

NORME INTERNATIONALE ISO 16000-21

Première édition
2013-12-15

Air intérieur —

Partie 21: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage à partir de matériaux

Indoor air —

*Part 21: Detection and enumeration of moulds — Sampling from
materials*

Document Preview

ISO 16000-21:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/cc2891e7-53bc-4420-a7a5-bb7727f4aeee/iso-16000-21-2013>



Numéro de référence
ISO 16000-21:2013(F)

© ISO 2013

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 16000-21:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/cc2891e7-53bc-4420-a7a5-bb7727f4aeec/iso-16000-21-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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 de la méthode	2
5 Appareillage et matériel	2
5.1 Équipement de prélèvement	2
5.2 Équipement de préparation des boîtes de gélose	3
5.3 Équipement de traitement des échantillons globaux	3
6 Milieux de culture et réactifs	3
6.1 Généralités	3
6.2 Gélose dichloran-glycérol 18 % (gélose DG-18)	3
6.3 Gélose à l'extrait de malt	4
6.4 Gélose dextrosée à la pomme de terre	5
6.5 Tampon de dilution	5
6.6 Solution de coloration	6
7 Mode opératoire de mesure	6
7.1 Échantillonnage de surface	6
7.2 Échantillonnage global	7
7.3 Transport et stockage	7
7.4 Microscopie directe	7
7.5 Suspension des échantillons de matériaux et des écouvillons	8
8 Assurance qualité	8
9 Rapport d'échantillonnage	8
10 Caractéristiques de performance	9
Annexe A (informative) Essais interlaboratoires pour validation de la méthode	10
Bibliographie	12

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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/patents).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: Foreword - Supplementary information

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'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)/polychloro-dibenzofuranes (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 20: Détection et dénombrement des moisissures — Détermination du nombre total de spores*
- *Partie 21: Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage à partir de matériaux*
- *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 de produits de construction — Méthode de la micro-chambre*
- *Partie 26: Stratégie d'échantillonnage du dioxyde de carbone (CO₂)*
- *Partie 27: Détermination de la poussière fibreuse déposée sur les surfaces par microscopie électronique à balayage (MEB) (méthode directe)*
- *Partie 28: Détermination des émissions d'odeurs des produits de construction au moyen de chambres d'essai*
- *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*

Les parties suivantes sont en cours d'élaboration:

- *Partie 33: Détermination des phtalates par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM)*
- *Partie 34: Stratégies pour le mesurage des particules en suspension (fraction PM_{2,5})*
- *Partie 35: Mesurage des diphenyléther polybromé, hexabromocyclododécane et hexabromobenzène*

La méthode d'essai pour le taux de réduction des bactéries en suspension par des purificateurs d'air en utilisant une chambre d'essai fera l'objet d'une future Partie 36.

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, mesurent jusqu'à 100 µm. Les spores de certains genres de moisissure sont de petite taille et sont facilement mises en suspension dans l'air (par exemple *Aspergillus*, *Penicillium*) tandis que d'autres sont plus grandes et/ou intégrées à un amas muqueux (par exemple *Stachybotrys*, *Fusarium*), ce qui les rend moins mobiles.

Les spores de moisissures sont largement distribuées dans l'environnement extérieur et sont donc également retrouvées dans l'air intérieur en concentration variable. 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 fongique 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 les normes relatives à la stratégie d'échantillonnage, est essentielle pour l'évaluation comparative des problèmes liés aux moisissures à l'intérieur des bâtiments. Avant de procéder à toute mesure, il convient d'élaborer une stratégie d'échantillonnage.

La présente partie de l'ISO 16000 décrit des méthodes d'échantillonnage de moisissures à partir de matériaux de construction.

La présente partie de l'ISO 16000 repose sur certains passages du VDI 4300 Partie 10.

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 16000-21:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/cc2891e7-53bc-4420-a7a5-bb7727f4aece/iso-16000-21-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/cc2891e7-53bc-4420-a7a5-bb7727f4aece/iso-16000-21-2013>

Air intérieur —

Partie 21:

Détection et dénombrement des moisissures — Échantillonnage à partir de matériaux

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 16000 spécifie les exigences d'échantillonnage de moisissures à partir de matériaux de construction. En suivant les instructions données, des échantillons sont prélevés pour microscopie ou pour détection ultérieure des moisissures par culture, conformément à l'ISO 16000-17.

2 Références normatives

Les documents suivants, en totalité ou en partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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 16000-17, *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

unité formant colonie **ufc**

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

[SOURCE: EN 13098:2000]

Note 1 à l'article: Une colonie peut provenir d'un seul micro-organisme, d'agrégat de plusieurs micro-organismes ainsi que d'un ou plusieurs micro-organismes liés à une particule.

Note 2 à l'article: Le nombre de colonies peut varier selon les conditions de culture.

3.2

culture

<qualité de l'air> croissance de micro-organismes sur des milieux de culture

[SOURCE: ISO 16000-16:2008, 3.6]

3.3

champignon filamenteux

champignon poussant sous la forme de filaments de cellules appelés hyphes

Note 1 à l'article: Le terme «champignon filamenteux» distingue les champignons à hyphes des levures.

[SOURCE: ISO 16000-16:2008, 3.3]

3.4

micro-organisme

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

[SOURCE: EN 13098:2000]

3.5

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

3.6

mycélium

réseau ramifié formé d'hyphes

[SOURCE: ISO/TS 10832:2009, 3.5]

4 Principe de la méthode

Les matériaux contaminés par des moisissures sont examinés soit par échantillonnage de surface (voir 7.1) soit par échantillonnage global (voir 7.2), c'est-à-dire par examen de l'ensemble du matériau ou de couches plus profondes définies. Les méthodes utilisées dépendent de l'objectif de l'étude tel que décrit dans l'ISO 16000-19. Les surfaces sont échantillonnées au moyen d'une boîte de contact (voir 7.1.2), au moyen d'un ruban adhésif (voir 7.1.3) ou par écouvillonnage (voir 7.1.4). Après échantillonnage, les spores de moisissures peuvent être analysées par microscopie directe (voir 7.4) ou traitées et cultivées en utilisant la méthode par suspension (voir 7.5). Le mode opératoire de culture est décrit dans l'ISO 16000-17.

ISO 16000-21:2013

5 <https://standards.iso.org/standards/iso/cc2891e7-53bc-4420-a7a5-bb7727f4aeee/iso-16000-21-2013> Appareillage et matériel

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, et en particulier:

5.1 Équipement de prélèvement

5.1.1 Boîtes de gélose ou lames souples en plastique, contenant de la gélose DG-18 et de la gélose à l'extrait de malt ou de la gélose dextrosée à la pomme de terre (voir Article 6) avec le milieu de culture légèrement en saillie sur le bord.

5.1.2 Écouvillons, stériles, pour prélever des échantillons par écouvillonnage.

5.1.3 Récipients, pour protéger les boîtes de gélose et les échantillons de matériaux pendant le transport, par exemple des sacs en plastique.

5.1.4 Désinfectant, par exemple isopropanol ou éthanol (70 % en fraction volumique) pour désinfecter les outils de prélèvement.

5.1.5 Foret, désinfecté, d'un diamètre d'au moins 3 cm, de préférence de 5 cm pour extraire des carottes définies du matériau.

5.1.6 Récipient isotherme/réfrigéré, pour transporter les boîtes de gélose et les échantillons de matériaux à une température inférieure à 25 °C.

5.1.7 Outils de prélèvement, stériles, pour prélever des échantillons globaux de matériaux à différentes profondeurs, par exemple spatules, cuillères, lames, matériel de perçage.

5.2 Équipement de préparation des boîtes de gélose

5.2.1 Autoclave, à $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$ et $(115 \pm 3) ^\circ\text{C}$.

5.2.2 Boîtes de Petri, ventilées, stériles, ayant un diamètre d'environ 9 cm.

5.2.3 pH-mètre, d'une exactitude de $\pm 0,1$.

5.3 Équipement de traitement des échantillons globaux

5.3.1 Récipient en aluminium, pour peser des échantillons de matériaux.

5.3.2 Balance analytique, d'une exactitude de $\pm 0,01$ g.

5.3.3 Flacon en verre, flacon à chicane, stérile, 250 ml.

5.3.4 Plateau d'agitation, horizontal, de 200 r/min.

5.3.5 Agitateur pour tubes à essai, par exemple agitateur Vortex.

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 recommandée, à condition qu'ils soient conformes aux descriptions fournies. Ces substrats déshydratés doivent être préparés conformément aux instructions du fabricant. Pour l'échantillonnage de surface, des boîtes de gélose ou des bandes souples en plastique contenant un milieu gélosé sont également disponibles dans le commerce.

6.2 Gélose dichloran-glycérol 18 % (gélose DG-18)

Les composants sont listés dans le Tableau 1.

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

Composant	Quantité
Peptone ^c	5,0 g
Glucose	10,0 g
Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	1,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$)	0,5 g
^a Concentration finale dans le milieu: 0,002 g/l. ^b Fraction massique de 18 % d'environ 1 220 g de masse finale = environ 220 g. ^c Différentes peptones sont utilisées par divers fabricants (par exemple, peptone de caséine, peptone mycologique). Généralement, ceci n'influence pas les résultats quantitatifs des mesures mais peut influencer sur l'aspect des colonies. Par conséquent, il est important de réaliser des contrôles positifs pour la comparaison du recouvrement et de l'aspect morphologique des colonies.	

Tableau 1 (suite)

Composant	Quantité
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline), fraction volumique de 0,2 % dans l'éthanol (100 %)	1,0 ml ^a
Chloramphénicol	0,1 g
Glycérol	220 g ^b
Gélose	15,0 g
^a Concentration finale dans le milieu: 0,002 g/l. ^b Fraction massique de 18 % d'environ 1 220 g de masse finale = environ 220 g. ^c Différentes peptones sont utilisées par divers fabricants (par exemple, peptone de caséine, peptone mycologique). Généralement, ceci n'influence pas les résultats quantitatifs des mesures mais peut influencer sur l'aspect des colonies. Par conséquent, il est important de réaliser des contrôles positifs pour la comparaison du recouvrement et de l'aspect morphologique des colonies.	

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 à l'autoclave à $(121 \pm 3)^\circ\text{C}$ pendant (15 ± 1) min. Après stérilisation, le pH doit être égal à $5,6 \pm 0,2$ à 25°C . Distribuer des aliquotes d'environ 20 ml dans les boîtes de Petri.

Les boîtes de gélose DG-18 en sachets peuvent être conservées jusqu'à un mois à $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ dans l'obscurité.

NOTE 1 La gélose DG-18 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 moisissures à croissance rapide et permet ainsi la prolifération des colonies à croissance lente.

NOTE 2 Selon la flore concomitante, d'autres antibiotiques tels que la streptomycine ou l'ampicilline peuvent être utiles à condition qu'ils n'influencent pas les résultats d'essai. Si la streptomycine ou l'ampicilline sont utilisées, il convient d'ajouter ces antibiotiques à la gélose DG-18 stérilisée juste avant la distribution.

6.3 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 distillée	1 000 ml

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 utiles à condition qu'ils n'influencent pas les résultats d'essai. Si la streptomycine ou l'ampicilline sont utilisées, il convient d'ajouter ces antibiotiques à la gélose stérilisée à l'extrait de malt juste avant la distribution.

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