
Air intérieur —

Partie 18:
**Détection et dénombrement des
moisissures — Échantillonnage par
impaction**

iTeh *Indoor air —* STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai) *Part 18: Detection and enumeration of moulds — Sampling by
impaction*

ISO 16000-18:2011

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/61caf35c-29c0-48df-aecc-
de62f5748294/iso-16000-18-2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/61caf35c-29c0-48df-aecc-de62f5748294/iso-16000-18-2011)



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 16000-18:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/61caf35c-29c0-48df-aecc-de62f5748294/iso-16000-18-2011>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2011

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
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe.....	3
5 Appareillage et matériaux.....	3
5.1 Dispositif d'échantillonnage.....	3
5.2 Équipement de préparation des boîtes de gélose	4
5.3 Équipement d'échantillonnage	4
6 Milieux de culture et réactifs	4
6.1 Généralités	4
6.2 Gélose dichloran-glycérol 18 % (DG18)	4
6.3 Gélose à l'extrait de malt	5
6.4 Gélose dextrosée à la pomme de terre.....	5
7 Mode opératoire de mesurage	6
7.1 Préparation en vue de l'échantillonnage.....	6
7.2 Échantillonnage.....	7
7.3 Période d'échantillonnage et volume d'échantillonnage	8
7.4 Transport et stockage.....	8
8 Efficacité d'échantillonnage et limites de la méthode.....	8
9 Étalonnage du débit, vérification du fonctionnement et entretien du système d'échantillonnage	9
9.1 Étalonnage du débit	9
9.2 Vérification du fonctionnement et entretien du système d'échantillonnage	9
10 Assurance qualité.....	9
11 Protocole d'échantillonnage	9
12 Caractéristiques de performance	10
Annexe A (informative) Description technique d'un impacteur à crible à un étage approprié.....	11
Annexe B (informative) Protocole d'échantillonnage.....	12
Annexe C (informative) Essais interlaboratoires en vue de valider la méthode	13
Bibliographie.....	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 16000-18 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 146, *Qualité de l'air*, sous-comité SC 6, *Air intérieur*.

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 dans l'air intérieur et dans l'air des chambres d'essai — 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 chambres d'essai par échantillonnage actif sur le sorbant Tenax TA[®], désorption thermique et chromatographie en phase gazeuse utilisant MS ou 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 (NO₂)*
- *Partie 16: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage par filtration*
- *Partie 17: Détection et dénombrement des moisissures — Méthode par culture*
- *Partie 18: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage par impaction*
- *Partie 19: Stratégie d'échantillonnage des moisissures*
- *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 (sauf formaldéhyde) par des matériaux de construction sorptifs*
- *Partie 25: Dosage de l'émission de composés organiques semi-volatils des produits de construction — Méthode de la micro-chambre*
- *Partie 26: Stratégie d'échantillonnage du dioxyde de carbone (CO₂)*
- *Partie 28: Détermination des émissions d'odeurs des produits de construction au moyen de chambres d'essai*

Les parties suivantes sont en cours d'élaboration:

- *Partie 21: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage à partir de matériaux*
- *Partie 27: Détermination de la poussière fibreuse déposée sur les surfaces par microscopie électronique à balayage (MEB) (méthode directe)*
- *Partie 29: Méthodes d'essai pour détecteurs de composés organiques volatils (COV)*
- *Partie 30: Essai sensoriel de l'air intérieur*
- *Partie 31: Mesurage des ignifugeants basés sur des composés organophosphorés — Ester d'acide phosphorique*
- *Partie 32: Investigation de polluants et autres facteurs nocifs dans les constructions — Inspections*

Introduction

Le terme «moisissure» est le nom commun des champignons filamenteux appartenant à différents groupes taxonomiques (Ascomycètes, Zygomycètes et leurs états anamorphiques antérieurement connus sous la dénomination de deutéromycètes ou champignons imparfaits). Ils forment un mycélium et des spores qui les rendent visibles à l'œil nu. La plupart des spores mesurent de 2 µm à 10 µm, certaines atteignant 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 ou intégrées à une matrice visqueuse (par exemple *Stachybotrys*, *Fusarium*), ce qui les rend moins mobiles.

Les spores de moisissures sont largement distribuées dans l'environnement extérieur et se retrouvent ainsi en concentration variable dans les environnements intérieurs. Il convient toutefois de considérer la croissance des moisissures dans les environnements intérieurs comme un problème d'hygiène, étant donné que des études épidémiologiques ont montré que l'humidité ou la croissance des moisissures dans les logements sont étroitement liées à des problèmes de santé affectant les occupants.

L'harmonisation des méthodes d'échantillonnage, de détection et de 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, il est nécessaire d'élaborer une stratégie d'échantillonnage.

La présente partie de l'ISO 16000 spécifie une méthode d'échantillonnage actif de courte durée (1 min à 10 min), tandis qu'un échantillonnage actif de longue durée (0,5 h à plusieurs heures) est spécifié dans l'ISO 16000-16.

La présente partie de l'ISO 16000 repose sur des parties du VDI 4300 Partie 10:2008^[11].

L'ISO 16017^[8]^[9] et l'ISO 12219^[3]^[7] portent également sur les mesurages relatifs aux composés organiques volatils (COV).

Air intérieur —

Partie 18:

Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage par impaction

AVERTISSEMENT — L'utilisation de la présente partie de l'ISO 16000 peut impliquer l'emploi 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, avant de l'utiliser, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 16000 spécifie les exigences d'échantillonnage de courte durée (1 min à 10 min) des moisissures dans l'air intérieur par impaction sur milieu gélosé solide. En suivant les instructions données, un échantillon est prélevé pour la détection ultérieure des moisissures par culture, conformément à l'ISO 16000-17.

2 Références normatives

[ISO 16000-18:2011](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/61caf35c-29c0-48df-aecc-de62f5748294/iso-16000-18-2011)

<http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/61caf35c-29c0-48df-aecc-de62f5748294/iso-16000-18-2011>

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

ISO 16000-17, *Air intérieur — Partie 17: Détection et dénombrement des moisissures — Méthode par culture*

3 Termes et définitions

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

3.1

diamètre aérodynamique

diamètre d'une sphère de masse volumique 1 g/cm³ possédant, dans un air calme, la même vitesse terminale de chute due à la pesanteur que celle de la particule dans les mêmes conditions de température, de pression et d'humidité relative

NOTE Adapté de l'ISO 7708:1995^[2], 2.2.

3.2

efficacité de conservation biologique

capacité de l'échantillonneur à conserver la viabilité des micro-organismes en suspension dans l'air pendant la collecte et à conserver les produits microbiens intacts

[EN 13098:2000^[10]]

3.3
unité formant colonie
ufc

unité dans laquelle est exprimé le nombre de micro-organismes cultivables

[EN 13098:2000^[10]]

NOTE 1 Une colonie peut provenir d'un micro-organisme, d'agrégats de plusieurs micro-organismes, ainsi que d'un ou plusieurs micro-organismes liés à une particule.

NOTE 2 Le nombre de colonies peut dépendre des conditions de culture.

3.4
diamètre de coupure

taille des particules (diamètre aérodynamique) pour laquelle l'efficacité d'échantillonnage est de 50 %

3.5
culture

⟨qualité de l'air⟩ croissance de micro-organismes sur des milieux de culture

[ISO 16000-16:2008, 3.6]

3.6
champignon filamenteux

champignon poussant sous la forme de filaments de cellules appelés hyphes

NOTE 1 Les hyphes agrégés en faisceaux sont appelés mycélia.

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

[ISO 16000-16:2008, 3.3]

3.7
impaction

échantillonnage de particules en suspension dans l'air par séparation inertielle sur une surface solide

NOTE Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 16000, la surface solide est constituée de gélose (voir également l'ISO 4225:1994^[11], 3.18, 3.49 qui définissent les dispositifs utilisant l'impaction).

3.8
micro-organisme

entité microbienne, cellulaire ou acellulaire, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique, ou entité ayant perdu ces propriétés

[EN 13098:2000^[10]]

3.9
moisissure

⟨qualité de l'air⟩ champignon filamenteux appartenant à différents groupes taxonomiques, à savoir Ascomycètes, Zygomycètes et leurs états anamorphiques antérieurement connus sous la dénomination de deutéromycètes ou 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, 3.9]

3.10
efficacité physique d'échantillonnage

capacité de l'échantillonneur à recueillir des particules de tailles spécifiques en suspension dans l'air

[EN 13098:2000^[10]]

3.11**efficacité totale d'échantillonnage**

produit de l'efficacité physique d'échantillonnage et de l'efficacité de conservation biologique

[EN 13098:2000^[10]]

4 Principe

Une quantité d'air définie est aspirée à travers un impacteur contenant une ou plusieurs boîtes remplies de milieu gélosé (DG18 et gélose à l'extrait de malt ou gélose dextrosée à la pomme de terre). Les particules dans le courant d'air s'impactent sur la surface de la gélose en raison de leur inertie lorsque la direction de l'écoulement d'air est détournée pour contourner la surface solide.

Les moisissures en suspension dans l'air sont ainsi directement recueillies sur les boîtes contenant la gélose.

Le dispositif d'échantillonnage est conçu pour détecter des particules de la taille des spores de moisissure (>1 µm à environ 30 µm). Pour cela, il convient que le diamètre de coupure du dispositif d'échantillonnage soit de préférence de 1 µm ou moins; il ne doit pas dépasser 2 µm.

NOTE Deux principaux types d'impacteurs sont couramment utilisés et disponibles dans le commerce: a) les échantillonneurs à fente; b) les échantillonneurs à crible. Dans les échantillonneurs à fente, l'air est aspiré à travers une fente étroite et les particules sont impactées sur une boîte de gélose en rotation. Dans les échantillonneurs à crible, l'air est aspiré à travers une plaque perforée (tamis) pourvue de trous d'un diamètre défini et les particules sont impactées sur une boîte de gélose fixée en-dessous. Les échantillonneurs à crible peuvent être utilisés en empilant différents tamis, ce qui engendre des vitesses d'écoulement différentes permettant de collecter différentes fractions granulométriques de particules (c'est-à-dire l'impacteur Andersen à six étages). Des données de validation sont uniquement fournies pour les impacteurs à crible à un étage (principalement pourvus de ≥300 trous) utilisant des boîtes de gélose d'un diamètre de 9 cm.

Après échantillonnage, les spores de moisissure sont cultivées et les colonies résultantes sont dénombrées conformément au mode opératoire spécifié dans l'ISO 16000-17.

5 Appareillage et matériaux**5.1 Dispositif d'échantillonnage**

Un exemple détaillé d'un impacteur à crible à un étage est donné à l'Annexe A. Les impacteurs à plusieurs étages sont uniquement utilisés à des fins spéciales lorsqu'un fractionnement par taille des particules est requis.

5.1.1 Support, pour placer l'impacteur à la hauteur d'échantillonnage souhaitée.

5.1.2 Impacteur, à fente ou à crible.

5.1.3 Boîtes de gélose, de diamètre 9 cm, contenant de la gélose DG18 et de la gélose à l'extrait de malt ou de la gélose dextrosée à la pomme de terre (voir Article 6).

5.1.4 Pompe à vide, pour assurer un débit constant tout au long de l'opération.

5.1.5 Compteur à gaz, pour déterminer le volume de gaz aspiré au niveau de la tête d'échantillonnage, en mètres cubes effectifs.

5.1.6 Minuterie, pour prérégler l'heure et la durée d'échantillonnage.

5.1.7 Boîtier de protection (facultatif, utile en particulier pour un usage en extérieur), pour protéger l'impacteur des conditions environnementales défavorables.

5.2 Équipement de préparation des boîtes de gélose

Utiliser l'équipement habituel de laboratoire microbiologique et, en particulier, ce qui suit.

- 5.2.1 **pH-mètre**, d'une précision de $\pm 0,1$.
- 5.2.2 **Boîtes de Petri**, ventilées, stériles, de diamètre environ 9 cm.
- 5.2.3 **Autoclave**, pouvant fonctionner à $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$ et à $(115 \pm 3) ^\circ\text{C}$.

5.3 Équipement d'échantillonnage

- 5.3.1 **Sachets en plastique**, pour protéger les boîtes de gélose pendant le transport
- 5.3.2 **Récipient isotherme et réfrigéré**, pour transporter les boîtes de gélose à une température inférieure à $25 ^\circ\text{C}$.
- 5.3.3 **Désinfectant**, par exemple isopropanol ou éthanol (70 %, fraction volumique).
- 5.3.4 **Air comprimé (sans huile, facultatif)**, pour sécher l'équipement après désinfection.

6 Milieux de culture et réactifs

6.1 Généralités

Tous les réactifs et produits chimiques doivent être au moins de qualité «microbiologique» reconnue. L'eau utilisée doit être distillée ou de qualité équivalente.

L'utilisation de substrats déshydratés disponibles dans le commerce est encouragée, à condition qu'ils soient conformes aux descriptions fournies. Ils doivent être préparés conformément aux instructions du fabricant.

6.2 Gélose dichloran-glycérol 18 % (DG18)

Les composants sont indiqués dans le Tableau 1.

Tableau 1 — Composition de la gélose dichloran-glycérol 18 % (fraction massique) (gélose DG18)

Composant	Quantité
Peptone ^a	5,0 g
Glucose	10,0 g
Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	1,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,5 g
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline) 0,2 % (fraction massique) dans l'éthanol (100 %)	1,0 ml
Chloramphénicol	0,1 g
Glycérol	220 g ^b
Gélose	15,0 g
Eau	1 000 ml

^a Différentes peptones sont utilisées par divers fabricants (par exemple peptone de caséine, peptone mycologique). Généralement, cela n'influence pas les résultats quantitatifs des mesurages mais peut influencer l'aspect des colonies. Par conséquent, des contrôles positifs pour la comparaison de la reconnaissance et de l'aspect morphologique des colonies sont importants.

^b 18 % (fraction massique) d'environ 1 220 g correspondent à une masse finale d'environ 220 g.

Ajouter les ingrédients mineurs 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 correspondre à $5,6 \pm 0,2$ à 25 °C. Verser des aliquotes d'environ 20 ml dans les boîtes de Petri.

Les boîtes de gélose DG18 en sachets peuvent être conservées pendant une période d'une semaine à (15 ± 3) °C dans l'obscurité.

NOTE 1 Selon la flore concomitante, d'autres antibiotiques tels que la streptomycine ou l'ampicilline peuvent être utilisés à condition qu'ils n'influencent pas les résultats d'essai.

NOTE 2 La gélose DG18 est appropriée pour la détection d'un large spectre de moisissures xérophiles (c'est-à-dire préférant les milieux secs). Le glycérol réduit l'activité de l'eau, a_w à 0,95. Le chloramphénicol inhibe les bactéries, en particulier les bactéries Gram-négatif. Le dichloran inhibe le développement des colonies de moisissure à croissance rapide et permet ainsi la prolifération des colonies à croissance lente.

6.3 Gélose à l'extrait de malt

Les composants sont indiqués 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

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/61caf35c-29c0-48df-aecc-def625748294/iso-16000-18-2011>

NOTE 1 Il peut être nécessaire d'ajouter du chloramphénicol (0,05 g/l) si les échantillons contiennent de fortes concentrations de bactéries.

NOTE 2 Selon la flore concomitante, d'autres antibiotiques tels que la streptomycine ou l'ampicilline peuvent être utilisés à condition qu'ils n'influencent pas les résultats d'essai.

Ajouter les ingrédients et la gélose dans l'eau et dissoudre par ébullition. Stériliser dans un autoclave à (115 ± 3) °C pendant (10 ± 1) min. Après stérilisation, le pH doit correspondre à $5,5 \pm 0,2$ à 25 °C. Verser des aliquotes d'environ 20 ml dans les boîtes de Petri.

Les boîtes de gélose à l'extrait de malt en sachets peuvent être conservées pendant une période d'un mois à (5 ± 3) °C dans l'obscurité.

IMPORTANT — Plusieurs géloses à l'extrait de malt de compositions différentes sont disponibles dans le commerce. Vérifier que les ingrédients correspondent à la composition fournie dans le Tableau 2.

6.4 Gélose dextrosée à la pomme de terre

Les composants sont indiqués dans le Tableau 3.