitoring des agents biologiques.

Les bactéries infectieuses, les champignons, les virus, les pollens et les insectes sont considérés comme des agents biologiques de même que les produits de métabolismes microbiens non infectieux et les fragments de plantes et d'animaux qui peuvent causer des réactions allergiques chez l'être humain.

L'exposition aux agents biologiques et surtout ceux trouvés dans les aérosols posent des risques potentiels d'infections ou d'autres maladies pour plusieurs groupes professionnels. Par exemple, les travailleurs du secteur de l'agriculture, de l'industrie animale et de ses sous-produits, des travailleurs de l'industrie alimentaire, ceux qui exécutent des tâches impliquant la présence d'animaux, le personnel hospitalier, le personnel de laboratoires, les enseignants et les travailleurs sociaux, les travailleurs des travaux d'excavation et de traitement des ordures, les travailleurs des soins dentaires, du textile et du traitement des eaux usées en sont quelques uns.

L'évaluation, l'identification et le contrôle des microorganismes rencontrés dans le milieu de travail font appel à plusieurs disciplines du monde scientifique. Le contrôle et le diagnostic des maladies infectieuses et allergiques doivent être laissés aux médecins et aux divers spécialistes de l'épidémiologie, de la pathologie, de la physiologie et de la microbiologie. Complémentairement, en ce qui concerne l'hygiène industrielle, l'évaluation et le contrôle des agents biologiques sont similaires à ceux rencontrés dans le domaine des aérosols, pour lesquels les équipements de mesure et les stratégies d'échantillonnage sont bien développés. Enfin, la préparation des échantillons, l'identification et l'énumération des microorganismes échantillonnés doivent

être référés à des experts du domaine de la bactériologie, de la virologie et de la mycologie.

Ce document s'adresse particulièrement aux intervenants de la santé et de la sécurité du travail et porte surtout sur l'échantillonnage des microorganismes.

1.- LES AGENTS BIOLOGIQUES

1.1 Définition des agents biologiques dans le milieu de travail

Les agents biologiques sont des substances qui proviennent d'êtres vivants ou sont des êtres vivants capables de causer des effets nuisibles ou des maladies sur d'autres organismes biologiques comme l'être humain en particulier.

Ces substances ou êtres vivants comprennent les agents infectieux ou parasitaires, les microorganismes non infectieux comme les champignons et les algues, les plantes et leurs sous-produits, les animaux et leurs sous-produits, qui peuvent causer des maladies reliées au travail (1).

1.2 Classification des agents biologiques

Les agents biologiques rencontrés surtout dans le milieu de travail sont compris dans les catégories suivantes: (1)

- A) Bactéries
 - 1 - Bactéries pathogènes
 - 2 - Bactéries avec plasmides résistants aux médicaments
- B) Les champignons
- C) Les virus
 - 1 - Les virus oncogéniques
 - 2 - Les autres virus d'animaux
- D) Les rickettsies
- E) Les chlamydia
- F) Les parasites
- G) Les produits de recombinaison
- H) Les allergènes
- I) Les cellules animales de culture et les agents potentiellement infectieux qu'elles contiennent
- J) Les spécimens cliniques infectés
- K) Les tissus d'animaux expérimentaux
- L) Les virus, champignons et bactéries des plantes
- M) Les toxines (mycotoxines, endotoxines, etc.)

1.2.1 Les microorganismes

Les agents biologiques considérés sont les microorganismes et surtout ceux associés aux maladies professionnelles comme les bactéries, les virus, les champignons et les parasites.

Les microorganismes sont des organismes vivants, imperceptibles à l'oeil nu (2). Ils existent sans causer d'effets néfastes dans plusieurs types d'environnement, dans le sol, dans l'atmosphère, dans l'eau, sur et à l'intérieur des animaux, des plantes, sur de la nourriture et à l'intérieur et à l'extérieur du corps humain (3).

Les microorganismes qui causent des maladies sont appelés organismes pathogènes. D'autres ne deviennent pathogènes que dans certaines circonstances; ils sont appelés organismes opportunistes. Ils deviennent pathogènes dans des conditions optimales uniquement. Souvent, les organismes pathogènes produisent des substances appelées toxines, qui peuvent causer des problèmes chez l'hôte. Plusieurs de ces toxines occasionnent des symptômes de maladies différents du microorganisme lui-même (3).

1.2.1.1 Les bactéries

Les bactéries sont probablement responsables de la majorité des problèmes de santé d'origine biologique rencontrés dans le milieu de travail (3). Les bactéries sont des cellules vivantes microscopiques possédant une structure relativement simple. Elles sont unicellulaires.

Les infections bactériennes qui proviennent du milieu de travail sont contractées par voies respiratoires, digestives ou lors d'inoculation par piqûre, éraflure, égratignure et coupure.

Les bactéries de l'air ambiant proviennent de deux sources, soit les aérosols engendrés par de l'eau comme les humidificateurs, les robinets, les douches, etc. ou ceux engendrés par des humains ou des animaux (4).

Les bactéries saprophytes (microbe qui vit dans la nature aux dépens de matières organiques en décomposition) et pathogènes sont dispersées dans l'air par les humains lorsqu'ils éternuent, toussent et parlent. Ces bactéries peuvent survivre pendant des périodes dont la longueur est fonction de la grosseur des gouttelettes projetées, de la température de l'air, de son humidité relative et de la présence d'un substrat pour voyager.

Il est habituellement admis que la transmission de maladies de personne à personne peut se faire par l'exposition à un aérosol mais peu de gens savent que les bactéries transportées par l'eau, qui sont présentes dans le milieu extérieur, peuvent se multiplier. Ces mêmes bactéries peuvent être dissimulées à l'intérieur des édifices et provoquer des maladies. Certains types de bactéries se retrouvent dans les humidificateurs contaminés des systèmes de ventilation. Elles causeraient le syndrome appelé "fièvre des humidificateurs". Ce syndrome est une réponse à des allergènes transportés par l'air et comprennent probablement les endotoxines d'un bon nombre de bactéries grames-négatives. Les endotoxines peuvent provoquer de la fièvre, une leucocytose ou de la leucopénie chez les humains (4). De plus, l'exposition de l'épiderme à certaines bactéries peut occasionner des dermatoses, etc. Les bactéries contenues dans les brouillards d'huile de coupe en sont un exemple.

1.2.1.2 Les virus

Les virus sont différents des autres microorganismes car ils ne peuvent se multiplier que dans leur hôte et les virus humains sont presque totalement spécifiques à eux. Par conséquent, l'augmentation de la dissémination de ces organismes est influencé par l'activité des humains et seulement partiellement par des facteurs d'ambiance (4).

La survie et le transport des virus dans l'air ambiant dépendent de l'humidité relative, de la température, de la présence de polluants et de d'autres facteurs encore inconnus. Il existe des centaines de virus humains, tous susceptibles de causer des maladies. Bon nombre d'entre eux peuvent provoquer des symptômes

ordinaires comme de la fatigue, de la céphalée, des nausées, des myalgies, etc. Ces symptômes ressemblent à ceux signalés par des personnes soumises à un certain nombre de stress dus à l'environnement (4).

1.2.1.3 Les champignons

Les champignons sont des plantes qui obtiennent leur nourriture des tissus morts ou vivants de d'autres plantes ou d'animaux. Ils peuvent être de dimension assez considérable, comme par exemples les champignons comestibles. Ils sont soit visibles, comme les moisissures du pain ou invisibles, composés de fins filaments ou de fibres, comme les levures. Bien qu'ils soient responsables de certaines maladies chez l'homme, les champignons, incluant les levures et les moisissures, peuvent être bénéfiques (4). Ils se reproduisent par fission, par bourgeonnement ou par des spores qui proviennent de structures fruitées distinctives de certaines espèces (5). Le diamètre des spores qui nous intéresse, parce qu'elles sont retrouvées dans l'air ambiant, est d'environ 5 micromètres. Les particules de cette taille sont inhalables et par conséquent déposées dans les alvéoles pulmonaires (4).

Les effets nocifs de l'inhalation de propagules ou de spores sur le système immunitaire ont abondamment été décrits (4). Les réactions allergiques aux champignons dans l'air comprennent des rhinites, de l'asthme et de l'alvéolite allergique extrinsèque (pneumopathie par hypersensibilité). Cependant, il n'a pas toujours été possible de découvrir une corrélation prononcée entre la concentration de spores et l'incidence de symptômes asthmatiques (4).

Certaines espèces de champignons, tel l'Aspergillus fumigatus provoquent des symptômes plus sévères causés par une infection directe des poumons (aspergillose bronchopulmonaire allergique). Les métabolites et surtout les mycotoxines de ce genre de champignon contribuent probablement, de façon très significative, aux lésions pulmonaires observées (4). Les mycotoxines peuvent être responsables des symptômes chroniques retardés ressemblant à ceux causés par des infections. Elles sont rencontrées chez certaines espèces de champignons mais seulement une petite proportion des

champignons isolés à partir de sources naturelles sont producteurs de toxines. Cette proportion s'établit entre 30 à 70 % dans les isolats analysés de façon appropriée (4). Les mycotoxines qui affectent le système immunitaire (par exemple: les trichotécènes, la gliotoxine, les aflatoxines) sont intéressantes. Un système immunitaire affaibli influencerait la capacité de l'hôte de réagir à l'allergène et l'infection pourrait augmenter l'oncogénicité des spores et des particules inhalées (4). Cependant, l'isolation d'une espèce donnée dans un échantillon ne signifie pas nécessairement que le champignon en cause soit producteur de toxines. Parce qu'elles sont peu volatiles, la majorité des mycotoxines inhalées pénètre dans les voies respiratoires absorbées dans les spores ou les propagules.

L'inhalation des spores et des propagules peut avoir d'autres effets que la stimulation d'une réaction allergique ou d'infections directes des poumons. L'expression "mycotoxicose pulmonaire" est utilisée pour désigner ce groupe de maladies. L'asthme atypique du fermier est un exemple de maladie de ce genre (4).

L'exposition de l'épiderme aux propagules et aux mycotoxines peut être directe, par contact avec des surfaces contaminées ou avec des particules en suspension dans l'air. Il peut y avoir irritation et une légère réaction allergique de la peau aux allergènes qui s'y déposent. Si la matière de contact contient des mycotoxines, la réaction cutanée peut être assez significative (4).

1.2.1.4 Les parasites

La majorité des infections parasitaires qui proviennent du travail sont causées par les protozoaires, les arthropodes et les helminthes. Plusieurs maladies parasitaires sont des zoonoses; elles sont transmissibles sous des conditions naturelles entre les animaux et humains. Certains groupes de travailleurs ont un risque plus élevé d'attraper une maladie parasitaire à cause de l'exposition aux vecteurs transporteurs ou du contact direct avec la forme infectueuse du parasite (6).

L'existence des acariens en tant qu'allergènes a souvent été ignoré (4). Dermatophagoïdes pternys sinus, un acarien vivant dans la poussière, est un antigène qui vient au second rang en importance dans les causes d'asthme bronchique allergique. Les champignons xérophiles sont toujours associées aux acariens dans la poussière de maison et vivent vraisemblablement en symbiose (4).

1.3 Les voies d'expositions aux agents biologiques (microorganismes)

Les expositions aux agents biologiques et les allergies ou infections subséquentes d'un individu peuvent survenir par plusieurs voies.

Les plus communes sont:

- 1 - la voie orale;
- 2 - les voies respiratoires;
- 3 - une piqûre, éraflure, coupure ou égratignure;
- 4 - la pénétration à travers la peau;
- 5 - et les muqueuses.

Toutes ces voies constituent un pourcentage des infections ou allergies connues, mais les expositions respiratoires comptent pour probablement 65 à 75 % de toutes les infections (1). Pour causer une infection respiratoire, les aérosols doivent être déposés et retenus dans les conduits respiratoires. Les particules de moins de 5 micromètres sont les plus susceptibles d'initier des infections. Ces particules peuvent demeurer suspendues dans l'air assez longtemps et voyager à travers la pièce ou dans les systèmes de ventilation grâce à la convection des courants d'air. Puisque les organismes fixés sur ces particules demeurent infectieux pour une certaine période, il existe un danger potentiel d'infection par contact.

Dans plusieurs cas, la dose à laquelle un individu peut être exposé est insuffisante pour causer des maladies. Les doses infectieuses chez l'homme varient avec l'agent, la voie d'exposition et la résistance individuelle.

Dans les cas d'allergies, c'est-à-dire lorsqu'un individu a développé une hypersensibilité à de la matière respirable d'origine microbienne, ces doses deviennent infimes. Par exemple, dans un édifice à bureaux, on y retrouve toujours des individus hypersensibles aux contaminants biologiques et chimiques présents dans l'air ambiant. Ces individus sont incommodés par des concentrations de contaminants difficiles à détecter par des techniques courantes d'hygiène industrielle. Ces niveaux sont bien en deçà des limites d'expositions maximales et ne seront pas détectés par la majorité des occupants.

1.4 Dimension des microorganismes

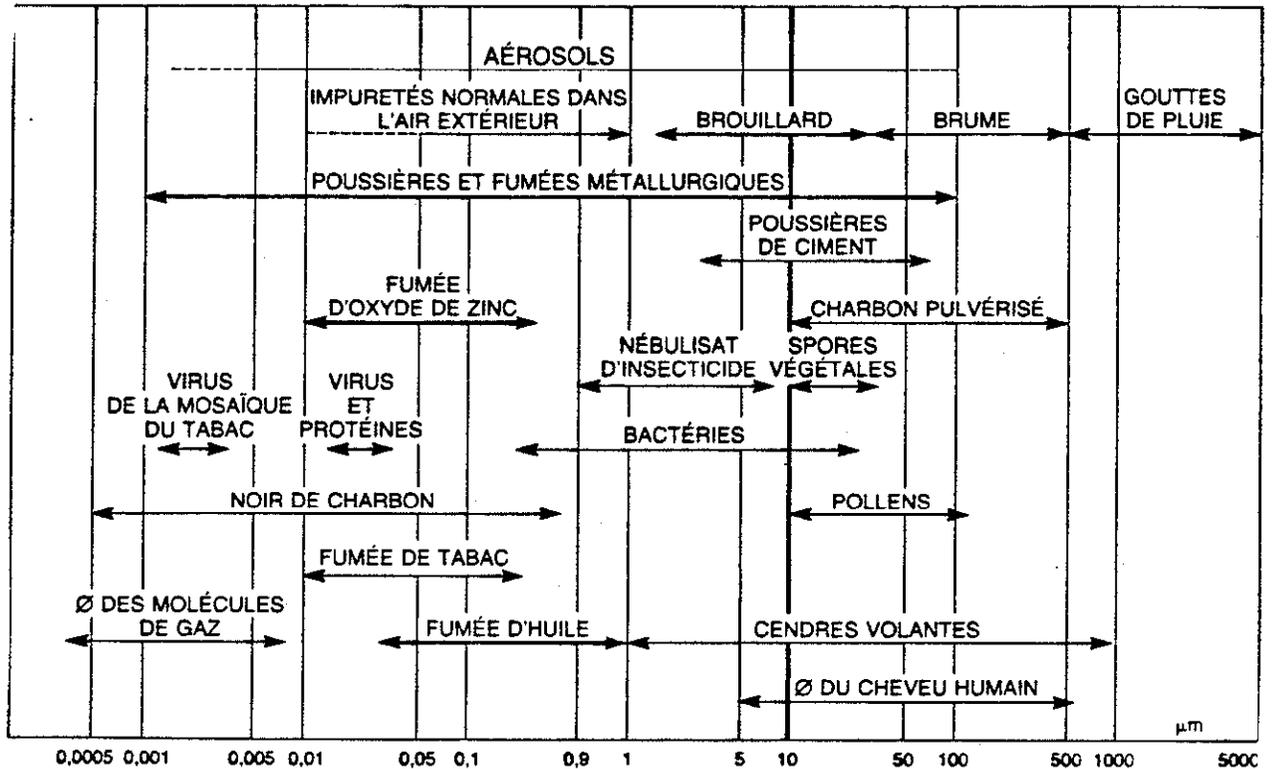
Les bactéries varient en dimension d'une espèce à l'autre et même d'un individu à un autre de la même espèce. Leur diamètre varie de 1 micromètre (μm) à 10 micromètres (μm).

Le diamètre approximatif d'une levure typique est de 10 μm bien que la majorité des spores des champignons ont un diamètre de 5 μm .

Un virus moyen mesure environ 0.1 μm . C'est la dimension du virus influenza.

Ces petites dimensions permettent donc aux microorganismes de se reproduire et de croître rapidement. Elles leur permettent aussi d'être dispersés et disséminés à une très grande vitesse dans l'environnement (3).

La figure 1 donne les tailles des particules en micromètres et les aérosols typiques rencontrés dans différents types de milieu de travail (7).

FIGURE 1: AÉROSOLS TYPIQUES ET TAILLE DES PARTICULES (μm)

1.5 La situation au Québec

Selon l'article 29 de la Loi sur les accidents du travail et les maladies professionnelles, (1985, chapitre 6), le travailleur atteint d'une maladie visée dans le tableau 1 est présumé atteint d'une maladie professionnelle s'il a exercé un travail correspondant à cette maladie d'après ce tableau (8).

TABLEAU 1: MALADIES CAUSÉES PAR DES AGENTS INFECTIEUX (8)

MALADIES	GENRE DE TRAVAIL
1. Infection cutanée bactérienne ou à champignons (pyodermite folliculite bactérienne, pinaires, dermatomycose, infection cutanée à candida)	Un travail impliquant le contact avec des tissus ou du matériel contaminé par des bactéries ou des champignons;
2. Parasitose	Un travail impliquant des contacts avec des humains, des animaux ou du matériel contaminé par des parasites tels: <u>Sarcoptes scabiei</u> , <u>Pediculus humanis</u> ;
3. Anthrax	Un travail impliquant l'utilisation, la manipulation ou une autre forme d'exposition à la laine, au crin, au poil, au cuir ou à des peaux contaminées;
4. Brucellose	Un travail relié aux soins, à l'abattage, au dépeçage ou au transport d'animaux ou un travail de laboratoire impliquant des contacts avec une brucella;
5. Hépatite virale	Un travail impliquant des contacts avec des humains, des animaux, des produits humains ou animaux ou d'autres substances contaminées;
6. Verrue aux mains	Un travail exécuté dans un abattoir ou impliquant la manipulation d'animaux ou produits d'animaux en milieu humide (macération);

Les groupes de travailleurs particulièrement à risques reliés à l'exposition à ces microorganismes sont:

- Ceux du secteur agricole, de l'industrie animale et de ses sous-produits;
- Ceux de l'industrie alimentaire;
- Tous les autres travaux impliquant la présence d'animaux;
- Le personnel hospitalier;
- Le personnel de laboratoire.

Dans le fichier informatisé de la Commission sur la santé et la sécurité du travail du Québec sur les maladies professionnelles, entre 1981 et 1984 (4 années), il y a eu 17 100 demandes de compensation dont 14 580 ont été acceptées et 2 520 refusées. La répartition par nature de ces maladies professionnelles est donnée au tableau 2, lequel démontre que les maladies infectieuses et parasitaires (contribution des risques biologiques) se classent cinquième.

TABEAU 2: NATURE DE LA MALADIE PROFESSIONNELLE ET NOMBRE DE CAS COMPENSÉS À LA CSST POUR LES ANNÉES 1981 À 1984 (4 ANNÉES)

MALADIE PROFESSIONNELLE	NOMBRE DE CAS	POURCENTAGE
Surdité	4,301	29
Dermatose	2,642	18
Système musculo-squelettique	1,498	10
Intoxication ou incommodation	1,335	9
Maladie infectieuse et parasitaire	1,097	8
Pneumoconiose	563	4
Allergie respiratoire	391	3
Autres	434	3
Non codé	2,319	16
TOTAL	14,580	100 %

Le tableau 3 donne le nombre de cas, le nombre de jours perdus et les coûts engendrés pour les maladies infectieuses et parasitaires, pour les années 1981 à 1984 inclusivement.

TABEAU 3: NOMBRE DE CAS DE MALADIES INFECTIEUSES ET PARASITAIRES, LE NOMBRE DE JOURS PERDUS ET LES COÛTS ENGENDRÉS

	1981	1982	1983	1984	TOTAL
NOMBRE DE CAS	230	240	331	291	1,097
JOURS PERDUS	8,373	10,623	3,472	2,343	24,811
COÛTS \$\$	973 406\$	1 277 199\$	197 080\$	180 933\$	2 628 619\$

Le tableau 4 donne le nombre de cas répartis selon le secteur d'activités économiques pour les maladies infectieuses et parasitaires.

TABEAU 4: NOMBRE DE CAS RÉPARTIS SELON LE SECTEUR D'ACTIVITÉS ÉCONOMIQUES POUR LES MALADIES INFECTIEUSES ET PARASITAIRES (1981-1984 INCLUSIVEMENT)

SECTEUR D'ACTIVITÉS ÉCONOMIQUES	NOMBRE DE CAS	JOURS PERDUS	COÛTS \$
Services médicaux et sociaux	852	7 156	499 175\$
Aliments et boissons	54	11 207	1 378 405\$
Enseignements et services connexes	38	641	38 586\$
Autres services commerciaux et personnels	29	472	16 043\$
Non codés	28	169	21 978\$
Commerce	16	2 186	143 172\$

Les points suivants peuvent ressortir après consultation de ces tableaux:

- sur une période de 4 années, 2 628 619,00\$ ont été déboursés par la CSST pour compenser les cas de maladies infectieuses et parasitaires;
- les services médicaux et sociaux sont les premiers pour le nombre de cas compensés, mais le secteur des aliments et boissons l'est pour le nombre de jours perdus et pour les coûts;
- certains secteurs d'activités économiques peuvent être sous-estimés dans ces chiffres. Les membres du secteur de l'agriculture ne paient pas tous nécessairement les cotisations à la CSST et se trouvent à être sous-représentés.

2.- ÉCHANTILLONNAGE DES MICROORGANISMES

Les méthodes de prélèvement pour réaliser l'échantillonnage et l'évaluation des microorganismes se distinguent des méthodes habituellement utilisées en hygiène du travail pour les agents physiques ou chimiques de la façon suivante: le microorganisme est un organisme vivant ou viable. L'organisme viable doit être échantillonné de façon à ce que sa viabilité soit maintenue pour des besoins d'évaluation.

2.1 Facteurs à considérer lors de l'échantillonnage

Les méthodes de prélèvement en milieu de travail dépendent de la nature du microorganisme suspecté, de sa situation dans l'espace et de son mode de transmission ou de propagation.

Avant d'effectuer un échantillonnage, il est important de bien connaître ou de cerner l'agent causal. La meilleure façon est d'en discuter avec le médecin qui constate les signes cliniques et de consulter un microbiologiste. Lorsque cet agent a été identifié le plus correctement possible, les prélèvements sont faits selon les méthodes prescrites par le département de santé communautaire ou le laboratoire spécialisé. Si au contraire l'agent causal n'est pas bien catégorisé, il faut procéder alors à une analyse globale (2).

Les caractéristiques intrinsèques des microbes font qu'ils sont difficiles à échantillonner et à évaluer quantitativement. Ils ont tous la possibilité de se reproduire. Bien que des doses sécuritaires d'expositions aux agents physiques et chimiques existent, il n'y a aucun niveau sécuritaire pour un organisme pathogène.

2.2 Techniques d'échantillonnage

Les techniques d'échantillonnage des microorganismes peuvent être classées en trois grandes catégories:

- 1) échantillonnage des liquides;
- 2) échantillonnage de surface;
- 3) échantillonnage de l'air.

2.2.1 Échantillonnage des liquides

Les liquides qui peuvent être échantillonnés dans le but de vérifier la présence de microorganismes sont très diversifiés. Les eaux usées des municipalités, des industries et les liquides utilisés comme refroidisseurs de métaux en sont quelques exemples.

Dans la majorité des cas, la méthode la plus simple est de se procurer un échantillon représentatif dans un contenant stérile. Des appareils commerciaux permettent d'échantillonner à une profondeur désirée. Sur un système à courant continu, des diaphragmes en caoutchouc peuvent être installés, desquels un échantillon est saisi avec une seringue stérile (1).

Des filtres à membranes peuvent être aussi utilisés pour échantillonner des liquides. Cette méthode est particulièrement efficace pour quantifier les microorganismes présents à une très faible densité, quand de grands volumes de liquide doivent être échantillonnés (1). Le filtre à membrane peut être placé directement sur un milieu nutritif et incubé.

Des jauges à coulisse (dip-slides) disponibles sur le marché ont été développées. Une coulisse avec un milieu préparé est plongée dans le liquide, replacée dans son contenant, gardée à la température du liquide pour une période donnée et les résultats obtenus sont comparés avec une table d'étalonnage. Un appareil de ce type a des coulisses qui peuvent détecter le nombre de bactéries aérobiques, la contamination par les levures et les moisissures et la croissance des bactéries coliformes; il possède un tube qui permet d'établir la contamination causée par les bactéries anaérobiques génératrices de soufre (1).

En fonction du type d'échantillonneur utilisé, les conditions optimales de l'échantillon doivent être maintenues pendant le transport pour les analyses. Des changements dans les paramètres environnementaux comme la lumière, la température, les délais d'expédition, etc. peuvent avoir un effet néfaste sur la viabilité des microorganismes échantillonnés (1). Cette remarque s'applique d'ailleurs aux autres types d'échantillonnage.

2.2.2 Échantillonnage de surface

Plusieurs méthodes de prélèvement des microorganismes sur des surfaces sont disponibles et différents facteurs gouvernent leur choix. Parmi ces facteurs, notons le matériel et la composition chimique de la surface à échantillonner, le niveau et le type de contaminants prévus ainsi que l'objectif du test. Il y a cinq méthodes de base pour dénombrer les microorganismes sur une surface:

- 1 - le tube écouvillon (swab rinse);
- 2 - le rinçage;
- 3 - la méthode de contact sur gélose (Agar contact sampling method);
- 4 - la gélose (direct surface agar plating);
- 5 - la sonde aspiratrice de surface (Vacuum probe surface plating).

Plusieurs autres méthodes sont décrites dans la littérature mais ce sont des adaptations, des modifications ou des améliorations de ces techniques de base.

2.2.2.1 Le tube écouvillon (Swab rinse)

Dans cette technique, on frotte une partie ou la totalité de la surface à échantillonner avec un coton-tige humide. Celui-ci est placé dans un tube contenant une solution tampon stérile et est agité pour y libérer les microorganismes recueillis (2). Après échantillonnage, ils sont remis temporairement au réfrigérateur avant d'être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire afin d'appliquer sur un milieu de culture approprié la solution de rinçage.

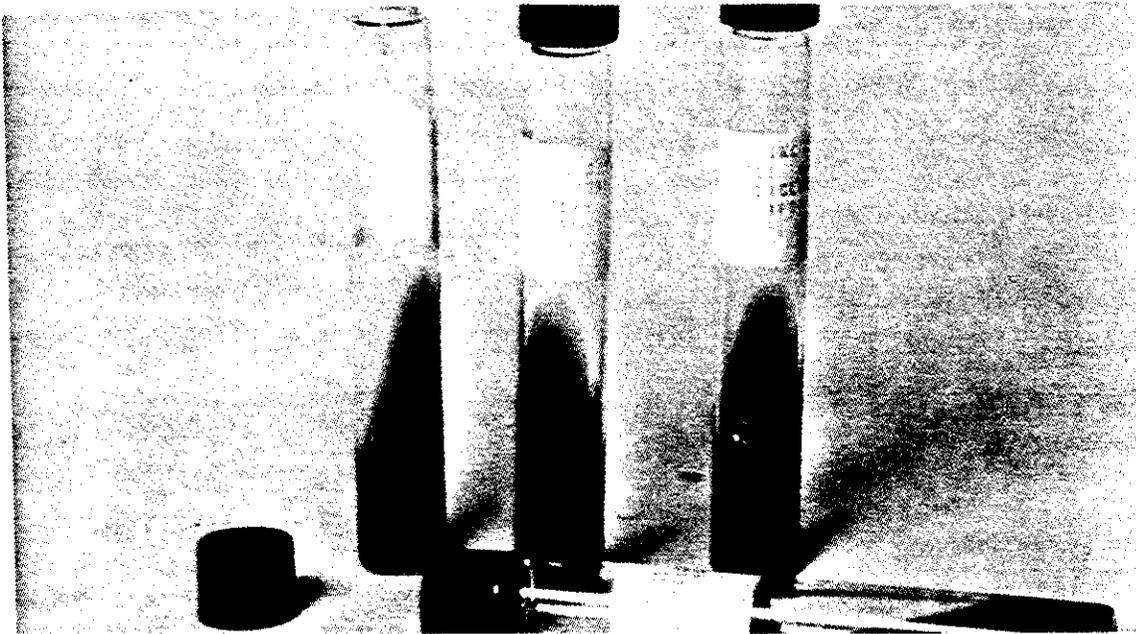
Cette méthode comporte de nombreux inconvénients. La corrélation entre la quantité de microorganismes contaminant une surface et la quantité recueillie est faible. Deuxièmement, il n'y a pas deux personnes qui utilisent les coton-tiges de la même façon, au niveau de la pression appliquée et de la vitesse de frottement. Finalement, le coton-tige retient un certain nombre de microorganismes.

D'autres types de matériels ont été utilisés pour remplacer le coton-tige, principalement l'alginate de calcium, mais les résultats ne sont pas concluants.

Dans le but de faire une estimation grossière de la contamination microbienne ou pour déceler la présence d'un type particulier de microorganismes (en employant un milieu de culture approprié), le coton-tige peut être appliqué directement sur un milieu de culture.

La technique du tube écouvillon se veut une méthode d'évaluation grossière de la contamination microbienne à employer sur le terrain et non une technique précise qui permet de quantifier la population microbienne d'une surface. Par contre, elle est simple et facile à utiliser. (Figure 2).

FIGURE 2: TUBE ÉCOUVILLON (2)



2.2.2.2 Le rinçage

Dans le rinçage, la surface à analyser est immergée dans une solution stérile qui est agitée, soit manuellement ou mécaniquement, de façon à détacher les microorganismes. Cette technique est plus précise que la précédente puisque la surface entière est échantillonnée. Par contre, elle ne peut être utilisée sur une grande surface.

La méthode la plus efficace pour échantillonner les microorganismes retrouvés au niveau des mains est l'insertion de celles-ci jusqu'aux poignets dans un sac stérilisé en polyéthylène (de marque Ziploc^{md}, contenant un volume connu d'une solution d'échantillonnage stérile). Après y avoir inséré la main, le sujet tient le sac ouvert autour du poignet. La main est par la suite frottée sur les parois du sac dans le but d'y agiter et détacher les microorganismes. Le liquide obtenu est finalement ensemencé sur des milieux de culture. Cette méthode permet une quantification satisfaisante et une identification des organismes de surface (Figure 3).

2.2.2.3 La méthode de contact sur gélose (Agar contact sampling method)

Le principe de cette technique est le suivant. Un milieu de culture (gélose) est passé sur la surface à échantillonner et incubé.

Le contenant le plus souvent utilisé est la gélose Rodac, disponible sur le marché (Figure 4). Un plat de pétri de 25 cm² de surface contenant un milieu nutritif légèrement convexe (nécessaire pour le contact) est utilisé dans le but de déterminer une contamination sur des surfaces planes tels les murs, les planchers, les plafonds et les pièces d'équipements (2). Par contre, on ne peut l'utiliser lorsque la contamination est trop élevée, car la gélose devient vite saturée. L'aspect quantitatif de cette méthode laisse à désirer.

md : marque déposée

FIGURE 3: CONTENANT STÉRILE (2)

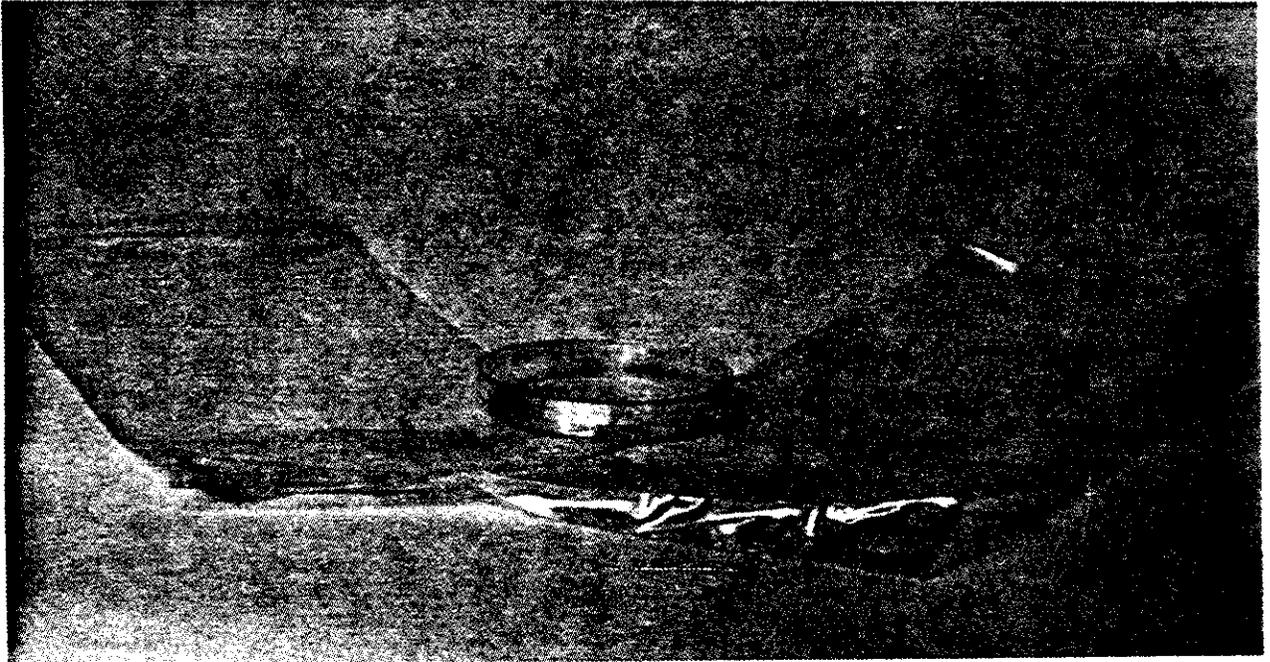
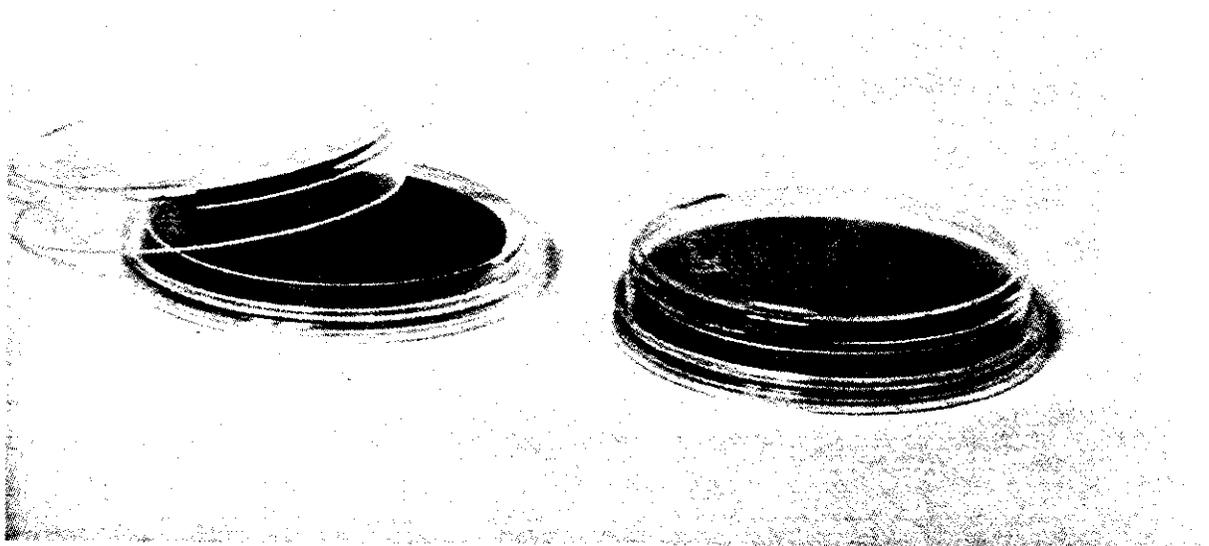


FIGURE 4: GÉLOSE RODAC (2)



2.2.2.4 La gélose (direct surface Agar plating)

On verse un milieu liquide de gélose stérile préalablement refroidie sur la surface à analyser et on le laisse se solidifier, en ayant pris soin de la recouvrir d'un couvert stérile, afin d'éviter une contamination additionnelle. Après incubation, on compte le nombre de colonies à l'interface de la plaque de gélose. Une autre façon de procéder est de placer une partie de la surface dans un vase de pétri et de le recouvrir avec un milieu de culture (Figure 5).

Cette technique n'est pas précise pour déterminer le nombre de microorganismes. Elle est utilisée pour une approximation grossière de la contamination. Son application est limitée puisque la majorité des surfaces pouvant être contaminées sont fixes et ne peuvent pas être incubées à la température de croissance idéale. De plus, cette technique ne peut être utilisée avec des surfaces contenant des agents bactéricides ou bactériostatiques qui préviennent la prolifération des microorganismes (1).

2.2.2.5 La sonde aspiratrice de surface (Vacuum probe surface plating)

La sonde aspiratrice de surface se compose d'un tube en téflon avec un orifice critique relié à une chambre en aluminium conique. Un filtre à membrane stérile est localisé à l'extrémité de la chambre. Sous l'aspiration, les particules de surface sont enlevées et saisies sur le filtre. Le filtre est ensuite placé sur un milieu de culture, incubé et les colonies microbiennes comptées. L'évaluation de cette méthode a démontré que la sonde est un échantillonneur efficace, enlevant 98 % et récupérant 88 % de la contamination de surface résultant de l'accumulation des microorganismes (Figure 6).

FIGURE 5: GÉLOSE (2) (MILIEU NUTRITIF SPÉCIFIQUE)

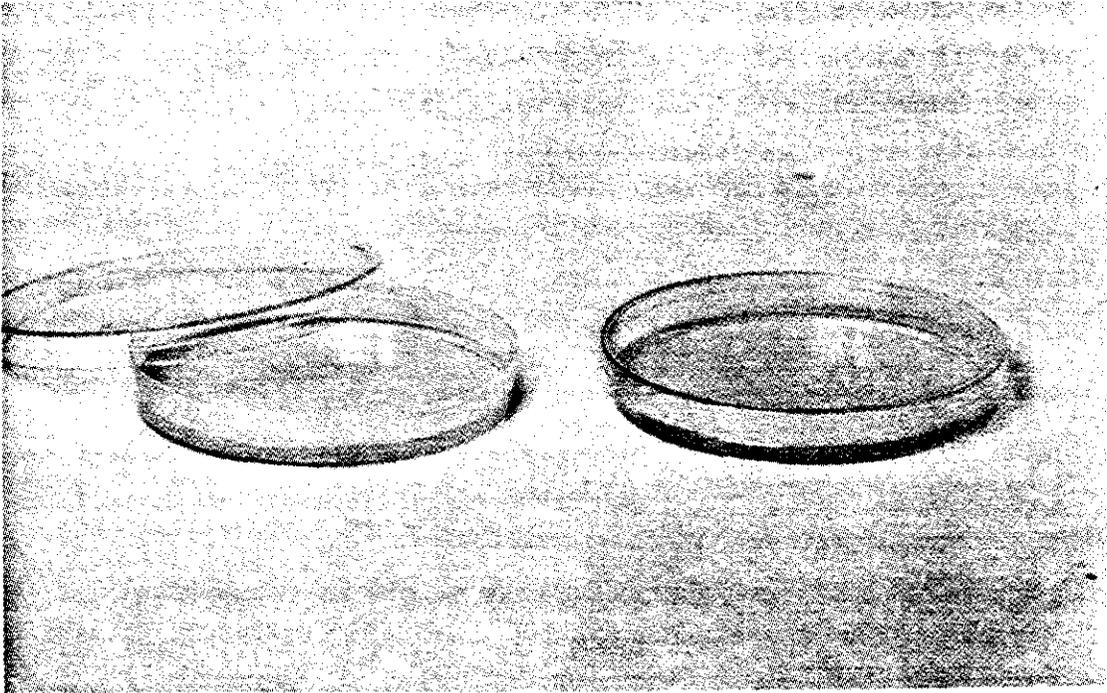
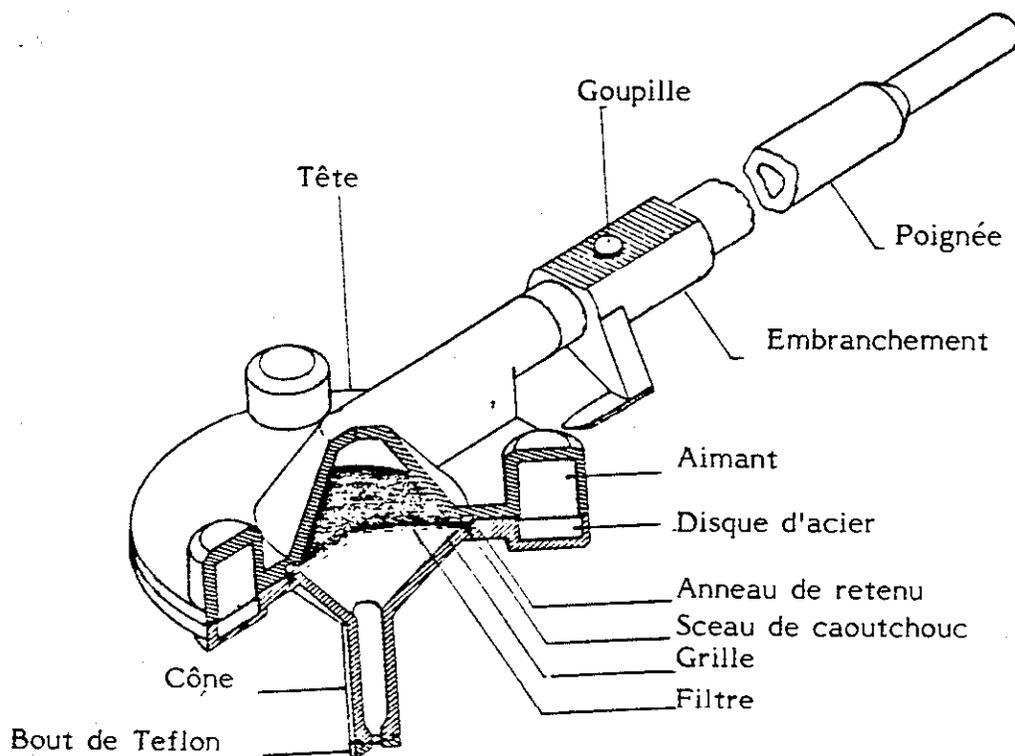


FIGURE 6: SONDE ASPIRATRICE DE SURFACE (9)



Comparée directement à la méthode de rinçage, la sonde récupère deux fois plus de microorganismes. Cette technique est adéquate pour échantillonner de grandes surfaces où le niveau de contamination microbienne est relativement bas (1).

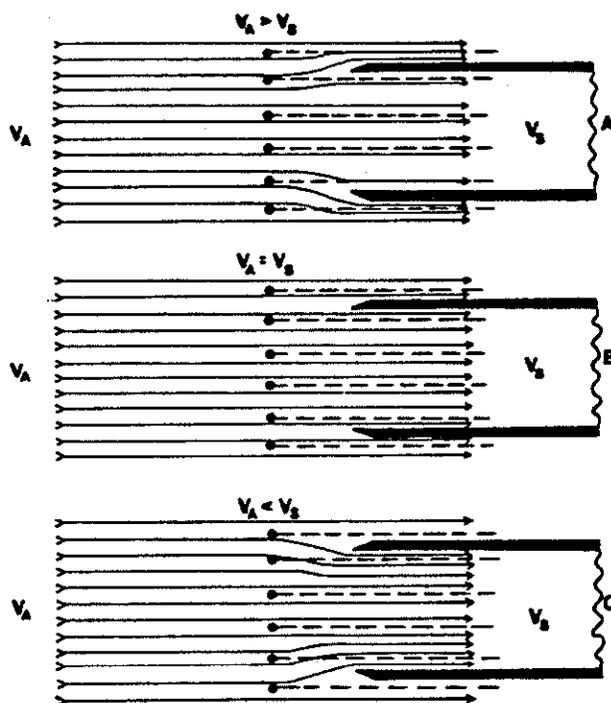
* *

Les facteurs à être considérés en sélectionnant une méthode d'échantillonnage comprennent le nombre et le type de microorganismes présents à la surface, la nature de la surface et la présence d'un bactéricide. Il n'y a pas de gélose sur laquelle tous les microorganismes vont croître assez rapidement pour être dénombrés après une période d'incubation assez courte. Aucune méthode mentionnée ne peut caractériser complètement la contamination microbienne sur une surface. C'est seulement quand tous les facteurs ont été considérés qu'une personne peut sélectionner judicieusement une ou plusieurs techniques nécessaires pour donner l'information requise.

2.2.3 Échantillonnage de l'air

Lorsque nous voulons effectuer un échantillonnage de particules (viables ou pas) dans l'air ambiant, il est important de le faire d'une façon isocinétique. L'échantillon est prélevé en dirigeant l'entrée de l'échantillonneur dans le courant d'air et en utilisant la même vitesse que ce courant, (figure 7) on recueille ainsi une fraction représentative de la distribution de l'aérosol original.

FIGURE 7: TRAJECTOIRE DE L'AIR (—) ET DES PARTICULES (-.-.) À L'ENTRÉE (10)



Les erreurs causées par un échantillonnage non isocinétique ne sont pas trop grandes quand les particules sont comprises dans l'intervalle de 1 μm à 5 μm , mais elles augmentent si la granulométrie se diversifie.

Il n'existe pas de facteurs de correction pour un échantillonnage non isocinétique. Il vaut mieux ajuster les débits aux situations données. Dans les lignes qui suivent, nous considérerons que les conditions isocinétiques sont atteintes.

Les microorganismes se retrouvent rarement à l'état libre dans l'air. Les particules solides ou les gouttelettes en suspension dans l'air, servent de vecteurs passifs pour le déplacement des différents microorganismes. Les particules (ou gouttelettes) qui peuvent être inhalées sont celles qui présentent des effets sur la santé. Un échantillonneur doit donc prélever les particules dont le diamètre aérodynamique nous intéresse (11).

La forme des particules varie énormément: longue ou effilée comme les fibres de verre et d'amiante, sphéroïde comme les pollens ou en forme de plaques comme le graphite. Les aérosols liquides, par contre, sont pratiquement toujours quasi-sphériques. Puisqu'une particule irrégulière peut avoir des diamètres différents, il est nécessaire d'employer un terme qui décrit sa taille indépendamment de sa forme. Le concept de diamètre aérodynamique équivalent répond à cet objectif. Le diamètre aérodynamique équivalent correspond au diamètre d'une particule de masse volumique égale à 1, ayant la même vitesse de chute que la particule irrégulière en question. En pratique, cette taille équivalente sera évaluée en laissant tomber la particule irrégulière dans une chambre d'air calme. La vitesse de chute est mesurée puis comparée à la vitesse étalon calculée pour différentes particules sphériques de masse volumique égale à celle de l'eau. C'est le diamètre aérodynamique équivalent qui détermine en grande partie le dépôt des particules dans l'appareil respiratoire (7).

La plage des grosseurs des particules respirables est de 2 à 8 μm (11). Ces particules peuvent pénétrer à différentes profondeurs dans le poumon et celles qui ont un diamètre aérodynamique équivalent d_{ae} de 3 à 5 μm sont retenues dans les passages étroits non ciliés et dans les alvéoles, suffisamment longtemps pour initier des infections, des réactions allergiques ou autres (11).

Les trois principaux paramètres à considérer avant d'échantillonner dans l'air ambiant des microorganismes sont (1):

- 1 - la concentration des microorganismes dans l'air;
- 2 - la dimension des particules sur lesquelles se trouvent les microorganismes;
- 3 - les variations de concentration des microorganismes de l'air ambiant dans le temps.

Pour certaines maladies, seulement un petit nombre de microorganismes est requis pour initier des infections et dans ce cas, il est nécessaire d'échantillonner un large volume d'air dans le but de concentrer les microorganismes pour des analyses subséquentes et pour l'identification.

La dimension des particules sur lesquelles sont attachés les microorganismes est importante afin de prédire la pénétration et la rétention dans l'appareil respiratoire et de maintenir la viabilité durant l'échantillonnage et le transport jusqu'au laboratoire.

Les aptitudes à détecter les changements dans le temps des concentrations ou des types de microorganismes dans les aérosols peuvent être utilisées pour établir des relations de cause à effet ou pour juger de l'efficacité des mécanismes de filtration.

Les objectifs d'un programme d'échantillonnage des microorganismes de l'air ambiant détermineront le type d'appareil à utiliser. Il existe un nombre assez grand d'appareils pour rendre le choix difficile, mais quand les principes qui entrent en jeu sont compris, le choix devient plus facile (1).

Les échantillonneurs des microorganismes de l'air peuvent être classés dans trois groupes, selon les principes utilisés pour le prélèvement de l'échantillon. Ce sont (1):

- 1 - les capteurs par inertie;
- 2 - les filtres;
- 3 - les précipitateurs (thermiques et électrostatiques).

2.2.3.1 Les capteurs par inertie

Le cycle d'une respiration ainsi que la géométrie des conduits respiratoires forcent l'air à changer plusieurs fois de direction dans les voies respiratoires. De la même façon, ce groupe d'échantillonneur fait changer la direction du courant d'air de façon à ce que les particules suspendues dans l'air qui tendent à continuer leur trajet rectiligne en vertu de la loi d'inertie, puissent être captées par impaction sur des surfaces solides ou dans le cas d'un liquide, par barbotage.

L'action sur le corps des particules dépend de leur site de déposition dans l'arbre respiratoire humain. Pour évaluer les quantités de particules (aérosols) déposées dans chacune des régions de cet arbre, il existe des appareils qui classent les particules de la même façon que le système respiratoire: selon leurs grosseurs aérodynamiques.

2.2.3.1.1 La sédimentation

Cette méthode consiste à recueillir les microorganismes qui se déposent par gravité sur des milieux de culture solides; elle est la plus simple des échantillonneurs biologiques (9). L'utilisation de milieux sélectifs permet l'identification rapide des germes contaminants. L'incubation du milieu de culture produira des colonies correspondant aux organismes biologiques présents dans l'aérosol (1).

L'efficacité est plus grande pour des conditions en air calme. Seulement des particules assez grosses peuvent être prélevées. Les petites particules et spécialement celles $\geq 3 \mu\text{m}$ se déposent très lentement et ne sont pas facilement détectées. Ce type d'échantillonnage ne donne que des informations qualitatives et approximatives sur l'air ambiant.

Les avantages de cette méthode sont (9):

- le faible coût;
- la bonne disponibilité commerciale;
- un excellent moyen pour évaluer la contamination de surface.

Les désavantages sont:

- la quantification faible;
- l'affectation par des courants d'air;
- le domaine d'utilisation limité aux particules ou gouttelettes supérieures à $3 \mu\text{m}$;
- un biais lors du prélèvement des petites particules.

2.2.3.1.2 Le barbotage

Dans le barbotage, l'air est recueilli dans un milieu liquide stérile et la solution est ensuiteensemencée sur des milieux de culture. Le barboteur en verre (AGI = All glass impinger) fonctionne essentiellement en faisant barboter de l'air à haute vitesse (environ 760 m.p.h.) (12) à travers un liquide capteur isotonique. Après prélèvement, le liquide est dilué et des aliquots sont versés sur des milieux de culture et incubés.

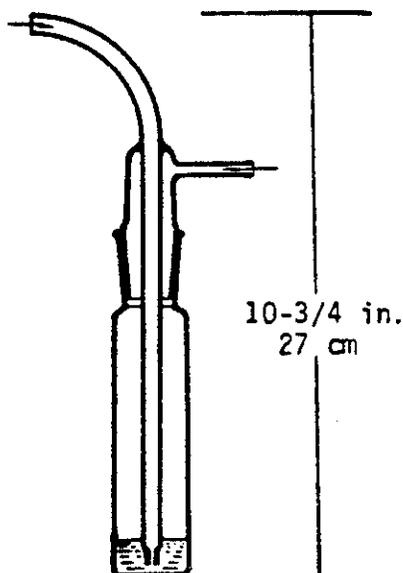
Le barboteur possède un petit orifice par lequel l'air est passé, augmentant la vélocité inertielle des particules. L'orifice agit comme un orifice critique (limitant). Lorsqu'un différentiel de pression plus grande que 41 cm de mercure est maintenu, il en résulte un débit constant de 12,5 litres par minute, qui est approximativement celui du taux respiratoire humain.

Les barboteurs sont utilisés pour déterminer le nombre de microorganismes viables dans un aérosol plutôt que le nombre de particules (13). En sachant le débit, le temps d'échantillonnage et le nombre d'organismes, il est facile de calculer le nombre d'organismes par unité de volume d'air échantillonné (nombre d'organismes/pied cube ou mètre cube d'air).

Le barboteur en verre AGI-30 (qui a une distance du jet à la base de 30 mm) est recommandé comme échantillonneur standard (14). Un pré-barboteur et un barboteur liquide à plusieurs étages ont été utilisés avec le AGI dans le but d'effectuer la séparation des particules de l'aérosol en différentes dimensions (13).

En ensemençant le liquide échantillonné sur différents milieux de culture et par des techniques de dilution appropriée, cette méthode peut être appliquée pour des valeurs extrêmes. De plus, le barboteur en verre est facile à nettoyer et à stériliser (Figure 8).

FIGURE 8: ALL-GLASS IMPINGER (AGI) AG GLASS INC., VINELAND, N.J.



Lorsque la méthode par barbotage est utilisée, le degré de précision pour la quantification des aérosols contenant de gros microorganismes est moindre que lorsque les méthodes par impaction sont employées (13). Lorsque les organismes sont transportés en agrégats, les barboteurs tendent à surévaluer le nombre de colonies à cause des brisures des agglomérats. Les échantillonneurs sur milieu liquide ont démontré une variabilité plus grande que ceux qui échantillonnent sur milieux solides, dues aux erreurs associées à l'ensemencement.

Le temps d'échantillonnage du AGI doit être limité pour prévenir l'évaporation rapide du liquide. Habituellement 25 mL d'un liquide de prélèvement est placé dans l'échantillonneur, mais des volumes aussi bas que 5 mL peuvent être utilisés. Un échantillon d'une minute est souvent réalisé mais des échantillons de 5 à 10 minutes le sont aussi. Des temps d'échantillonnage plus élevés résultent en une perte plus grande du liquide par évaporation (9). À cause de la forte vélocité de captation, quelques organismes sensibles ne pourront survivre au prélèvement (1).

En résumé, les avantages du barbotage sont:

- une efficacité de prélèvement élevée;
- de faibles coûts;
- une bonne disponibilité commerciale;
- une bonne sélectivité: en dessous de 17 um quand il est utilisé seul, moins de 5 um et entre 5 et 17 um quand il est utilisé avec un pré-barboteur (May pré-impinger) (12);
- débit approximatif se rapprochant du débit respiratoire humain;
- une méthode standard d'échantillonnage reconnue.

Les désavantages sont:

- la difficulté d'application pour des concentrations d'aérosols assez faibles;
- la fragilité de l'échantillonneur en verre;
- l'utilisation de solutions et de milieux de culture nécessaires à l'obtention des résultats finaux.

Les échantillonneurs suivants opèrent sur le principe d'impaction sur une gélose ou un filtre. L'accélération de l'air à travers une ou plusieurs petites ouvertures est suivie par le dépôt de particules contenant des organismes viables sur une surface nutritive. Le nombre de colonies formées, prélevées pour un certain volume d'air, peut être déterminé par un simple comptage.

2.2.3.1.3 Les "slits samplers"

Dans cet appareil, l'air est aspiré par une fente située au-dessus d'une boîte de pétri qui tourne afin d'assurer un dépôt uniforme des contaminants aériens.

Même si la majorité des échantillonneurs ont des contrôles pour varier les débits, le taux recommandé est de 28,3 LPM (litres par minute). La vitesse de rotation de la boîte de pétri contenant la gélose est variable, pour permettre les prélèvements de microorganismes à des concentrations faibles ou élevées (1).

Après le prélèvement de l'échantillon, la boîte de pétri est enlevée, le contenu incubé et le dénombrement effectué.

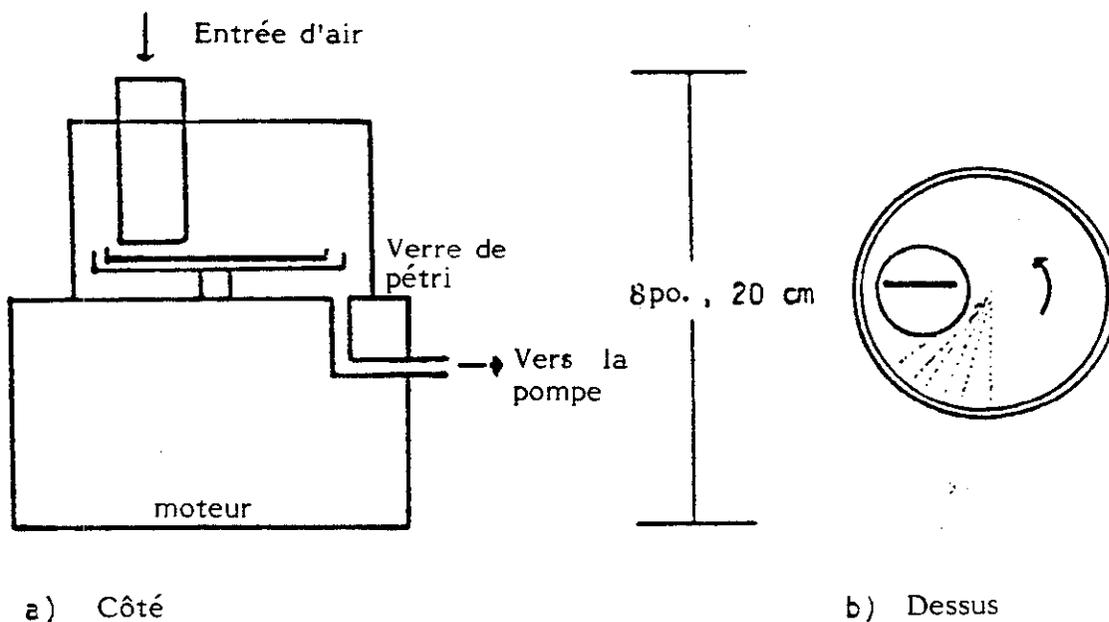
Un avantage de cet échantillonneur est que la relation des concentrations de microorganismes en fonction du temps nous est donnée.

Il existe des "slits sampler" à grand volume qui utilisent des débits d'air de 1000 LPM. Ce type est utile pour mesurer des concentrations extrêmement faibles.

Ces appareils sont efficaces dans le prélèvement des particules plus grandes que 2,3 μm . Avec des particules de 0,5 μm , l'efficacité de prélèvement est de 70 % de celui de l'appareil d'Andersen (1) (Figures 9 et 10).

Les "slits samplers" sont conçus pour des milieux de culture de 150 X 20 mm (environ 22 fois la grandeur d'un verre de pétri standard). Comparativement à d'autres échantillonneurs, ce type peut opérer plus longtemps sans assécher le milieu de culture. Un maximum de 2500 colonies peut être dénombré (14).

FIGURE 9 ET FIGURE 10: SLIT SAMPLER



a) Côté

b) Dessus

Les avantages de cet appareil sont (9):

- la possibilité d'établir une relation entre des concentrations de microorganismes en fonction du temps;
- l'efficacité de prélèvement est relativement élevée (85 à 95 %);
- la simplicité d'opération;
- la dilution en laboratoire n'est pas requise.

Les désavantages sont:

- l'échantillonneur ne peut être stérilisé à l'autoclave;
- la stérilisation gazeuse est nécessaire;
- le coût d'achat est relativement élevé.

2.2.3.1.4 Les impacteurs en cascade

L'impacteur en cascade est utilisé pour prélever les particules de l'air ambiant sur des lamelles microscopiques. L'échantillon est divisé en une série progressive de particules plus petites dépendant de la dimension des ouvertures à chaque étage qui augmente la vitesse d'impaction et par conséquent produit une ségrégation. Les particules impactées sur des lamelles peuvent, après coloration, être examinées directement avec un microscope ou

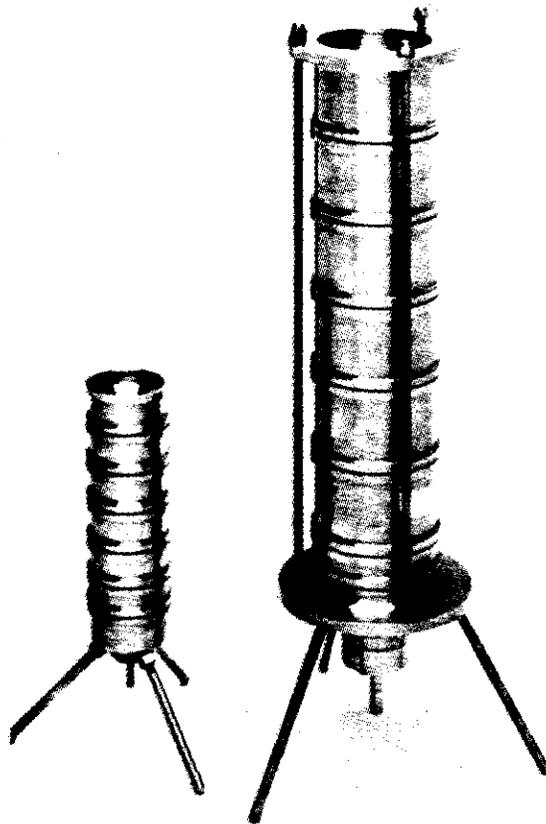
lavées et incubées sur un milieu de culture pour dénombrement et identification. Cette dernière méthode est applicable seulement pour les microorganismes résistant à l'assèchement comme les spores des champignons (1).

L'air est passé à travers l'échantillonnage à un débit constant, donnant des vitesses progressivement plus grandes à travers chaque ouverture des étages subséquents (Figure 11).

Les avantages de cet appareil sont:

- l'utilité pour l'établissement de la granulométrie des particules;
- le faible coût et la disponibilité commerciale.

FIGURE 11: IMPACTEUR CASCADES MODIFIÉ (13)



Les désavantages sont:

- le dispositif prélève de façon non isocinétique;
- l'applicabilité, restreinte à des microorganismes qui résistent à l'assèchement.

2.2.3.1.5 L'échantillonneur d'Andersen (sequential impaction cascade sieve volumetric sampler)

Connu sous le nom d'échantillonneur d'Andersen, cet appareil utilise une série de tamis et le principe d'impaction en cascade pour prélever les microorganismes viables de l'air ambiant. Une caractéristique importante est qu'il sépare les particules prélevées selon leur granulométrie. Certains de ces appareils sont disponibles commercialement (Andersen Microbial Air Sampler, Microbial Air Sampler de Flow Sensor, etc.). Ils fonctionnent tous selon les mêmes principes. L'échantillonneur se compose de 2 à 6 étages en aluminium. (Figure 12). Un modèle à 8 étages est aussi disponible. Chaque étage a des sections d'entrée d'air qui contiennent 400 orifices équidistants. Les orifices deviennent progressivement plus petits, des étages supérieurs vers le bas et prélèvent les particules pour chaque étage sur un milieu de culture approprié placé en dessous (1) (Figure 13).

Le débit est de 28,3 LPM. L'utilisation de l'échantillonneur à six étages permet d'établir les diamètres aérodynamiques équivalents des particules de 0,65 μm à 7,0 μm . Un modèle de 2 étages est disponible. Il différencie les particules respirables des non respirables (Figure 12).

Les temps d'échantillonnage peuvent varier de 1 à 20 minutes, selon la quantité de microorganismes présents dans l'air.

FIGURE 12: L'ÉCHANTILLONNEUR MICROBIEN D'ANDERSEN, GAUCHE: LE MODÈLE À 6 ÉTAGES; À DROITE: LE MODÈLE À 2 ÉTAGES (11)

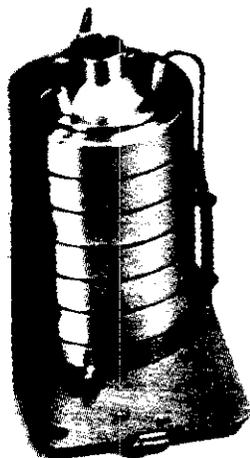
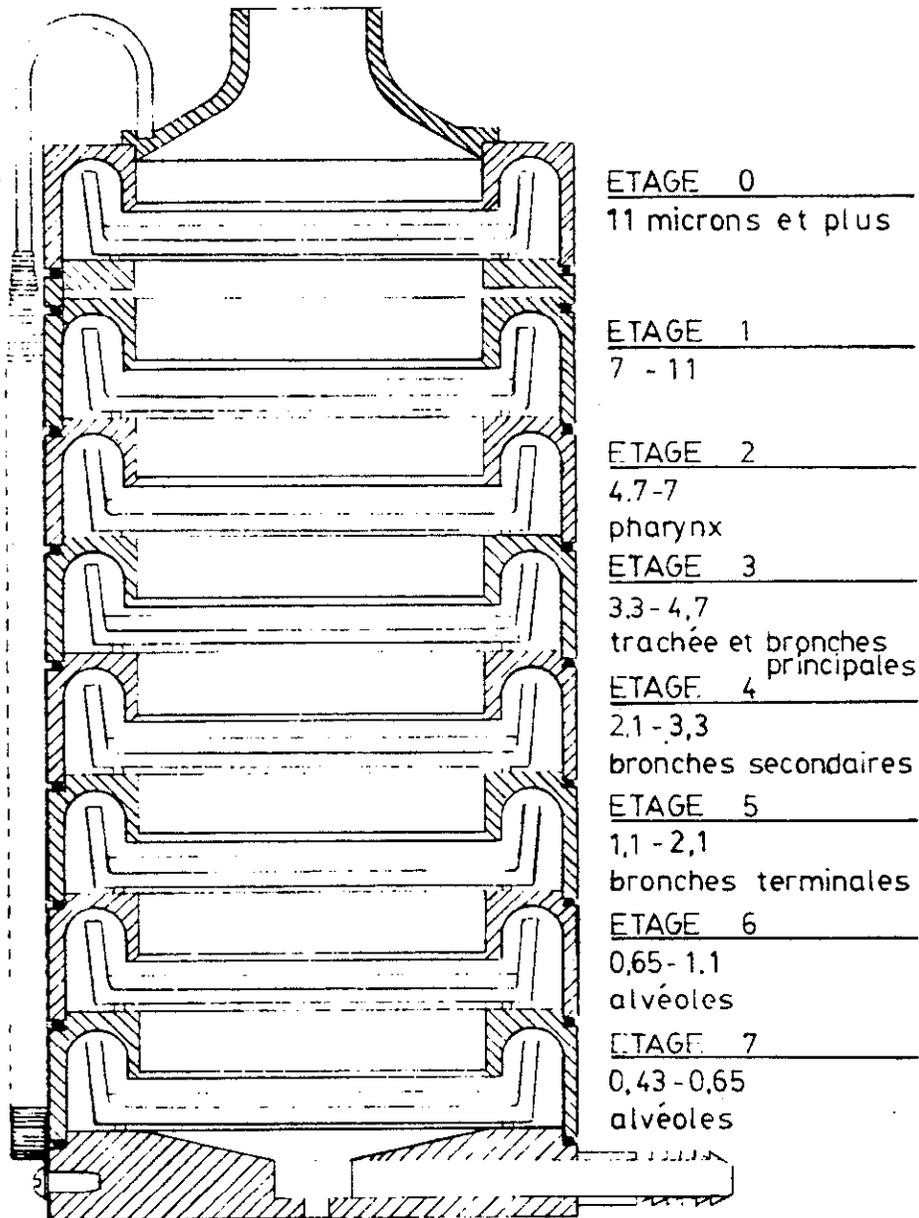


FIGURE 13: L'ÉCHANTILLONNEUR D'ANDERSEN, (COURTOISIE D'ANDERSEN 2000, INC., ATLANTA, GA)



L'échantillonneur de microorganismes d'Andersen a été suggéré, il y a une vingtaine d'années, comme un échantillonneur standard, plus spécialement dans les cas de contamination microbienne faible (14). De nos jours, cet échantillonneur est utilisé pour déterminer les concentrations de particules viables, avec près de 100 % d'efficacité dans le prélèvement des particules respirables.

Andersen a rapporté que les plats de pétri en verre et en aluminium étaient équivalents, mais que l'utilisation de plats de pétri en plastique résultait en des dénombrements plus faibles. Le phénomène fut expliqué par la présence de charges électrostatiques sur les plats en plastique (15).

En résumé, les avantages de cet appareil sont:

- la séparation des particules prélevées selon leur granulométrie;
- la disponibilité commerciale;
- le prélèvement des aérosols dans leur état naturel;
- la dilution en laboratoire n'est pas requise;
- une méthode standard d'échantillonnage (efficacité de prélèvement égale à 100 %);
- l'échantillonnage de concentrations faibles à élevées de bactéries et de virus.

Les désavantages sont:

- la limite dans le temps d'échantillonnage à cause de l'assèchement des milieux de culture;
- l'utilisation des tables de correction lors du dénombrement si le nombre de microorganismes échantillonnés est élevé (15).

2.2.3.1.6 L'échantillonneur d'air centrifuge

Les échantillonneurs d'air centrifuge sont des modifications des cyclones industriels utilisés pour la captation des poussières. Les particules sont captées à la surface intérieure d'un cône nettoyé par un liquide. Le liquide échantillonné est par la suite analysé d'une façon appropriée.

Un développement plus récent combine les principes de centrifugation et d'impaction sur une gélose. (Figure 14). L'air est emmené à travers une entrée qui possède un tonnelet peu profond et est accéléré par une force centrifuge sur une surface de 34 cm² de milieu de culture contenu dans une bande de plastique. Cette bande est enlevée après l'échantillonnage, puis incubée et les colonies microbiennes sont comptées directement. Le taux de recouvrement de cet appareil est significativement plus élevé que pour un barboteur liquide et plus élevé que pour un "slit Sampler" (16).

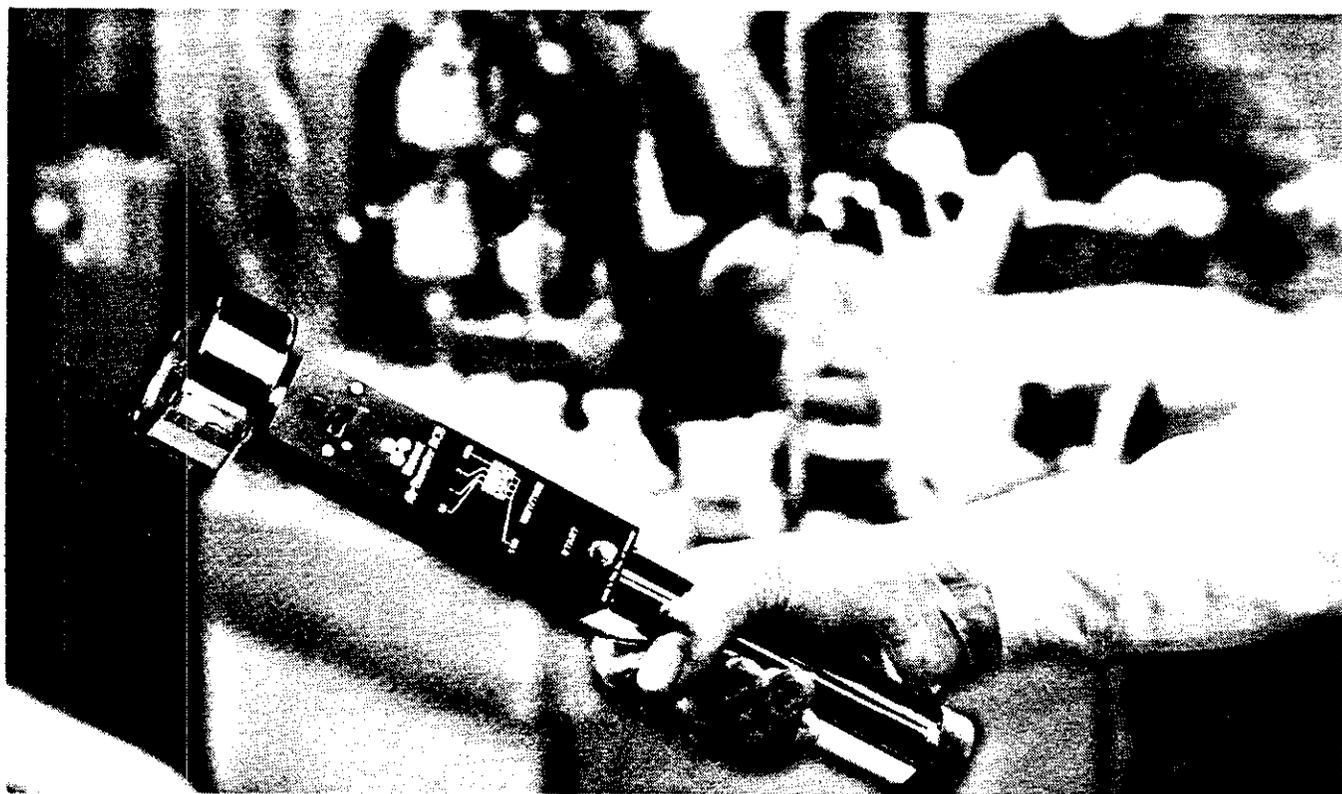
En résumé, les avantages de cet appareil sont:

- la facilité de stérilisation et d'utilisation;
- le temps d'échantillonnage assez court;
- la disponibilité commerciale;
- le prélèvement des aérosols dans leur état naturel;
- la dilution en laboratoire non requise;
- le dénombrement rapide grâce à l'utilisation d'un compteur de colonies.

Les désavantages sont:

- la faible efficacité de recouvrement pour les particules plus petites que 3 um (17).

FIGURE 14: ÉCHANTILLONNEUR D'AIR CENTRIFUGE



2.2.3.2 Les filtres

Le principe de la filtration est simple. Un volume d'air connu est filtré à travers un support poreux qui retient les microorganismes.

Il existe deux types de filtres. Les filtres de type matelassé et les filtres à membrane. Dans les filtres de type matelassé, les espaces interstitiels sont plus grands que les particules et la filtration s'effectue par impaction des particules sur les fibres du filtre (Figure 16).

Les filtres à membrane retiennent les particules plus grandes que la dimensions des pores, par action directe. Les membranes en plastique sont fabriquées d'une variété de polymères. En fonction du type de filtre utilisé, les dimensions des pores peuvent varier de 3 um à 8 um (Figure 17).

Le débit d'échantillonnage peut varier de 5 à 20 LPM, mais le temps d'échantillonnage est limité à cause de la déshydratation des microorganismes et surtout des bactéries. Suivant la période d'échantillonnage, le filtre est enlevé et incubé. Les particules peuvent être extraites du filtre ou celui-ci peut être recouvert d'une solution nutritive et incubé.

À cause de l'effet déshydratant, cette méthode est limitée à l'échantillonnage des spores et des cellules végétatives résistantes (1). Des microorganismes stables comme des spores de Bacillus subtilus Var. niger peuvent être échantillonnés efficacement alors que le prélèvement des cellules végétatives viables de Serratia marcescens est de 0,1 % à 0,2 % sous certaines conditions (13).

FIGURE 15: FILTRE À MEMBRANE (13)

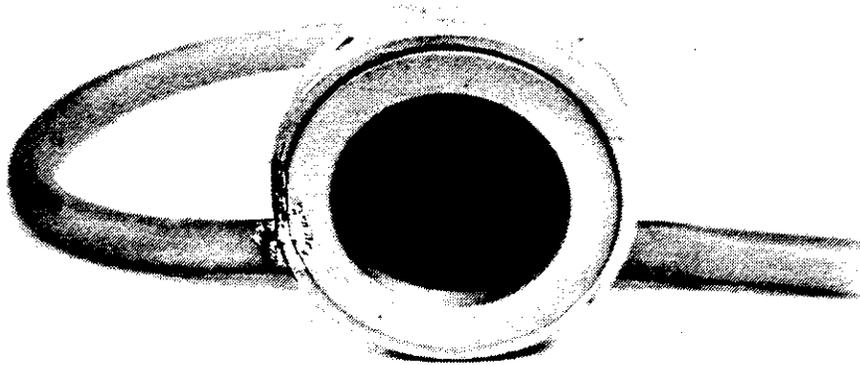
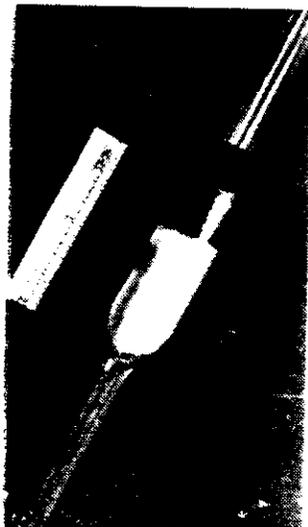


FIGURE 16: FILTRE MATELASSÉ (9)



Les pertes de viabilité causées par la dessiccation des organismes fragiles rendent l'utilisation des échantillonneurs à filtre limitée pour des applications à long terme ou pour des échantillonnages à grand volume (13).

Les avantages de ce groupe d'échantillonneurs sont (9):

- l'obtention du nombre total de particules;
- l'adaptation à l'échantillonnage des spores;
- l'utilisation pour les particules non viables;
- le faible coût.

Les désavantages sont:

- l'interférence due à la déshydratation.

2.2.3.3 Les précipitateurs (thermiques ou électrostatiques)

Bien que les forces électrostatiques peuvent jouer un certain rôle dans les échantillonneurs à large volume (Figure 17), dans un précipitateur électrostatique, ces forces sont les seules utilisées. Une charge électrique est donnée et les particules chargées sont collectées par activation d'une électrode de charge opposée (Figure 18).

Puisque les précipitateurs électrostatiques peuvent générer de l'ozone (13), aucune de ces méthodes n'est souhaitable pour le prélèvement de particules biologiques viables (1).

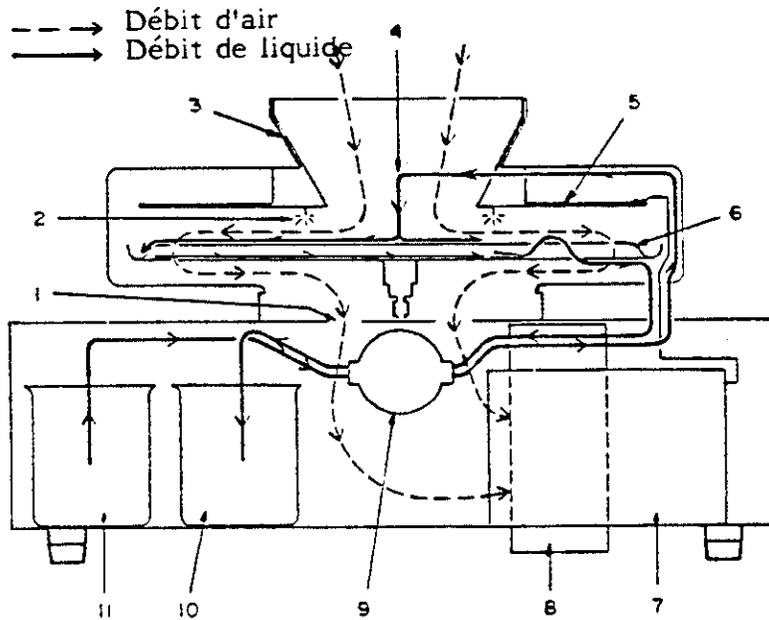
En général, les avantages de ces précipitateurs sont:

- l'échantillonnage de grands volumes d'air;
- l'efficacité de captation relativement élevée (70 à 95 %);

Les désavantages sont:

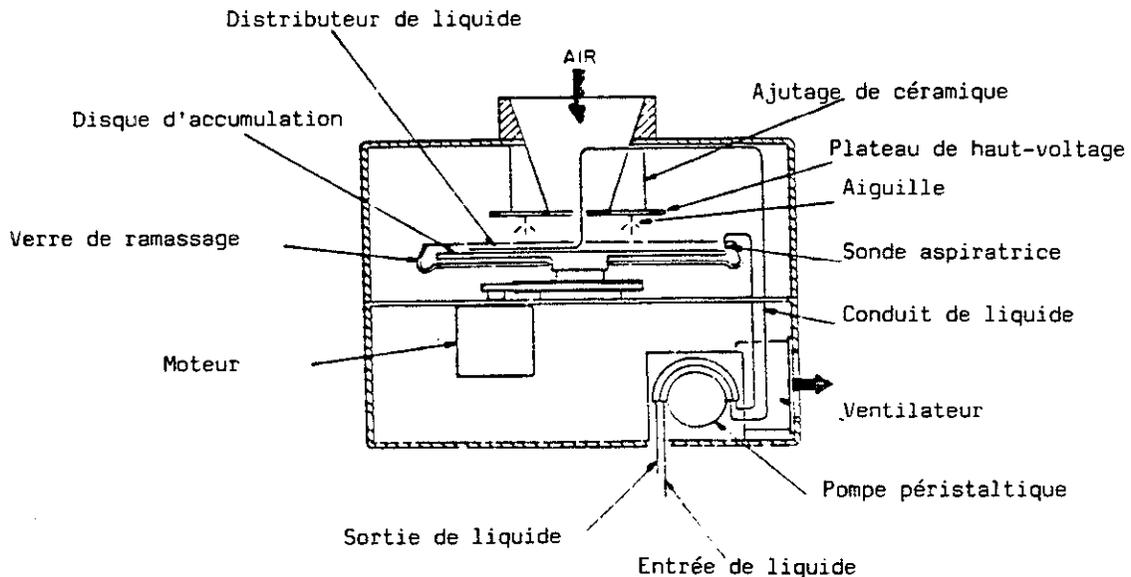
- le coût d'achat;
- la complexité de fonctionnement et d'entretien (un personnel spécialisé est nécessaire);
- les dispositifs se prêtent mieux au travail de laboratoire;
- la difficulté d'utilisation sur le terrain.

FIGURE 17: ÉCHANTILLONNEUR À LARGE VOLUME (9)



- | | |
|----------------------------|--------------------------|
| 1 Entrée contrôlable | 7 Source de haut-voltage |
| 2 Aiguille | 8 Ventilateur |
| 3 Entrée | 9 Pompe |
| 4 Tube d'entrée de liquide | 10 Réservoir de retour |
| 5 Plateau haut-voltage | 11 Réservoir de liquide |
| 6 Plateau d'accumulation | |

FIGURE 18 - PRÉCIPITATEUR ÉLECTROSTATIQUE (9)



2.3 Le choix d'un échantillonneur

Une liste des échantillonneurs les plus souvent recommandés est retrouvée au tableau 5. Plusieurs facteurs doivent être considérés quand on veut choisir un ou des échantillonneurs dans une situation particulière. Des considérations doivent être données aux critères suivants (13):

- 1) l'efficacité dans le prélèvement;
- 2) la sensibilité;
- 3) la fiabilité;
- 4) la facilité de stériliser l'appareil;
- 5) la capacité de maintenir en vie l'échantillon prélevé;
- 6) la facilité d'utilisation;
- 7) la possibilité d'effectuer la granulométrie des particules;
- 8) le coût.

De la même façon, certaines questions doivent être posées. Est-ce que l'échantillonneur a été conçu pour mesurer la concentration de tous les organismes présents dans l'atmosphère? Cherchez-vous un organisme en particulier ou un groupe d'organismes? Les concentrations sont-elles faibles ou élevées? Est-ce le nombre de particules ou de cellules qui est de première importance (1)?

Sommes-nous intéressés par le nombre total de colonies de microorganismes ou bien, comme dans des cas d'allergies par exemple, par l'identification des microorganismes?

Si l'objectif est de démontrer la présence d'une faible concentration d'organismes, un échantillonneur à large volume doit être utilisé. Un échantillonneur à plusieurs étages donnera des informations additionnelles sur les dimensions des particules, lesquelles peuvent être d'une valeur considérable.

L'utilisation d'un "slit sampler" donnera des informations très utiles sur la distinction des organismes en fonction du temps.

Quelques méthodes d'échantillonnage sont spécifiques à certaines utilisations. Par exemple, la filtration est une bonne méthode pour prélever les spores assez résistantes des champignons (11).

Les échantillonneurs qui fonctionnent sur le principe d'impaction, soit sur une surface nutritive ou dans un milieu liquide, donnent des taux de recouvrement plus élevés. L'utilisation de filtres, qui est en soit un système de collection efficace, donne des taux faibles de recouvrement, pour les organismes viables car les conditions essentielles de survie ne sont pas rencontrées.

Le type d'échantillonneur à choisir dépend des objectifs de l'étude entreprise. Si, par exemple, un des objectifs est d'évaluer les risques d'infection respiratoire, un échantillonneur capable de classer l'aérosol microbien en fonction de la granulométrie des particules doit être employé (13).

TABLEAU 5: ÉCHANTILLONNEURS LES PLUS SOUVENT RECOMMANDÉS DANS L'ÉCHANTILLONNAGE DES AÉROSOLS CONTENANT DES MICROBES VIABLES (11)

ÉCHANTILLONNEUR	PRINCIPES	DÉBIT (LPM)	TEMPS D'ÉCHANTILLONNAGE	APPLICATION
Andersen 6 étages *	Impaction sur milieux nutritifs	28,3	1 - 20 minutes	Bactéries et virus,** dans des concentrations faibles à moyennes d'aérosols. Prélève le nombre d'unités viables. Donne la granulométrie des particules.
Andersen 2 étages	Impaction sur milieux nutritifs	14 - 28,3	t > 1 minute	" " " " "
AGI-30 en verre * (barboteur en verre)	Captation sur un milieu liquide	12,5	15 - 30 minutes	Bactéries, Virus,** etc. Peut travailler sur un très grand intervalle de concentration.
Précipitation électrostatique à large volume	Combinaison de forces électrostatiques et de captation sur un milieu liquide	500 à 10 000	Non limité (les liquides peuvent être recirculés)	Bactéries et virus.** Prélève sur des liquides et compte le nombre total d'unités viables. Efficacité de 45-90 % du AGI-30.
Filtres à membrane	---	5 - 50	Minutes pour les bactéries et virus, + long pour les spores et les fungus	Premièrement, pour les spores résistantes, mais peut être utilisé pour les bactéries et virus**(la dimension des spores est habituellement de 0,45 um).
Slit Sampler	Impaction	28,3	1 min à 1 h	Fournit des données sur la relation temps-concentration. Prélève le nombre d'unités viables. Intervalle de concentration limité.

* Recommandé comme échantillonneur standard

** Virus: La capacité d'échantillonner des virus n'est que théorique. Il faudrait des cas très particuliers où 1) l'on connaît le virus et, 2) où l'on a trouvé un laboratoire prêt à cultiver les virus pour réaliser le comptage.

TABEAU 5: ÉCHANTILLONNEURS LES PLUS SOUVENT RECOMMANDÉS DANS L'ÉCHANTILLONNAGE DES (suite) AÉROSOLS CONTENANT DES MICROBES VIABLES (11)

ÉCHANTILLONNEUR	PRINCIPES	DÉBIT (LPM)	TEMPS D'ÉCHANTILLONNAGE	APPLICATION
Plat de pétri avec une gélose nutritive (sédimentation)	dépôt par gravité	-	0 à 4 h	Biaisé dans le prélèvement de grosses particules (nombre d'unités viables).
La gélose (direct surface agar plating)	dépôt par gravité	-	non limité	Biaisé dans le prélèvement de grosses particules (nombre d'unités viables). Prélève les spores résistantes.
Échantillonneur centrifuge "RCS"	impaction	40	1 à 8 min	Bactéries et virus ** > 3 um. Prélève le nombre d'unités viables.
Barboteur liquide à plusieurs étages	impaction	55	variable	Prélève les cellules individuelles à un débit modéré avec une granulométrie semblable à l'arbre respiratoire humain.

* Recommandé comme échantillonneur standard

** Virus: La capacité d'échantillonner des virus n'est que théorique. Il faudrait des cas très particuliers où 1) l'on connaît le virus et, 2) où l'on a trouvé un laboratoire prêt à cultiver les virus pour réaliser le comptage.

2.4 Le choix d'un milieu de culture

Théoriquement, le choix d'un milieu de culture, dans les méthodes par impaction sur une gélose ou de sédimentation, devrait se faire après avoir contacté le laboratoire qui effectuera les analyses et après en avoir discuter avec un microbiologiste.

Les milieux recommandés sont ceux qui pourvoient un bon support général pour la croissance des microorganismes. Cependant, d'autres milieux spécifiques sont requis pour permettre la croissance de microorganismes délicats ou l'identification de certains autres.

Toutes les préparations des milieux de culture doivent être fraîches (dans les jours d'utilisation). Les pétris préparés doivent être entreposés à l'envers et la formation de buée sur les couvercles enlevée. Les milieux doivent être passés à l'autoclave, pas plus de 20 minutes à 120°C pour assurer leur stérilité (18). Des précautions spéciales doivent être prises pour acheminer les milieux au laboratoire qui fera les analyses. Il ne faut pas que les milieux soient exposés à de la chaleur excessive et à la lumière du soleil. Ils doivent être expédiés aussitôt que possible (1).

2.4.1 Milieux de culture recommandés pour la détection générale et l'énumération des champignons

Les géloses à l'extrait de malt avec un ph de 4.5 à 5.0 sont recommandées (18). Cette recommandation a été faite car ces milieux sont égaux ou supérieurs à d'autres conçus pour les champignons comme la gélose au dextrose Sabouraud (SDA), au rose bengale et Stréptomycine (RBS) et au dextrose de pomme de terre; ils ne supportent pas la croissance de la majorité des bactéries et ils sont des milieux de diagnostique pour identifier les espèces d'Aspergillus (18).

Les milieux de culture RBS et SDA sont essentiellement équivalents pour dénombrer des colonies développées. Les géloses RBS demeurent des milieux de choix pour obtenir un spectre général des champignons retrouvés dans l'air ambiant (19).

L'incubation des milieux de culture pour les champignons se fait à une température de 22°C à 30°C, pour une période de 3 à 7 jours.

2.4.2 Milieux de culture recommandés pour la détection et l'énumération des bactéries, incluant les actynomycetes thermophiles

Les géloses au trypticase et soya (TSA) avec un ph de 7.0 à 7.2 sont recommandées (18).

L'incubation de ces milieux se fait à la température de la pièce pour les microorganismes de l'air ambiant et à 35°C pour les microorganismes qui proviennent des humains. La période d'incubation est habituellement de 48 heures, mais ces détails sont surtout sous le contrôle du laboratoire qui effectue les analyses.

3.- MÉTHODES DE CONTRÔLE

3.1 La décontamination

La décontamination est une opération qui vise à éliminer les effets d'une contamination de nature chimique, biologique ou radioactive, sur ou dans des objets.

Au niveau biologique, la décontamination est une opération qui permet d'éliminer, de tuer ou d'inhiber la croissance des microorganismes indésirables. Le résultat est momentané et se limite aux microorganismes présents lors de l'opération.

Les procédés les plus employés pour décontaminer sont la stérilisation et la désinfection. La stérilisation est un procédé radical qui vise à détruire tous les types de microorganismes, tant dans leur forme végétative que sporulée, incluant virus, spores, champignons et protozoaires. La désinfection vise à enlever ou à détruire les microorganismes présents sur un objet, une surface ou dans un liquide. Les buts de la désinfection sont d'empêcher la présence de microorganismes pouvant être la cause d'infection chez l'humain et de prévenir la contamination (20).

La désinfection diffère de la stérilisation par son manque de pouvoir absolu; seuls quelques désinfectants possèdent ce pouvoir et il est alors nécessaire d'avoir un temps de contact de plusieurs heures. La stérilisation élimine le risque d'infection alors que la désinfection ne fait que le diminuer.

Toute décontamination doit être réalisée en respectant les normes ou les valeurs moyennes d'exposition. Entre autre, l'utilisation de méthodes de décontamination liquides, de vapeurs, de gaz et des radiations requièrent des précautions particulières.

3.1.1 Méthodes de décontamination

Les méthodes de décontamination, de nature physique et chimique, se regroupent dans quatre principales catégories: la chaleur, les désinfectants liquides, les vapeurs et les gaz et les radiations.

3.1.1.1 La chaleur

3.1.1.1.1 La chaleur humide

La chaleur humide est la procédure la plus fiable pour détruire toutes formes de vie microbienne. La stérilisation à la vapeur implique le chauffage dans un autoclave, en utilisant de la vapeur saturée, sous une pression de 15 psi pour atteindre une température d'au moins 121°C (250°F), pour un minimum de 15 minutes. Le temps de stérilisation à l'autoclave est habituellement de 20 minutes. Le temps est mesuré après que le matériel à être stérilisé ait atteint 121°C (1).

L'utilisation d'un indicateur biologique dans l'autoclave est considérée comme le meilleur moyen pour s'assurer de l'efficacité de la stérilisation. L'indicateur biologique le plus utilisé est constitué de spores de Bacillus stearothermophilus (1).

3.1.1.1.2 La chaleur sèche

La stérilisation à la chaleur sèche est moins efficace que la chaleur humide et requiert des temps plus longs ou des températures plus élevées. Les temps et températures spécifiques doivent être déterminés pour chaque type de matériel à être stérilisé. Des facteurs de sécurité généraux sont habituellement rajoutés pour tenir compte des variables qui peuvent influencer la stérilisation (1).

La stérilisation par chaleur sèche peut être accomplie à 160 - 170°C (320 - 338°F) pour des périodes de 2 à 4 heures (1). Des températures plus élevées et des temps plus courts sont utilisés pour les matériaux résistants à la chaleur.

3.1.1.2 Les désinfectants liquides

Il existe plusieurs désinfectants liquides disponibles sur le marché. En général, ils peuvent être regroupés en halogènes, acides ou alcalis, sels de métaux lourds, composés d'ammonium quaternaire, composés phénoliques, aldéhydes, cétones, alcools et amines.

Malheureusement, les désinfectants les plus actifs possèdent souvent des caractéristiques indésirables comme des propriétés corrosives. Il n'existe pas de désinfectants qui conviennent à toutes les situations.

La désinfection liquide ou chimique est nécessaire, car l'utilisation de vapeur pressurisée, la méthode la plus efficace de stérilisation, ne peut être réalisée pour de grands espaces, des surfaces ou de l'équipement fixe. De plus, les hautes températures et l'humidité peuvent endommager les instruments délicats comme les complexes optiques ou les composantes électroniques.

Le groupe de désinfectants liquides les plus actifs sont les halogènes. Le chlore, l'iode, le brome et le fluor tuent rapidement les spores, virus, rickettsies et champignons. L'halogène libre est l'agent actif. Ils sont efficaces pour une grande variété de températures. Cependant, les halogènes ont plusieurs caractéristiques indésirables comme leur combinaison rapide avec les protéines, leur instabilité à des pH peu élevés et leur pouvoir de corroder le métal.

3.1.1.2.1 Les alcools

L'éthanol ou l'isopropanol, à des concentrations de 70 à 85 % par poids, sont utilisés. Les alcools dénaturent les protéines, mais ils sont lents dans leur action germicide (1). Ils peuvent être appliqués sur tout objet, surface métallique ou pas. Ils ne tachent pas et ne laissent aucun résidu. Ils sont non corrosifs. L'alcool, à des concentrations de 70 % par poids reste le plus efficace.

Ces désinfectants sont inflammables. Ils sont non sporicides et leur pouvoir virulicide est restreint. Leur action peut être neutralisée par la présence de matière organique (20).

3.1.1.2.2 Le formaldéhyde

Le formaldéhyde peut être utilisé comme désinfectant. Rencontré à des concentrations de 37 % de gaz dans de l'eau, il est connu alors sous le nom de formaline. Il peut être aussi sous forme d'un

polymère solide nommé paraformaldéhyde (1).

À des concentrations de 5 % d'ingrédients actifs, il est un désinfectant liquide efficace. Il sert à des concentrations de 0,2 à 0,4 % à inactiver les virus dans la préparation de vaccins (1).

Le formaldéhyde perd considérablement son activité désinfectante aux basses températures. Lorsqu'il est utilisé en laboratoire, son odeur irritante requiert quelques précautions.

Une solution d'éthanol 70 % et de formaldéhyde 8 % est considérée comme un désinfectant de haut niveau (20). Ce puissant désinfectant, à usage restreint, peut être appliqué sur tout objet de surface métallique ou pas. Il devrait être employé lorsque le travail s'effectue avec du matériel où l'agent pathogène n'a pas été mentionné ou identifié ou avec des champignons très pathogènes tels Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, ou autres (20). C'est un germicide à action rapide et à large spectre d'activité.

3.1.1.2.3 Les composés phénoliques

Le phénol par lui-même n'est pas utilisé comme désinfectant. Son odeur est incommodante et il laisse sur les surfaces traitées un résidu gommeux. Les homologues du phénol et les composés phénoliques sont la base de plusieurs désinfectants populaires. Les composés phénoliques sont des désinfectants efficaces contre certains virus, rickettsies, champignons et bactéries végétatives (1).

3.1.1.2.4 Les composés d'ammonium quaternaire

Même après 40 ans d'essais, il demeure une grande controverse concernant l'efficacité de ces composés comme désinfectants. Les détergents cationiques sont des agents de surface actifs et puissants. Les composés d'ammonium quaternaire s'attachent aux protéines. Ils ont l'avantage d'être inodore, non corrosifs envers les métaux, stables, économiques et relativement non toxiques.

3.1.1.2.5 Le chlore

Cet halogène est un désinfectant universel, actif contre tous les microorganismes, incluant les spores de bactéries. Le chlore se combine avec les protéines et décroît rapidement sa concentration en leur présence. À l'état libre, le chlore disponible est l'élément actif. C'est un agent oxydant puissant, corrosif envers le métal. Parce que les solutions de chlore perdent rapidement de leur force, des solutions fraîches doivent être préparées fréquemment (1).

L'hypochlorite de sodium (eau de javel) est le désinfectant recommandé pour usage général en laboratoire. On ne doit pas mélanger cette solution avec des acides ou des bases concentrés pour prévenir tout échappement brusque de chlore. Son action rapide, son large spectre d'activité, sa disponibilité et son coût peu élevé en font l'un des désinfectants les plus utilisés.

3.1.1.2.6 L'iode

Les caractéristiques du chlore et de l'iode sont similaires. La solution Wescodyne est l'un des groupes de solution iodée les plus utilisés en laboratoire. La dilution recommandée de Wescodyne par le manufacturier est de 1 once de solution par 5 gallons d'eau, donnant 25 ppm d'iode disponible. À 75 ppm (3 onces de solution dans 5 gallons d'eau) la concentration d'iode à l'état libre est de 0,0075 %. Cette petite quantité peut être rapidement absorbée par les protéines présentes (1).

Mélangé avec de l'éthanol 70 %, ce désinfectant peut être utilisé sur des surfaces métalliques ou tout autre endroit où l'on ne peut utiliser l'hypochlorite de sodium. Ce désinfectant est recommandé pour la désinfection en virologie (20). L'inconvénient majeur de ce désinfectant est de tacher certaines surfaces ou tissus. L'un de ses avantages est son action germicide rapide (20).

3.1.1.2.7 Le glutaraldéhyde

Le glutaraldéhyde 2 % (alcalin) est classé comme un désinfectant de haut niveau. Son pouvoir microbicide à large spectre requiert un temps de contact assez long, de 10 à 30 minutes, pour assurer une désinfection et de plusieurs heures, de 10 à 12 heures, pour une stérilisation. Il est quand même désigné à action rapide pour son effet sur les bactéries de forme végétative (20).

Il est utilisé pour la désinfection par immersion des composantes fragiles comme des pièces de centrifugeuse, des pièces de caoutchouc ou tout autre matériel qui ne peut être stérilisé à l'autoclave ou au four Pasteur (20).

Le glutaraldéhyde est coûteux et son temps d'action le confine à un usage restreint. Il conserve bien son pouvoir germicide, même en présence de matière organique et possède le qualificatif d'agent chimique stérilisant (20).

3.1.1.3 Les vapeurs et les gaz

Un bon nombre de gaz et de vapeurs possèdent un pouvoir germicide. Parmi eux, les plus utiles sont l'oxyde d'éthylène et le formaldéhyde. Employés dans des systèmes clos et sous des conditions contrôlées de température et d'humidité, ils peuvent servir alors de stérilisants. Ils servent pour la stérilisation ou la désinfection (1):

- 1 - de cabinets sécuritaires biologiques et de leurs composantes;
- 2 - d'équipements fixes ou volumineux résistant à la pénétration des désinfectants liquides de surface;
- 3 - d'instruments et d'appareils optiques qui peuvent être endommagés par d'autres méthodes de stérilisation;
- 4 - d'appartements, d'édifices et de leurs systèmes de ventilation.

D'autres désinfectants chimiques comme l'acide péroxyacétique, le bétapropiolactone (BPL), le bromure de méthyle et le glutaraldéhyde peuvent être utilisés dans des systèmes clos et sous des

conditions contrôlées de température et d'humidité. Une désinfection excellente peut être alors obtenue.

3.1.1.3.1 Le formaldéhyde

Le formaldéhyde est en général le produit chimique de choix pour assurer la désinfection des cabinets sécuritaires (ou hottes à flots laminaires), des incubateurs, des appartements de laboratoires, d'édifices ou de tout autre espace confiné. Il peut être généré à partir de solutions aqueuses (formaline), composées de 37 à 40 % de formaldéhyde, chauffées ou vaporisées. Il peut être aussi émis en chauffant de la paraformaldéhyde, un polymère solide qui contient de 91 à 99 % de formaldéhyde (1).

Le formaldéhyde est une substance toxique qui a une concentration moyenne d'exposition (T.L.V.) de 2 ppm. Des précautions doivent être exercées dans la manipulation, l'emmagasiner et l'utilisation de ce produit. Des expositions répétées sont reconnues pour produire des réactions allergiques chez certains individus (1).

Le formaldéhyde est explosif à des concentrations de 7,0 à 7,3 % par volume d'air. Cependant, ces valeurs ne peuvent être atteintes quand les procédures standards d'utilisation sont suivies (1).

3.1.1.3.2 L'oxyde d'éthylène

Le gaz d'oxyde d'éthylène est mortel pour les microorganismes comme les spores, les virus, les champignons pathogènes, les moisissures et les bactéries thermophiles hautement résistantes (1).

Lors de la stérilisation à l'oxyde d'éthylène, les variables suivantes doivent être contrôlées (1):

- 1) **La température.** Elle affecte la pénétration de l'oxyde d'éthylène à travers la cellule microbienne. L'activité de l'oxyde d'éthylène augmente d'environ 27 fois pour chaque augmentation de 10°C. Les températures normales pour lesquelles ce produit est utilisé varient de 49 à 60°C.

- 2) **La concentration.** La stérilisation avec l'oxyde d'éthylène est réalisée dans des temps plus courts si sa concentration est augmentée. Les concentrations gazeuses de 500 à 1000 mg/litre sont recommandées.
- 3) **L'humidité.** Un taux d'humidité relative de 30 à 60 % est fréquemment employé dans les stérilisateurs à oxyde d'éthylène.
- 4) **Le temps d'exposition.** Dans la majorité des cas, le temps d'exposition appropriée pour atteindre la stérilité est déterminé expérimentalement en utilisant des indicateurs biologiques comme les spores de Baccillus subtilis var. niger.

Tous les vêtements, souliers, masques, rubans gommés ou autres désignés pour avoir des contacts avec la peau, doivent être exposés à l'air libre pour au moins 24 heures après avoir été stérilisés avec de l'oxyde d'éthylène. Si l'air est frais, le temps d'aération est augmenté.

Les mélanges de 3 à 10 % d'oxyde d'éthylène avec l'air sont explosifs. Les mélanges commerciaux contenus dans du fréon ou du CO₂ sont non explosifs et sécuritaires. Référez-vous au document intitulé "l'oxyde d'éthylène dans les établissements de santé au Québec: Problématique et mesures de contrôle" pour éviter les risques à la santé de cette substance (21).

3.1.1.4 Les radiations

Les radiations ionisantes détruisent les microorganismes. L'action germicide des rayons X est connue depuis 80 ans. La radiation gamma est utilisée pour la destruction de microorganismes contenus dans des produits alimentaires et certains produits médicaux. Cependant, les radiations ionisantes ne sont pas des outils pratiques dans un laboratoire.

La radiation ultraviolette (U.V.) est une méthode pratique pour inactiver virus, mycoplasmes, bactéries et champignons. Cette radiation non ionisante est surtout utile pour détruire les microorganismes de l'air ambiant, pour inactiver les microorganismes des surfaces exposées et pour le traitement des produits de composition

instable qui ne peuvent être traités par les méthodes conventionnelles. Cependant, l'utilité de la radiation ultraviolette est limitée par son faible pouvoir de pénétration (1).

3.2 Les vêtements et équipements de protection

Les vêtements et équipements de protection sont conçus pour protéger le travailleur contre les contacts avec des agents infectieux, toxiques, corrosifs, la chaleur excessive, le feu et autres risques physiques. Certains types de vêtements et d'équipements protecteurs sont plus sécuritaires, pratiques et fournissent un meilleur confort.

3.2.1 Les vêtements de protection pour le travail en laboratoire

Les vêtements de protection utilisés dans les laboratoires servent à protéger le porteur, l'expérience et l'environnement contre la contamination. L'utilisateur doit porter les vêtements selon la manière recommandée pour assurer une protection maximale.

Les microorganismes peuvent demeurer en vie sur de la laine ou du coton et être propagés à l'extérieur du laboratoire comme dans d'autres endroits de travail, les maisons, etc. Les vêtements de protection sont utilisés pour éviter cette situation.

Les deux types de vêtements de protection de laboratoire disponibles sur le marché sont les vêtements réutilisables et ceux qui sont jetables. Les vêtements réutilisables, bien qu'initialement plus dispendieux, ont une durée de vie plus grande. Ils doivent être de qualité suffisante, pour leur permettre de résister aux différents lavages et décontaminations. Les vêtements jetables n'ont pas cet attribut. Ils trouvent leur place dans les situations où des visiteurs doivent porter des vêtements de protection ou lorsque les dispositifs de décontamination, comme les autoclaves et les stérilisateurs à oxyde d'éthylène, ne sont pas disponibles.

Quelques-uns des facteurs qui doivent être considérés dans la sélection de vêtements de protection sont le confort, l'impénétrabilité, la qualité des coutures, l'apparence, le type et l'efficacité des fermetures, le rétrécissement (ne doit pas excéder 1 %), les propriétés antistatiques, le style, la couleur et la capacité de supporter plusieurs traitements en autoclave à 250°F. Un tissu composé de 65 % de polyester, 34 % de coton et de 1 % de fibre d'acier inoxydable est recommandé (1).

Deux des matériaux populaires utilisés dans la confection des vêtements à jeter sont les fibres de polyéthylène et de cellulose. Les fibres de polyéthylène sont tricotées et reliées ensemble par de la chaleur sous pression. Le matériel formé possède une bonne solidité, présente une bonne barrière aux mouvements des particules et permet une respiration raisonnable pour le confort. Sa solidité en permet l'utilisation pendant plusieurs jours sous des conditions d'activités raisonnables. Le matériel cellulosique est formé en plaçant les fibres en couches et en les reliant à un réseau de mèches de nylon. Normalement absorbant, le matériel peut, une fois traité, devenir répulsif aux liquides. Sa porosité assure sa respiration. Le polyéthylène assure une bonne protection pour un large spectre de solvants; les fibres de cellulose un peu moins.

Tout vêtement contaminé doit être aspergé de désinfectant et stérilisé à l'autoclave immédiatement.

3.2.2 Les gants, souliers et tabliers

Les gants, souliers et tabliers sont des articles importants de l'équipement de sécurité. Les gants doivent être confortables et d'une longueur suffisante pour assurer la protection des poignets et des avant-bras. En fonction de l'utilisation, la composition et la conception du gant doivent être réalisées de façon à assurer une bonne dextérité, une bonne solidité, une faible perméabilité, de la résistance à la pénétration d'objets pointus et une protection contre le froid et la chaleur.

Les chaussures protectrices sont requises lorsqu'il existe une possibilité de blessures aux pieds. Des souliers avec des garde-protecteurs, capables de résister à la pénétration de liquides

chauds ou corrosifs, sont disponibles sur le marché. Un changement de souliers est bénéfique dans un laboratoire où l'on manipule du matériel microbiologique. Le type et la quantité de contamination par les souliers de rue sont ainsi réduits et la possibilité d'apporter à la maison une contamination microbienne du laboratoire est diminuée.

Les tabliers sont portés en même temps qu'un vêtement de protection pour minimiser la pénétration de liquides ou de particules à travers le vêtement, vers la surface corporelle. Ils sont pratiques dans les laboratoires où l'on manipule des produits chimiques. La meilleure protection est offerte par un tablier long, résistant aux solvants.

3.2.2.1 Les gants

Aucun gant ne peut être efficace dans toutes les situations. Ils peuvent être fabriqués à partir de tissus, de cuir, de plastiques et de caoutchoucs naturels (latex) ou synthétiques (néoprène, etc.). De nouvelles formules de plastiques et de caoutchoucs synthétiques sont continuellement en développement. La recherche en ce domaine évolue selon les demandes sur la capacité protectrice des gants.

Le type de gant sélectionné dépend de son activité spécifique (1). Des travaux délicats requièrent l'utilisation d'un gant à parois minces. Les gants résistants à la chaleur sont nécessaires dans les laboratoires biomédicaux pour la manipulation de la verrerie chaude ou de la glace sèche (exemple: gants en pevlar).

Les gants doivent être portés pour tout travail nécessitant la manipulation de substances toxiques et servent de protection contre les solvants concentrés, acides et produits caustiques.

Ils doivent être de composition qui limite la pénétration et posséder une solidité suffisante pour maintenir l'intégrité de la barrière sur laquelle le stress est appliqué. La décontamination des gants dépend des circonstances. Plusieurs activités demandent que les gants soient stériles avant d'être utilisés. La stérilisation gazeuse à l'oxyde d'éthylène ou au formaldéhyde est employée.

Après traitement, les gants doivent être aérés à 21°C ou plus, pour un minimum de 24 heures afin de prévenir les brûlures de la peau et les irritations provenant des désinfectants résiduels (1).

3.2.2.2 Les souliers

Les souliers munis de gardes ou les bottes protectrices sont portés par les personnes qui manipulent des animaux, des articles lourds et des produits chimiques corrosifs. Les supports à cages, les cages, et les cylindres gazeux sont des exemples d'objets lourds communément transportés dans des laboratoires. Des accidents douloureux et des absences avec perte de temps résultent de blessures aux pieds.

Tous les souliers de sécurité ou d'utilisation spéciale portés dans des aires d'accès contrôlés doivent être identifiés de façon à permettre leur sélection pour leur utilisation dans un endroit donné. Des marques comme de la peinture servent à identifier les souliers portés dans des endroits comportant des risques biologiques.

Dans l'éventualité d'une contamination, les souliers doivent être stérilisés rapidement avec de l'oxyde d'éthylène ou du formaldéhyde. Une décontamination de routine doit être réalisée périodiquement.

L'exposition des souliers aux rayons ultraviolets ou à des désinfectants liquides comme des solutions de 8 % de formaline ou de 2 % de composés phénoliques peut être aussi efficace. Suivant l'utilisation d'un désinfectant liquide ou gazeux, il est nécessaire d'enlever toutes traces du produit après application pour éviter des réactions allergiques ou des brûlures de la peau (1).

3.2.2.3 Les tabliers

La pénétration de liquides toxiques ou de particules à travers les vêtements de laboratoire peut être minimisée en utilisant un long tablier résistant aux solvants. Des tabliers de caoutchouc ou de plastique portés sur des vêtements de protection fournissent une protection additionnelle. Les tabliers sont recommandés quand de

l'équipement est manipulé en présence de vapeur ou d'eau chaude (1).

3.2.3 La protection des yeux et du visage

La protection des yeux et du visage est de première importance, surtout dans les laboratoires. La possibilité d'impact avec des matériaux étrangers liquides et solides avec la tête, le visage et les yeux est omniprésente. Une multitude de visières, cagoules, lunettes et lentilles sont disponibles sur le marché. Leur sélection dépend du matériel avec lequel ils sont construits, de leur confort, de leur compatibilité avec les désinfectants utilisés et de la surface du visage devant être protégée.

3.2.3.1 La protection des yeux

La protection des yeux est primordiale. Les microbiologistes et les virologistes utilisent des produits chimiques qui peuvent causer la cécité s'ils sont éclaboussés dans les yeux. Le personnel doit être informé de ces dangers et des instructions doivent leur être fournies sur l'utilisation de moyens de protection pour les yeux, le visage et les mains. Ces moyens de protection servent aussi à protéger un individu des infections qui peuvent surgir dans l'organisme par voie conjonctivale, dans le cas d'éclaboussures d'organismes pathogènes.

L'utilisation de pratiques simples est suffisante pour éviter des accidents qui résultent en des cas de cécité. Les quantités de produits chimiques caustiques doivent être gardées dans de petits contenants compatibles avec les besoins journaliers; dans l'éventualité d'un bris quelconque, les risques seront minimisés. Le personnel manipulant des produits chimiques explosifs, corrosifs ou caustiques doit toujours porter des protecteurs pour les yeux.

Une règle de base à suivre est que s'il existe un risque pour les yeux dans une opération particulière, les protecteurs doivent être portés en tout temps par toute personne qui entre ou qui travaille dans cet endroit. Un lave-yeux sécuritaire doit aussi être disponible.

Les verres de contact ne fournissent aucune protection pour les yeux (1). Des matériaux étrangers peuvent pénétrer dans l'espace capillaire situé entre la lentille et la cornée. Si le matériel projeté dans l'oeil cause de la douleur, il devient extrêmement difficile d'enlever le verre à cause des spasmes musculaires provoqués par celle-ci. Il est recommandé de ne pas porter de verres de contact aux alentours de produits chimiques, de fumées, de particules ou d'autres produits dangereux. S'ils sont portés, des protecteurs recouvrant complètement les yeux doivent être utilisés.

3.2.3.2 La protection du visage

Pour protéger le visage contre les impacts et les éclaboussures, on utilise des visières ou des cagoules. Elles servent à protéger le visage et le cou des particules et des aérosols dangereux.

Les visières doivent être conçues de façon à couvrir le visage entier. Elles doivent être facilement enlevables dans le cas d'un accident. Les cagoules sont pénibles à porter à moins qu'elles ne soient munies d'un apport d'air extérieur pour les refroidir.

3.2.4 L'équipement de protection respiratoire

Il existe une multitude de masques respiratoires. Ils varient dans leur conception, leur application et leur niveau de protection. Ils se classent en deux catégories. Les appareils de protection respiratoire à purification d'air et à adduction d'air (1, 22).

3.2.4.1 Les appareils de protection respiratoire à purification d'air

Ces appareils contiennent un filtre mécanique et une cartouche chimique. Le filtre mécanique fournit la protection contre les aérosols biologiques, mais ne protège pas contre les gaz ou les vapeurs. La cartouche chimique assure la protection contre les gaz et vapeurs spécifiques, présents jusqu'à des concentrations de

0,1 % par volume. Le type de cartouche à utiliser est fonction de la protection contre les produits chimiques requis.

Les appareils à purification d'air sont rencontrés sous forme de demi-masque ou de masque complet. Le demi-masque ne protège que la bouche et le nez tandis que le masque complet, plus sophistiqué, protège la majeure partie du visage. Ce dernier type est plus efficace pour filtrer les contaminants biologiques et enlever les vapeurs et les gaz présents (1).

L'efficacité de tout appareil à purification d'air dépend de la résistance présentée lors de la respiration, de leur confort lorsqu'il est porté pour de longues périodes, de la capacité du filtre à capter les particules d'une dimension donnée, de leur conception et de leur durabilité. Pour obtenir une bonne protection de ces masques, le visage doit être habituellement bien rasé.

3.2.4.2 Les appareils de protection respiratoire à adduction d'air

Ce type d'appareil se divise en 3 catégories:

- 1.- les appareils à adduction d'air comprimé;
- 2.- les cagoules à adduction d'air;
- 3.- les appareils de protection respiratoire autonome.

3.2.4.2.1 Les appareils à adduction d'air comprimé

Ce type fournit l'air d'une source filtrée à un masque ou demi-masque. Ces respirateurs sont utiles quand une protection respiratoire maximale est requise. Ce système est cependant limité. Si la ligne d'air fait défaut, l'utilisateur doit quitter le milieu de travail immédiatement, car le système central n'a qu'une réserve d'air de 30 minutes. Un autre désavantage est la limite occasionnée par la longueur du tuyau.

Il existe 3 types d'appareil à adduction d'air comprimé: ceux qui fonctionnent à la demande, à la demande à pression positive et à la demande à débit continu, où l'arrivée d'air est continue (22).

Les respirateurs qui fonctionnent à la demande sont utilisés là où des cylindres à air comprimé sont disponibles. Ce type d'appareil n'est pas recommandé dans un laboratoire à cause de la pression négative créée lors de l'inhalation.

Les respirateurs qui fonctionnent à la demande à pression fournissent une pression positive constante en n'utilisant pas plus d'air que les respirateurs à débit continu. Ceux qui fonctionnent sous le principe du débit continu sont utilisés lorsqu'une grande quantité d'air fournie par un compresseur est disponible (1).

3.2.4.2.2 Les cagoules à adduction d'air

Ces appareils fonctionnent indépendamment de l'atmosphère environnante puisque le masque possède sa propre source d'air. Ils sont employés pour de courtes périodes de 11 à 30 minutes. Ils ne sont pas beaucoup utilisés dans les laboratoires, sauf dans les cas d'urgence (1).

3.2.4.3 La décontamination des appareils respiratoires

L'oxyde d'éthylène doit être utilisé pour décontaminer les masques qui ont servi dans des endroits où une contamination a été déclarée. La partie faciale est par la suite aérée 24 heures pour éviter des brûlures ou des irritations à l'utilisateur.

Ce processus de décontamination entraîne des effets nocifs sur les filtres au charbon. Toute cartouche qui contient cet adsorbant doit être remplacée. L'autoclave ne doit jamais être employé (1).

Théoriquement, à la fin de chaque jour d'utilisation, les appareils de protection respiratoire sont lavés avec un désinfectant chimique. Après lavage, l'équipement est rincé à l'eau chaude et laissé à l'air libre pour au moins 30 minutes. Suivant cette procédure, les demimasques sont entreposés dans des sacs de plastique et les masques complets ou les autres types de respirateurs dans des cartons ou leur mallette spécialement fabriquée à cette fin (1).

3.3 Les procédures d'entretien

Dans le but de réduire les risques à la santé pour un travail qui comporte des risques biologiques, des procédures de maintenance et d'entretien doivent être bien définies et programmées.

Les objectifs d'un programme d'entretien dans, un laboratoire biologique, par exemple, sont:

- 1) de fournir une aire de travail propre pour l'accomplissement d'un programme de recherche;
- 2) de fournir une aire de travail démunie de risques biologiques;
- 3) de prévenir l'accumulation de matériel provenant d'expériences antérieures;
- 4) de prévenir la création d'aérosols nocifs provenant des procédures d'entretien utilisées.

La première fonction d'un programme d'entretien est de prévenir l'accumulation de déchets qui peuvent:

- 1) être le refuge de microorganismes constituant un risque potentiel à l'intégrité des systèmes biologiques sous études;
- 2) rehausser la survie de microorganismes libérés par mégarde dans les procédures environnementales;
- 3) retarder la pénétration des désinfectants;
- 4) être transférables d'un endroit à l'autre sur des vêtements;
- 5) avec une croissance suffisante, devenir un risque biologique;
- 6) causer une sensibilisation allergène chez le personnel.

3.4 La ventilation

Il est difficile de parler des méthodes de contrôle des microorganismes rencontrés dans le milieu de travail sans tout d'abord décrire les problèmes de contamination microbienne dans les systèmes de ventilation des édifices. En voici la description.

3.4.1 Les risques respiratoires microbiens associés avec les systèmes d'air climatisé et de ventilation

Les systèmes de ventilation, de chauffage et d'air climatisé, en remplissant leur première fonction qui est de distribuer de l'air chaud ou froid à travers les édifices, sont aussi des moyens efficaces pour propager les contaminants présents dans les systèmes dans l'air ambiant. Si le contaminant est un microbe pathogène, des maladies respiratoires chez les occupants peuvent être déclarées.

L'apparition des maladies respiratoires associées avec les systèmes de ventilation peuvent être classées dans (23):

- 1) **Les allergies.** Développement d'hypersensibilité à de la matière respirable d'origine microbienne (ex: fièvre des humidificateurs).
- 2) **Les infections.** Une croissance invasive des microorganismes dans les conduits respiratoires (ex: la maladie du légionnaire).

Les causes de ces maladies sont des microorganismes qui peuvent se multiplier dans l'eau des humidificateurs ou des refroidisseurs d'air et qui sont distribués par le système de ventilation dans les endroits occupés. Le facteur commun dans tous les cas d'allergies ou d'infections est l'eau contaminée.

Ces indispositions d'origine immunologique sont reconnues depuis 1950. Dans la majorité des cas, une relation a été observée entre le démarrage du système de chauffage, de ventilation et de climatisation et l'apparition des symptômes. Ces déclenchements arrivent surtout dans les mois d'hiver, à cause de l'augmentation

de la recirculation de l'air dans le but de réduire les pertes de chaleur.

Les effets sur la santé des occupants se présentent sous forme de pneumonie hypersensible (ou alvéolite allergique extrinsèque), de fièvre d'humidificateur, de syndrome d'édifices hermétiques et de conjonctivite nasale. Les symptômes rencontrés sont des maux de tête, de la fatigue, des douleurs musculaires, de la fièvre, des refroidissements, de l'irritation des membranes (yeux, nez et gorge), de l'érythème, de la toux, de l'oppression de poitrine, de l'hypersensibilité et des allergies (asthme) (23). Ces symptômes qui apparaissent pendant les jours consécutifs de travail disparaissent les fins de semaine (maladie du Lundi) et sont généralement peu sévères; cependant, s'ils ne sont pas reconnus, ils peuvent progresser vers des dommages pulmonaires irréversibles.

Des évidences assez fortes indiquent que les agents étiologiques impliqués sont des actinomycètes thermophiles, des améoba non-pathogènes, des levures, des moisissures, des protozoaires et des toxines (23).

Il a été suggéré que les décomptes suivants soient utilisés comme indicateurs d'un environnement nécessitant une évaluation plus approfondie (24):

- 1 x 10³ colonies par mètre cube d'air
- 1 x 10⁶ champignons par gramme de poussières
- 1 x 10⁵ bactéries ou champignons par millilitre d'eau stagnante

Des niveaux au dessus de ceux mentionnés n'impliquent pas que les conditions de travail sont dangereuses. De la même façon, aucun de ces niveaux n'est basé sur la nature des microorganismes présents et ne pourraient être utile pour prévoir des dangers d'atteinte à la santé et surtout pour les cas d'allergies. Ils ne font que donner des indications sur la contamination des systèmes de ventilation.

Le comité Américain sur les bioaérosols de l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) a produit un protocole pour faire l'évaluation et l'échantillonnage des bioaérosols saprophytes rencontrés à l'intérieur des édifices (18). Il est recommandé d'utiliser ce protocole pour évaluer la microflore des édifices.

3.4.2 Mesures préventives

Très peu d'informations sont disponibles sur la prévention et les remèdes qui peuvent être efficaces dans la réduction de la contamination microbienne associée aux édifices à bureaux. Les mesures préventives suivantes ont pour but de réduire la contamination microbienne et les maladies associées aux édifices à bureaux. Ces mesures sont (24):

- 1) de prévenir les incursions d'humidité dans les espaces occupés et dans le système HVAC (Building Heating, Ventilation and Air Conditioned System) (Système de chauffage, de ventilation et de climatisation d'édifice);
- 2) d'enlever l'eau stagnante et les dépôts gluants des systèmes mécaniques des édifices;
- 3) d'utiliser la vapeur comme source d'humidité dans les humidificateurs;
- 4) d'éliminer l'utilisation de vaporisateur d'eau comme constituant des systèmes HVAC;
- 5) de garder l'humidité relative sous 70 %;
- 6) d'utiliser des filtres avec un taux d'efficacité égal à 50 - 70 % dans le système d'unité de manipulation d'air (AHV);
- 7) de jeter tous les équipements endommagés par les microorganismes;

- 8) d'initier un programme d'entretien d'envergure de tous les systèmes de ventilation, de chauffage et de climatisation de l'édifice;
- 9) nettoyer et désinfecter les gaines de ventilation.

Dans le domaine industriel comme les hôpitaux, certaines règles diminuent les risques d'épidémie. Ces règles sont (25):

- les tours de climatisation sont moins sujettes à une forte contamination si elles sont au sol plutôt que sur le toit;
- les valves de sécurité entre ces tours et le reste du système d'eau sont nécessaires;
- en particulier l'été, le nettoyage de ces tours devrait être obligatoire au moins à tous les mois;
- lorsqu'il y a preuve, dans le domaine hospitalier, d'épidémie en cours, l'eau est hyperchlorée pour une courte période et la température de l'eau chaude montée à 70°C pour 24 ou 48 heures.

3.5 Mesures d'hygiène personnelle

3.5.1 Le lavage des mains

Le lavage des mains est la mesure la plus importante pour prévenir la transmission de l'infection. Il est indiqué chaque fois qu'il y a eu contact avec une source infectieuse. Le lavage des mains avec de l'eau et du savon suffit pour éliminer les microbes qu'on acquiert après un simple contact avec l'entourage et l'environnement. Cependant, lorsqu'il s'agit par exemple de personnes porteuses de microorganismes plus dangereux, l'usage d'un savon antiseptique est préconisé (26).

BIBLIOGRAPHIE

- 1- AIHA, Biohazards Committee 1985. Biohazards Reference Manual. American Industrial Hygiene Association, 160 pages.
- 2- CSST, 1985. Guide série 3. Attention, danger! Contaminants et matières dangereuses. Contaminants microbiologiques. 39 pages.
- 3- PRICE, A.T. et al. Biological Hazards, the Hidden Threat. Nelson, London, 1981, 89 pages.
- 4- Groupe de travail sur les champignons dans l'air des maisons. Signification de la présence des champignons dans l'air à l'intérieur des édifices. Santé et bien-être social, Canada, mars 1986, 17 pages.
- 5- PELCZAR, M.J. and REID, R.D. Microbiology. McGraw-Hill, Toronto, 1972.
- 6- U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1977. Public Health Service - Center for Disease Control. Occupational Diseases. A Guide to their Recognition. National Institute for Occupational Safety and Health.
- 7- DEADMAN, J.-E., 1985. Aérosols, dans Hygiène du travail, édition le Griffon d'argile inc., Canada, pp. 527-555.
- 8- Projet de loi 42. Loi sur les accidents du travail et les maladies professionnelles, 1985, chapitre 6, Éditeur officiel du Québec.
- 9- PHILLIPS, G.B. and RUNKLE, R.S., 1973. Microbiological Air Sampling in Biomedical Applications of Laminar Airflow. Cleveland, OHIO, CRC Press, pp. 39-50.
- 10- RAYNOR, G.S., 1980. Sampling Techniques. Aerobiology, the Ecological Systems Approach. Danden Hutchison and Riss Inc., Stroudsburg, P.A. Distributed by Academic Press, New York, chap. 5.

- 11- CHATIGNY, M.A., 1983. Sampling Airborne Microorganisms in: Air Sampling Instruments for Evaluation of Atmospheric Contaminants. 6th ed. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. pp. E1 à E9.
- 12- MAY, K.R. and HARPER, G.J., 1957. The Efficiency of Various Liquid Impinger Samplers in Bacterial Aerosol. Brit. J. Industrial Medicine, 1957, 14, pp. 287-297.
- 13- FANNIN, K.F., 1980. Methods for Detecting Viable Microbial Aerosols in Wastewater Aerosols and Disease. Proceedings of a Symposium. Edited by H. Pakren and W. Takubowski, EPA Cincinnati. OHIO, 45268.
- 14- BRACHMAN, P.S., EHRLICH, R. EICHENWALD, H.F., CABULI, V.J., KETHLEY, I.W., MADIN, S.H. MALTMAN, J.R. MIDDLEBROOK, J.P., MORTON, I.H., SILVER, I.H. ET WOLF, E.K., 1964. Standard Sampler for the Assay of Airborne Microorganisms. Science, 144 - 1295.
- 15- ANDERSEN, A.A. 1958. New Sampler for the Collection, Sizing and Enumeration of Viable Airborne Particules. J. Bacteriol. Vol. 76 pp. 471-484.
- 16- DELMORE, R.P. et W.N. THOMPSON, 1981. A Comparison of Air Sampler Efficiencies. Paper presented at the annual meeting of the Society for Industrial Microbiology, Flagstaff. Arizona.
- 17- KWAN, J.K. et BIERMAN, A.H., 1987. Study of the Performance of an Air Sampler for Biological Agents. Lawrence Livermore National Laboratory, California. Poster donné au congrès de l'American Industrial Hygiene Conference.
- 18- BURGE, H.A. et al. Bioaerosols. Guidelines for Assessment and Sampling of Saprophytic Bioaerosols in the indoor Environment. Appl. Ind. Hyg. 1987 (2) 5: R10 - R16.

- 19- MORRING, K.L., SORENSON, W.G. and M.D. ATTFIELD. Sampling for Airborne Fungi. A statistical comparison of Media. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 1983: 44(9): 662-664.
- 20- BLOCK, S.S. Disinfection, Sterilization and Preservation. Third edition, Lea and Febiger, Philadelphia 1983.
- 21- L'Association pour la santé et la sécurité du travail, secteur affaires sociales et l'Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec. L'oxyde d'éthylène dans les établissements de santé au Québec. Problématique et mesures de contrôle. Notes et rapports scientifiques et techniques. Étude E-009, 1984.
- 22- Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec. 1983. Guide de sélection des appareils de protection respiratoire.
- 23- BRIEF, R.S., BERNATH, T. 1988. Indoor Pollution. Guidelines for Prevention and Control of Microbiological Respiratory Hazards Association with Air Conditioning and Ventilation Systems. Appl. Ind. Hyg. (3): 5 - 10.
- 24- MOREY, P.R., HODGSON, M.J., Sorenson, W.G., Kullman, G.J., Rhodes, W.W., Visvesvara, G.S., 1984. Environmental Studies in Moldy Office Buildings: Biological Agents, Sources and Preventive Measures. Ann. Am. Conf. Gov. Ind. Hyg., Vol. 10, pp. 21-35.
- 25- PHANEUF, D. 1986. Le mal du légionnaire à l'usine. Travail et santé, été, pp. 5-6.
- 26- Hôtel-Dieu de Montréal - Hôpital St-Luc. 1985. Maladies infectieuses. Guide des techniques d'isolement et des mesures préventives en milieu hospitalier. Bibliothèque nationale du Québec. 60 pages.