

---

---

**Air intérieur —**

Partie 17:

**Détection et dénombrement des  
moisissures — Méthode par culture**

*Indoor air —*

*Part 17: Detection and enumeration of moulds — Culture-based method*  
**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 16000-17:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 16000-17:2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2008

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction .....	vii
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Termes et définitions</b> .....	1
4 <b>Principe</b> .....	3
5 <b>Appareillage</b> .....	3
6 <b>Milieux de culture et diluants</b> .....	3
6.1 <b>Gélose dichloran-glycérol 18 % (Gélose DG18)</b> .....	4
6.2 <b>Gélose à l'extrait de malt</b> .....	4
6.3 <b>Gélose dextrosée à la pomme de terre</b> .....	5
6.4 <b>Solution saline</b> .....	5
6.5 <b>Solution saline au polysorbate 80</b> .....	5
7 <b>Mode opératoire</b> .....	6
7.1 <b>Généralités</b> .....	6
7.2 <b>Traitement des filtres</b> .....	6
7.3 <b>Incubation</b> .....	7
7.4 <b>Examen et dénombrement</b> .....	7
7.5 <b>Identification des espèces de moisissures</b> .....	8
7.6 <b>Calcul et expression des résultats</b> .....	9
8 <b>Rapport d'essai</b> .....	12
<b>Annexe A (informative) Caractéristiques spécifiques des spores de moisissures</b> .....	13
<b>Annexe B (informative) Échange d'échantillons pour validation de la méthode de culture</b> .....	16
<b>Bibliographie</b> .....	21

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 16000-17 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 146, *Qualité de l'air*, sous-comité SC 6, *Air intérieur*.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

L'ISO 16000 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Air intérieur*:

- *Partie 1: Aspects généraux de la stratégie d'échantillonnage*
- *Partie 2: Stratégie d'échantillonnage du formaldéhyde*
- *Partie 3: Dosage du formaldéhyde et d'autres composés carbonylés — Méthode par échantillonnage actif*
- *Partie 4: Dosage du formaldéhyde — Méthode par échantillonnage diffusif*
- *Partie 5: Stratégie d'échantillonnage pour les composés organiques volatils (COV)*
- *Partie 6: Dosage des composés organiques volatils dans l'air intérieur des locaux et enceintes d'essai par échantillonnage actif sur le sorbant Tenax TA®, désorption thermique et chromatographie en phase gazeuse utilisant MS/FID*
- *Partie 7: Stratégie d'échantillonnage pour la détermination des concentrations en fibres d'amiante en suspension dans l'air*
- *Partie 8: Détermination des âges moyens locaux de l'air dans des bâtiments pour caractériser les conditions de ventilation*
- *Partie 9: Dosage de l'émission de composés organiques volatils de produits de construction et d'objets d'équipement — Méthode de la chambre d'essai d'émission*
- *Partie 10: Dosage de l'émission de composés organiques volatils de produits de construction et d'objets d'équipement — Méthode de la cellule d'essai d'émission*

- *Partie 11: Dosage de l'émission de composés organiques volatils de produits de construction et d'objets d'équipement — Échantillonnage, conservation des échantillons et préparation d'échantillons pour essai*
- *Partie 12: Stratégie d'échantillonnage des polychlorobiphényles (PCB), des polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD), des polychlorodibenzofuranes (PCDF) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)*
- *Partie 13: Dosage des polychlorobiphényles (PCB) de type dioxine et des polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD)/polychlorodibenzofuranes (PCDF) totaux (en phase gazeuse et en phase particulaire) — Collecte sur des filtres adsorbants*
- *Partie 14: Dosage des polychlorobiphényles (PCB) de type dioxine et des polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD)/polychlorodibenzofuranes (PCDF) totaux (en phase gazeuse et en phase particulaire) — Extraction, purification et analyse par chromatographie en phase gazeuse haute résolution et spectrométrie de masse*
- *Partie 15: Stratégie d'échantillonnage du dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>)*
- *Partie 16: Détection et dénombrement de moisissures — Échantillonnage par filtration*
- *Partie 17: Détection et dénombrement de moisissures — Méthode par culture*
- *Partie 23: Essai de performance pour l'évaluation de la réduction des concentrations en formaldéhyde par des matériaux de construction sorptifs*
- *Partie 24: Essai de performance pour l'évaluation de la réduction des concentrations en composés organiques volatils et en composés carbonyles sans formaldéhyde, par des matériaux de construction sorptifs*

Les parties suivantes sont en cours de préparation:

- *Partie 18: Détection et dénombrement de moisissures — Échantillonnage par impaction*
- *Partie 19: Stratégie d'échantillonnage des moisissures*
- *Partie 25: Détermination de l'émission de composés organiques semi-volatiles des produits de construction — Méthode de la micro chambre*
- *Partie 28: Évaluation sensorielle des émissions des matériaux et des produits de construction*

Les parties suivantes sont prévues:

- *Partie 20: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage à partir de poussières domestiques*
- *Partie 21: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage à partir de matériaux*
- *Partie 22: Détection et dénombrement des moisissures — Méthodes moléculaires*
- *Partie 27: Méthode normalisée pour l'analyse quantitative des fibres d'amiante dans la poussière*

En outre,

- *l'ISO 12219-1 (en préparation), Air intérieur — Véhicules routiers — Partie 1: Enceinte d'essai d'un véhicule complet — Spécification et méthode de détermination des composés organiques volatils dans les habitacles de voitures*

- l'ISO 16017-1, *Air intérieur, air ambiant et air des lieux de travail — Échantillonnage et analyse des composés organiques volatils par tube à adsorption/désorption thermique/chromatographie en phase gazeuse sur capillaire — Partie 1: Échantillonnage par pompage*
- l'ISO 16017-2, *Air intérieur, air ambiant et air des lieux de travail — Échantillonnage et analyse des composés organiques volatils par tube à adsorption/désorption thermique/chromatographie en phase gazeuse sur capillaire — Partie 2: Échantillonnage par diffusion*

traitent plus particulièrement des mesurages liés aux composés organiques volatils (COV).

## **iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)**

[ISO 16000-17:2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>

## Introduction

Le terme «moisissure» est le nom commun des champignons filamenteux appartenant à différents groupes taxonomiques [Zygomycètes, Ascomycètes (Ascomycota) et Deutéromycètes]. Ils forment un mycélium (hyphes) et des spores, à savoir des conidiospores (conidies), des sporangiospores ou des ascospores, qui les rendent visibles à l'œil nu. La plupart des spores mesurent de 2 µm à 10 µm, certaines atteignent 30 µm et, dans de rares cas, certaines peuvent mesurer jusqu'à 100 µm. Les spores de certains genres de moisissure sont de petite taille et se mettent facilement en suspension dans l'air (par exemple, *Aspergillus*, *Penicillium*) tandis que d'autres sont plus grandes et/ou intégrées à une matrice visqueuse (*Stachybotrys*, *Fusarium*), ce qui les rend moins mobiles.

Les spores de moisissures sont disséminées un peu partout dans l'environnement extérieur et se retrouvent ainsi en concentration variable à l'intérieur des bâtiments. Il convient toutefois de considérer la croissance des moisissures dans les environnements intérieurs comme un problème d'hygiène. En effet, des études épidémiologiques ont montré que l'humidité et/ou la croissance des moisissures dans les logements sont étroitement liées aux problèmes de santé affectant les habitants.

L'existence de méthodes normalisées pour l'échantillonnage, la détection et le dénombrement des moisissures, y compris des normes relatives à des stratégies d'échantillonnage, est importante pour l'évaluation comparative des problèmes liés aux moisissures à l'intérieur des bâtiments. Avant de procéder à tout mesurage, une stratégie d'échantillonnage est nécessaire.

Le mode opératoire spécifié dans la présente partie de l'ISO 16000 repose sur les guides VDI 4253-2<sup>[5]</sup> et VDI 4300-10<sup>[6]</sup>.

[ISO 16000-17:2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 16000-17:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>

## Air intérieur —

### Partie 17:

## Détection et dénombrement des moisissures — Méthode par culture

**AVERTISSEMENT** — La présente partie de l'ISO 16000 peut impliquer l'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. La présente partie de l'ISO 16000 n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de la présente partie de l'ISO 16000 d'établir des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires, avant utilisation.

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 16000 spécifie une méthode de détection et de dénombrement des moisissures par culture après échantillonnage par impaction, selon l'ISO 16000-18 ou par filtration, selon l'ISO 16000-16. Elle convient également à la culture des moisissures à partir de matières en suspension ou de culture directe sur boîte de Petri.

### 2 Références normatives

ISO 16000-17:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-427924c5067/iso-16000-17:2008>

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 8199, *Qualité de l'eau — Lignes directrices générales pour le dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture*

ISO 16000-16, *Air intérieur — Partie 16: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage par filtration*

ISO 16000-18, *Air intérieur — Partie 18: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage par impaction*<sup>1)</sup>

### 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

#### 3.1

##### **champignon filamenteux**

champignon poussant sous la forme de filaments de cellules connus sous le nom de hyphes

NOTE 1 Les hyphes agrégées en faisceaux sont appelées mycélia.

NOTE 2 Le terme «champignon filamenteux» distingue les champignons à hyphes des levures.

[ISO 16000-16:2008]

1) À publier.

**3.2**  
**filtration**  
prélèvement de particules en suspension dans un gaz ou dans un liquide par passage à travers un milieu poreux

[EN 13098:2000 <sup>[4]</sup>]

NOTE Dans la présente partie de l'ISO 16000, la filtration désigne la séparation des micro-organismes ou des moisissures d'un volume défini d'air au moyen de filtres.

**3.3**  
**méthode indirecte**  
(qualité de l'air) remise en suspension des micro-organismes sédimentés suivie de la mise en culture des aliquotes sur un milieu de culture adapté, de l'incubation et du dénombrement des colonies se développant dans les conditions choisies

**3.4**  
**unité formant colonie**  
**ufc**  
unité exprimant le nombre de micro-organismes cultivables

[EN 13098:2000 <sup>[4]</sup>]

NOTE 1 Une unité formant colonie peut provenir d'un seul micro-organisme, d'agrégats de nombreux micro-organismes ou d'un ou plusieurs micro-organismes liés à une particule.

NOTE 2 Le nombre de colonies formées dépend des conditions de culture.

**3.5**  
**culture**  
(qualité de l'air) croissance de micro-organismes sur milieux de culture

[ISO 16000-16:2008]

ITeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>

**3.6**  
**micro-organisme**  
toute entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se répliquer ou de transférer son matériel génétique ou entité ayant perdu ces propriétés

[EN 13098:2000 <sup>[4]</sup>]

**3.7**  
**indicateur d'humidité**  
(qualité de l'air) moisissure en environnements extérieurs dont la croissance est favorisée par une humidité relativement élevée et indiquant donc l'existence de problèmes d'humidité

**3.8**  
**colonie secondaire**  
colonie qui ne provient pas du prélèvement initial de spores en suspension dans l'air mais de spores libérées par une colonie se développant sur les boîtes de gélose

**3.9**  
**moisissure**  
(qualité de l'air) champignon filamenteux appartenant à différents groupes taxonomiques, à savoir Zygomycètes, Ascomycètes (Ascomycota) et Deutéromycètes (champignons imparfaits)

NOTE Les moisissures forment différents types de spores selon le groupe taxonomique auquel elles appartiennent, à savoir des conidiospores (conidies), des sporangiospores ou des ascospores.

[ISO 16000-16:2008]

## 4 Principe

Des boîtes de gélose (gélose DG18 et gélose à l'extrait de malt ou gélose dextrosée à la pomme de terre) obtenues par échantillonnage par impaction sont directement incubées à  $(25 \pm 3) ^\circ\text{C}$ .

Les filtres issus du prélèvement par filtration sont remis en suspension en solution saline (à 0,9 % en fraction massique de NaCl) avec 0,01 % de polysorbate 80 <sup>2)</sup>. Des dilutions décimales de la suspension sont préparées et les aliquotes étalées sur gélose DG18 et sur gélose à l'extrait de malt ou sur gélose dextrosée à la pomme de terre (méthode indirecte). Les boîtes de gélose sont incubées à  $(25 \pm 3) ^\circ\text{C}$ . Pour des applications spécifiques, il est possible d'incuber les boîtes à  $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$  (par exemple, pour *Aspergillus* spp., thermotolérant) ou à  $(45 \pm 2) ^\circ\text{C}$  (*Aspergillus fumigatus*).

Après incubation, les colonies de moisissures sont identifiées et dénombrées. Le niveau d'identification dépend de l'objectif de l'étude.

## 5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et, en particulier, ce qui suit.

- 5.1 **Incubateur**, sans vibrations, thermostaté à  $(25 \pm 3) ^\circ\text{C}$ .
- 5.2 **Incubateur**, sans vibrations, thermostaté à  $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ .
- 5.3 **Incubateur**, sans vibrations, thermostaté à  $(45 \pm 2) ^\circ\text{C}$ .
- 5.4 **Réfrigérateur**, thermostaté à  $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ .
- 5.5 **pH-mètre**, d'une précision de  $\pm 0,1$  unité de pH.
- 5.6 **Enceinte de sécurité microbiologique, de classe II**, destinée à la protection de l'utilisateur et des produits.  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/334dde4e-b1c2-42e4-8aa3-d2732deb0851/iso-16000-17-2008>
- 5.7 **Bain-marie**, pouvant être maintenu entre  $35 ^\circ\text{C}$  et  $40 ^\circ\text{C}$  avec agitateur.
- 5.8 **Agitateur secoueur pour tubes à essai**, par exemple agitateur Vortex <sup>3)</sup>.
- 5.9 **Boîtes de Petri**, aérées, stériles, d'environ 90 mm de diamètre.
- 5.10 **Autoclave**, capable de fonctionner à  $(115 \pm 3) ^\circ\text{C}$  et à  $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$ .

## 6 Milieux de culture et diluants

Utiliser des réactifs de qualité analytique reconnue, sauf si des réactifs de qualité différente ont démontré qu'ils donnent les mêmes résultats, et utiliser uniquement de l'eau distillée ou déionisée ou de l'eau de pureté équivalente.

Il est conseillé d'utiliser des substrats déshydratés disponibles dans le commerce, à condition qu'ils soient conformes à la description donnée. Ils doivent être préparés conformément aux instructions du fabricant.

2) Le polysorbate 80 est l'équivalent du monooléate de polyoxyéthylène sorbitane ou monooléate de polyéthylène glycol sorbitane. Le Tween est un exemple de produit adapté disponible dans le commerce. Cette information est donnée à titre indicatif aux utilisateurs de la présente partie de l'ISO 16000 et ne constitue en aucun cas une recommandation de ce produit par l'ISO.

3) Exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 16000 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

**6.1 Gélose dichloran-glycérol 18 % (Gélose DG18)**

Les composants sont listés dans le Tableau 1.

**Tableau 1 — Composition de la gélose dichloran-glycérol 18 % (Gélose DG 18)**

Composant	Quantité
Peptone <sup>4)</sup>	5,0 g
Glucose	10,0 g
Dihydrogénophosphate de potassium (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	0,5 g
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline) à 0,2 % en fraction volumique dans l'éthanol	1,0 ml <sup>a</sup>
Chloramphénicol	0,1 g
Glycérol	220 g <sup>b</sup>
Gélose	15,0 g
Eau	1 000 ml
<sup>a</sup> Concentration finale du milieu: 0,002 g/l.	
<sup>b</sup> 18 % en fraction massique de la masse finale d'environ 1 220 g, soit environ 220 g.	

Ajouter les ingrédients en quantité minoritaire et la gélose dans environ 800 ml d'eau et dissoudre par ébullition. Compléter à 1 000 ml et ajouter 220 g de glycérol. Stériliser dans un autoclave à (121 ± 3) °C pendant (15 ± 1) min. Après stérilisation, le pH doit être de 5,6 ± 0,2 à 25 °C. Répartir des aliquotes d'environ 20 ml dans des boîtes de Petri.

Placées dans des sachets, les boîtes de gélose DG18 se conservent une semaine à (5 ± 3) °C et à l'obscurité.

La gélose DG18 présente une activité de l'eau réduite définie. Veiller à ne pas réduire davantage l'activité de l'eau par dessiccation au risque d'empêcher la croissance des champignons sur cette gélose.

NOTE La gélose DG18 convient à la détection d'un large spectre de champignons xérophiles (c'est-à-dire qui préfèrent la sécheresse). Le glycérol réduit l'activité de l'eau  $a_{H_2O}$  à 0,95. Le chloramphénicol inhibe les bactéries, en particulier les bactéries Gram négatives. Le dichloran inhibe la prolifération des colonies des moisissures à croissance rapide et empêche ainsi l'envahissement par les colonies à croissance lente.

**6.2 Gélose à l'extrait de malt**

Les composants sont listés dans le Tableau 2.

**Tableau 2 — Composition de la gélose à l'extrait de malt**

Composant	Quantité
Extrait de malt	30,0 g
Peptone de soja	3,0 g
Gélose	15,0 g
Eau	1 000 ml

NOTE L'ajout de chloramphénicol (à 0,05 g/l) peut être nécessaire si les échantillons contiennent de fortes concentrations de bactéries. Ce n'est généralement pas le cas des échantillons d'air intérieur mais les bactéries peuvent être présentes en grand nombre dans les échantillons de matériaux et de poussières.

4) Différentes peptones sont utilisées par différents fabricants (par exemple, la peptone de caséine, la peptone mycologique). Cela n'a habituellement aucune influence sur les résultats quantitatifs des mesurages, mais peut avoir une influence sur l'apparence des colonies. Des contrôles positifs de comparaison de rétablissement et d'apparence morphologique des colonies sont, par conséquent, importants.