

Substances chimiques et agents biologiques

# Études et recherches

RAPPORT R-605



## Validation d'une méthode d'analyse exploratoire de la population mycologique par utilisation de trappes à spores

*Geneviève Marchand  
Yves Cloutier  
Carole Pépin  
Daniel Drolet*



**Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.**

## NOS RECHERCHES

### Mission *travaillent pour vous !*

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes.

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

### Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour.  
De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement.  
[www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST.  
Abonnement : 1-877-221-7046  
[preventionautravail@resourceintegration.ca](mailto:preventionautravail@resourceintegration.ca)

### Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales  
2009

ISBN : 978-2-89631-357-0 (version imprimée)

ISBN : 978-2-89631-358-7 (PDF)

ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications  
505, boul. De Maisonneuve Ouest  
Montréal (Québec)  
H3A 3C2  
Téléphone : 514 288-1551  
Télécopieur : 514 288-7636  
[publications@irsst.qc.ca](mailto:publications@irsst.qc.ca)  
[www.irsst.qc.ca](http://www.irsst.qc.ca)  
© Institut de recherche Robert-Sauvé  
en santé et en sécurité du travail,  
février 2009



Substances chimiques et agents biologiques

# Études et recherches



RAPPORT R-605

## Validation d'une méthode d'analyse exploratoire de la population mycologique par utilisation de trappes à spores

### Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document. En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

*Geneviève Marchand,  
Service soutien à la recherche et à l'expertise, IRSST*

*Yves Cloutier,  
Service veille et gestion de la qualité, IRSST*

*Carole Pépin et Daniel Drolet,  
Services et expertises de laboratoire, IRSST*



Cette publication est disponible  
en version PDF  
sur le site Web de l'IRSST.

**CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSS**

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

## TABLE DES MATIÈRES

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| TABLE DES MATIÈRES .....                                       | i  |
| LISTE DES FIGURES .....                                        | i  |
| 1. INTRODUCTION .....                                          | 1  |
| 2. MATÉRIEL ET MÉTHODE .....                                   | 3  |
| 2.1 Échantillons.....                                          | 3  |
| 2.2 Règles de comptage .....                                   | 3  |
| 2.2.1 Évaluation de la distribution .....                      | 3  |
| 2.2.2 Parallélisme de la trace par rapport à la lame .....     | 3  |
| 2.2.3 Simulation Monte Carlo.....                              | 4  |
| 2.2.4 Évaluation du nombre minimum de traverse à compter ..... | 4  |
| 2.2.5 Rendement de la méthode.....                             | 5  |
| 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION .....                               | 7  |
| 3.1 Règles de comptage .....                                   | 7  |
| 3.2 Évaluation de la distribution .....                        | 7  |
| 3.3 Parallélisme de la trace par rapport à la lame .....       | 7  |
| 3.4 Simulation Monte Carlo.....                                | 9  |
| 3.5 Évaluation du nombre minimum de traverse à compter .....   | 9  |
| 3.6 Rendement de la méthode.....                               | 11 |
| 4. CONCLUSION.....                                             | 13 |
| RÉFÉRENCES .....                                               | 15 |

## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 3-1 : Profil de déposition des spores sur la lamelle de prélèvement .....                                 | 8  |
| Figure 3-2 : Profil de déposition lorsque la trace n'est pas parallèle au bord de la lame de<br>microscope ..... | 8  |
| Figure 3-3 : Biais sur le résultat en fonction du nombre de traverse compté .....                                | 9  |
| Figure 3-4 : Courbes des 95 <sup>e</sup> percentile pour les 39 échantillons .....                               | 10 |
| Figure 3-5 : Graphique représentant la régression linéaire de l'équation 1 .....                                 | 11 |



## 1. INTRODUCTION

Bien qu'elles soient ubiquistes et que nous y soyons tous exposés quotidiennement, les moisissures peuvent néanmoins causer des problèmes de santé chez certains individus. Les moisissures, ou leurs composés, sont responsables de maladies chez les humains (ACGIH® 1999, IOM 1993, Horner *et al.* 1995, Levetin 1995). La plupart produisent des protéines ou des glycoprotéines qui sont reconnues allergènes et peuvent provoquer des réactions chez les individus exposés même lorsque leurs spores sont non cultivables en laboratoire. En effet, il est reconnu que les spores de moisissures conservent leur potentiel allergène et toxique même si elles ont perdu leur capacité de multiplication. (Stetzenbach et Buttner 2000, Eduard et Aalen, 1988). Certaines moisissures sont clairement associées à des symptômes d'asthme et de fièvre des foin. (ACGIH® 1999, Neas *et al.* 1996) L'exposition aux toxines de *Stachybotrys chartarum* a suscité beaucoup d'intérêt en regard aux symptômes respiratoires non allergiques. (Croft W.A. *et al.* 1986, CDC 1994, CDC 1997).

Tous ces effets sur la santé qui sont associés aux moisissures expliquent l'intérêt grandissant de documenter les niveaux de spores de moisissures dans les environnements intérieurs depuis la fin des années 90. Les méthodes d'analyse utilisées sont souvent basées sur les méthodes de culture au laboratoire. La majorité des méthodes actuellement utilisées à l'IRSST pour documenter les moisissures en lien avec des problématiques de qualité de l'air est basée sur la culture des microorganismes en laboratoire. Ces méthodes permettent de faire une bonne caractérisation de la flore cultivable microbienne présente dans un environnement. Toutefois, elles ne permettent qu'une évaluation partielle de la flore mycologique présente dans un milieu. (Miller 2001) Bien que la méthode de culture soit la seule qui permette une caractérisation spécifique à l'espèce, elle a le désavantage de demander une expertise spécialisée et de nécessiter des délais d'analyse de plusieurs jours voire quelques semaines. Ces délais sont attribuables au temps d'attente requis pour l'obtention de la croissance des microorganismes en laboratoire afin de pouvoir les isoler en culture pure et d'en faire l'identification. Il est maintenant reconnu que les spores de moisissures peuvent induire des effets sur la santé même lorsqu'elles ne sont plus cultivables en laboratoire. Cette reconnaissance des effets sur la santé, qui peuvent être produits par les spores non-cultivables, a démontré la nécessité que des méthodes permettant l'analyse de la flore mycologique totale dans les environnements soient rendues disponibles.

Différentes techniques d'échantillonnage et d'analyse sont utilisées pour évaluer la flore mycologique totale. (ACGIH 1999) Une méthode largement utilisée actuellement consiste à recueillir les spores par impaction sur une lamelle enduite d'adhésif contenu dans une cassette. L'observation au microscope permet de faire le dénombrement des spores de moisissures qui ont été recueillies sur la surface adhésive. Comme pour la méthode de microscopie par épi-fluorescence, seule une caractérisation partielle peut être obtenue à partir de la méthode des trappes à spores. Elle a toutefois l'avantage de ne pas nécessiter de manipulations de l'échantillon pour extraire les particules de la membrane ou du liquide de prélèvement. Lorsque seule la flore mycologique doit être documentée, la méthode des trappes à spores peut avantageusement être utilisée.

Une des problématiques reconnue avec cette méthode est que certains laboratoires, qui recherchent à minimiser le temps d'analyse, ont tendance à lire un pourcentage plus ou moins important de la trace pour faire leur comptage. Les pourcentages de trace comptés peuvent être très variables entre les laboratoires d'analyse et passer de 15% à 100 %. Certaines règles d'interruption de comptage peuvent également être appliquées lorsque des concentrations totales

ou de certaines espèces sont plus élevées. Ces règles d'interruption font en sorte, que des comptes inférieurs à 15 % de la trace puissent être effectués dans certaine situation. Aucune méthode de référence sur la façon de compter, ce type d'échantillon n'existe actuellement. Il existe d'autres sources d'erreur dont entre autres, celles reliées à l'échantillonnage ainsi que celles attribuables à l'erreur humaine lors des dénombrements et des caractérisations.

Le comité D22.08.01 de l'American Standard Testing Material (ASTM) travaille depuis deux ans à la rédaction d'une méthode d'analyse des spores de moisissures aéroportées (ASTM non publiée). Deux règles de comptage sont actuellement proposées dans cette méthode soit un compte de 100% de la trace à un grossissement supérieur à 600X ou un balayage de la trace à un faible grossissement suivi d'un compte de 20% de la trace à un grossissement d'au moins 400X. Aucune justification scientifique n'existe quant au choix de ces pourcentages. Ils ont probablement été basés sur les utilisations les plus courantes dans les laboratoires d'analyse. Il est évident que de nouvelles méthodes de comptage de la flore mycologique totale basées sur des critères non subjectifs sont nécessaires afin de documenter tant la fraction cultivable que non-cultivable.

Les objectifs de ce projet sont de valider une méthode d'analyse des spores prélevées par impaction sur surface adhésive afin de l'offrir à la clientèle du laboratoire de microbiologie, d'évaluer l'effet du pourcentage de trace comptée sur le résultat final et d'établir une méthode qui permettra d'estimer le pourcentage de la trace à compter en fonction de l'erreur sur le résultat jugé acceptable par l'utilisateur.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

### 2.1 Échantillons

39 échantillons ont été prélevés avec des cassettes de marque Air-O-Cell®. De ces 39, échantillons, 30 ont été prélevés dans une enceinte d'exposition en laboratoire alors que les 9, autres l'ont été dans l'air l'extérieur. L'enceinte d'exposition a l'avantage de permettre le contrôle des particules et des concentrations aérosolisées (Marchand 2006). Une suspension mixte de différentes souches mycologiques a été utilisée dans le nébuliseur. Les souches utilisées ont été *Cladosporium sp* (souche terrain), *Penicillium glabrum* (souche terrain), *Fusarium sp* (souche terrain), *Aspergillus niger* (ATCC 16888), *Ulocladium botrytis* (DAOM 212079) et *Trichoderma viride* (DAOM 199080). Les types de spores choisies sont de dimensions et de formes variées. Les concentrations de chaque souche dans la suspension ont été variables selon les besoins du projet. Les essais effectués à partir de la chambre de génération ont été réalisés sur trois niveaux de concentrations à raison de dix cassettes par niveau. Tous les échantillons ont été prélevés les uns à la suite des autres. Le débit de prélèvement était de 15 l/min pour une durée de 10 minutes.

### 2.2 Règles de comptage

Les lamelles adhésives provenant des cassettes ont été déposées directement sur une lame de microscope en plaçant la surface adhésive vers le haut et en s'assurant de la perpendicularité de la trace par rapport aux extrémités de la lame. Le lacto-phénol bleu coton a été utilisé comme solution de montage. Les lames ainsi préparées ont été examinées à l'aide d'un microscope Nikon E400 à un grossissement de 400X. Le dénombrement complet des spores de moisissures présentes sur chacune des lamelles a été réalisé pour toutes les traverses (100 %) à partir de l'extrémité de la surface adhésive. L'intégralité de la surface adhésive a ainsi été balayée pour les comptages réalisés dans le cadre de cette recherche. Aucune règle d'arrêt n'a été utilisée pour les comptages. Un réticule rectangulaire (0,33 X 0,22mm) a été utilisé pour faire les balayages de la trace. Le compte total des spores contenus dans chaque traverse a été enregistré. Le but était d'établir la concentration réelle totale à utiliser comme référence lors des essais de simulations.

#### 2.2.1 Évaluation de la distribution

Pour faire l'évaluation de la distribution des spores sur la lamelle de prélèvement, les résultats ont été compilés individuellement par champs de microscope afin de pouvoir visualiser la distribution et l'emplacement des spores sur toute la lamelle. Chaque champ représente la surface du réticule de 0,33 X 0,22mm. Les résultats rapportent le nombre de spores dénombré pour chacun des champs de la lamelle de prélèvement.

#### 2.2.2 Parallélisme de la trace par rapport à la lame

Pour faire cette évaluation le même échantillon a été compté à deux reprises par la méthode de comptage par champ. Une première fois lorsque la trace était légèrement inclinée par rapport au bord de la lame de microscope et une seconde fois lorsqu'une précaution particulière a été prise pour que la trace soit parallèle à la bordure de la lame. Pour chacun des deux essais, le total des

spores présentes par traverse a été enregistré et comparé. Le pourcentage de variation entre les deux essais pour chaque traverse a été évalué.

### **2.2.3 Simulation Monte Carlo**

La simulation de Monte Carlo permet de reproduire artificiellement un recomptage d'une même lame par plusieurs analystes. Les variations obtenues par ces recomptages seront ensuite utilisées pour faire l'estimation du nombre minimum de traverses qui devrait être comptées selon la densité de spores présentes sur l'échantillon.

La compilation des résultats pour chaque traverse (N) d'une lamelle permet de connaître le nombre total de spores (x) pour un échantillon donné lorsque la sommation des résultats par traverse est effectuée. La simulation informatique de type Monte Carlo permet de calculer l'erreur obtenue lorsqu'un compte partiel de la trace est réalisé.

Pour chaque lamelle, on calcule les estimations du nombre de spores totales (X) qui seraient obtenues par un compte partiel de la trace en sélectionnant un nombre de traverses (n) de façon aléatoire. Le nombre de traverses sélectionnées peut varier de 1 à N-1. Le nombre total de spores comptées pour ces traverses sélectionnées est ensuite multiplié par N/n. L'écart entre le nombre total de spores (x, compte total) et l'estimation du nombre (X, compte partiel) lorsque exprimé en pourcentage constitue le pourcentage d'erreur associée à un sous-échantillonnage du compte. ( $S = [100(x-X)/x]$ )

Les simulations de Monte Carlo ont permis d'utiliser ces résultats pour reproduire le travail de 10 000 analystes choisissant au hasard un nombre limité de traverses en effectuant le dénombrement des spores contenues dans ces traverses. Le pourcentage d'erreur du sous-échantillonnage S est recalculé pour chacun des 10 000 tirages aléatoires de n traverses comptées. (Simulation de Monte Carlo) À partir de ces 10 000 itérations, il est possible de calculer une erreur moyenne de comptage et un intervalle de confiance unilatéral fixé à 95 % pour chaque nombre de traverses comptées.

### **2.2.4 Évaluation du nombre minimum de traverse à compter**

En répétant ce calcul pour chaque nombre (de 1 à N-1) de traverses possibles d'un échantillon, on peut alors tracer une courbe de la moyenne de l'erreur d'échantillonnage et d'intervalle de confiance à 95% en fonction du nombre de traverses comptées. Ces simulations ont été répétées pour les 39 échantillons et les 39 courbes correspondantes portées sur un graphique.

En supposant arbitrairement, une erreur de comptage maximale acceptable de 10% ou 25%, 19 fois sur 20, on peut à partir de ce graphique déterminer pour chaque échantillon le nombre de traverses à compter. Une erreur de 25% serait acceptable pour une analyse exploratoire d'un environnement, par contre un seuil de 10% pourrait être ciblé pour certains milieux ou situations. Une analyse de régression réalisée sur ce nombre de traverses en fonction du logarithme du compte moyen par traverse pour chacun des échantillons a permis de déterminer l'équation de la relation exponentielle. Cette équation a été utilisée pour évaluer le nombre de traverses à compter selon le nombre moyen de spores par traverse pour obtenir une erreur d'échantillonnage

inférieure à 10% ou 25% 19 fois sur 20. La distribution de fréquence des erreurs a été évaluée par le test de Martinez-Iglewicz à l'aide du logiciel NCSS (Hintze 2001)

### **2.2.5 Rendement de la méthode**

Afin d'évaluer le rendement de la méthode, la répétitivité, la répliquabilité ainsi que des limites de détection et de quantification ont été évaluées.

La répétitivité est évaluée en changeant au moins un paramètre d'analyse. Dans le cadre de cette évaluation la journée d'analyse est le paramètre qui a été modifié. La répliquabilité est évaluée en conservant tous les paramètres de l'analyse identique. Tous les échantillons d'une même concentration ont été analysés par le même analyste, la même journée et sur le même microscope. La répétitivité et la répliquabilité sont calculées en évaluant l'intervalle de confiance de la moyenne des coefficients de variation obtenus pour chaque concentration évaluée. Le niveau alpha utilisé pour ces évaluations est de 0.025 puisqu'il s'agit d'un test unilatéral à 95%.

La limite de détection a été réalisée en dénombrant 10 échantillons obtenus par la génération d'air sans ajout de spores dans la chambre de génération. La limite de détection et de quantification sont calculées à partir de l'écart type obtenu de ces dix lectures. La limite de détection correspond à trois fois l'écart type des mesures alors que la limite de quantification est de dix fois cet écart-type.



### 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### 3.1 Règles de comptage

Les comptes moyens de spores totales retrouvées par lamelle ont été de 100, 350, 1700 et 6700 dépendamment des niveaux de spores échantillonnées. Les nombres de spores ont varié de 700 à 45 000 spores/m<sup>3</sup> d'air, avec des volumes d'air prélevé de 150 L. Ces concentrations de spores sont rapportées dans la littérature et donc représentatives de différents environnements. (Björnsson *et al.* 1995, Toivola *et al.* 2004, Sivasubramani *et al.* 2004, Keinheinz *et al.* 2006, Kim *et al.* 2007, Pyrri et Gotsi 2007)

Le nombre de traverses pour lesquelles des spores ont été dénombrées, a varié de 43 à 50 traverses par trace. Les concentrations supérieures semblent être associées à un nombre de traverses supérieur. Le phénomène de rebondissement peut être amplifié lorsque les charges de particules augmentent dans un échantillon. (Moss 1986) L'augmentation de la surface de la trace pourrait s'expliquer par ce phénomène de rebondissement qui provoque un étalement plus important des spores lorsque les concentrations sont plus élevées. Le nombre de spores par traverse a varié de 1 à 244 spores selon les échantillons.

#### 3.2 Évaluation de la distribution

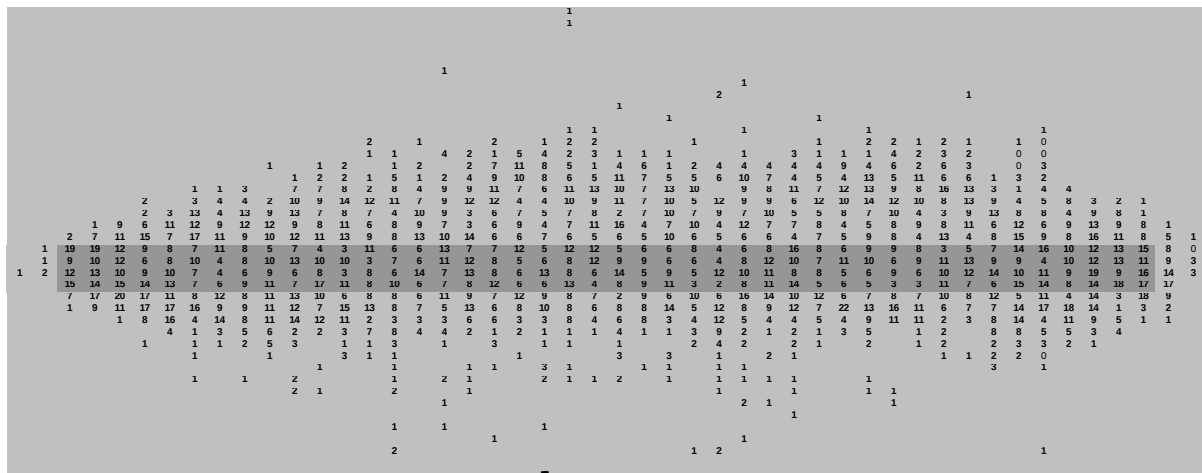
Le profil de distribution des spores sur l'échantillon a été évalué en effectuant le dénombrement de spores détectés pour chacun des champs observables d'un échantillon. Cette analyse par champs permet de constater que l'étendu du profil de déposition des spores s'étend bien au-delà du profil obtenu par la projection de l'ouverture de l'orifice de captation sur la lamelle. (Fig.3-1) Le nombre de spores dénombrées par champ est supérieur au centre du profil d'impaction de l'orifice de captation. Par contre, bien que la majorité des impactions soit concentrée vers le centre de la lamelle certaines impactions solitaires sont retrouvées bien à l'extérieur de cette région. Ces impactions pourraient être le résultat de rebondissement des spores lors de leur impact sur la surface de prélèvement. Le profil d'impaction des spores permet également de constater qu'une plus grande dispersion est observée sur l'axe vertical qu'horizontal. Cette distribution d'impaction laisse supposer que les dénombrements ne doivent pas se limiter à la région centrale mais bien s'étendre de l'extrémité supérieure à l'extrémité inférieure de la lamelle de prélèvement.

#### 3.3 Parallélisme de la trace par rapport à la lame

Bien que ceci n'en ait pas été le but initialement, l'évaluation de la distribution des spores sur la lamelle a également permis de constater qu'il était important que la lamelle soit placée sur la lame du microscope de façon à ce que la trace soit parallèle au bord de la lame (Fig.3-2). Le parallélisme de la trace par rapport au bord de la lame de microscope n'a pas d'influence lorsque la trace est dénombrée entièrement, par contre, lorsqu'une fraction de la trace est dénombrée une certaine erreur sur le compte total est possible. La comparaison des comptes obtenus pour un même échantillon selon que la trace est parallèle ou non a permis de constater, que le nombre total de traverses comptées est inférieur lorsque la trace est non parallèle au bord de la lame et qu'il était possible d'observer une variation allant jusqu'à 44% du nombre de spores dénombrées

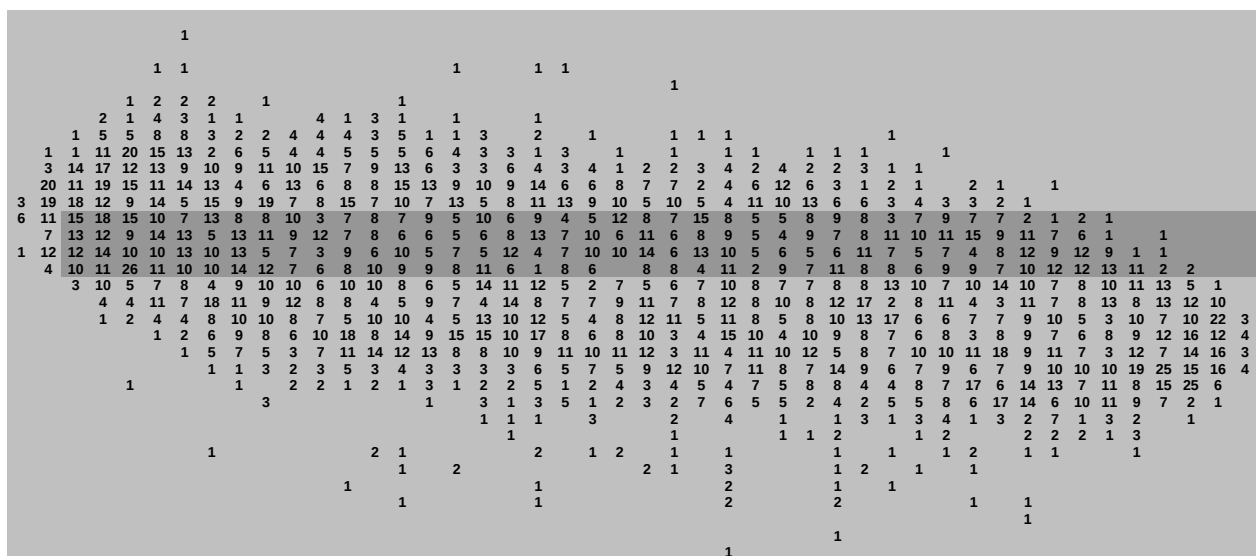
pour une traverse donnée. Une telle variation peut produire une erreur non négligeable lorsqu'un compte partiel de la trace est réalisé. Les cassettes Allergenco FS® ont été conçues afin de pallier à cette problématique qui résulte des montages des échantillons au laboratoire. Avec la cassette Allergenco FS le prélèvement de l'échantillon se fait directement sur la lame de microscope, il n'est plus nécessaire de faire les montages au laboratoire qui peuvent influencer le parallélisme.

**Figure 3-1 : Profil de déposition des spores sur la lamelle de prélèvement**



Région ombragée : profil obtenu par projection de l'orifice de captation de la cassette.  
Les chiffres représentent le nombre de spores dénombrées pour chacun des champs.

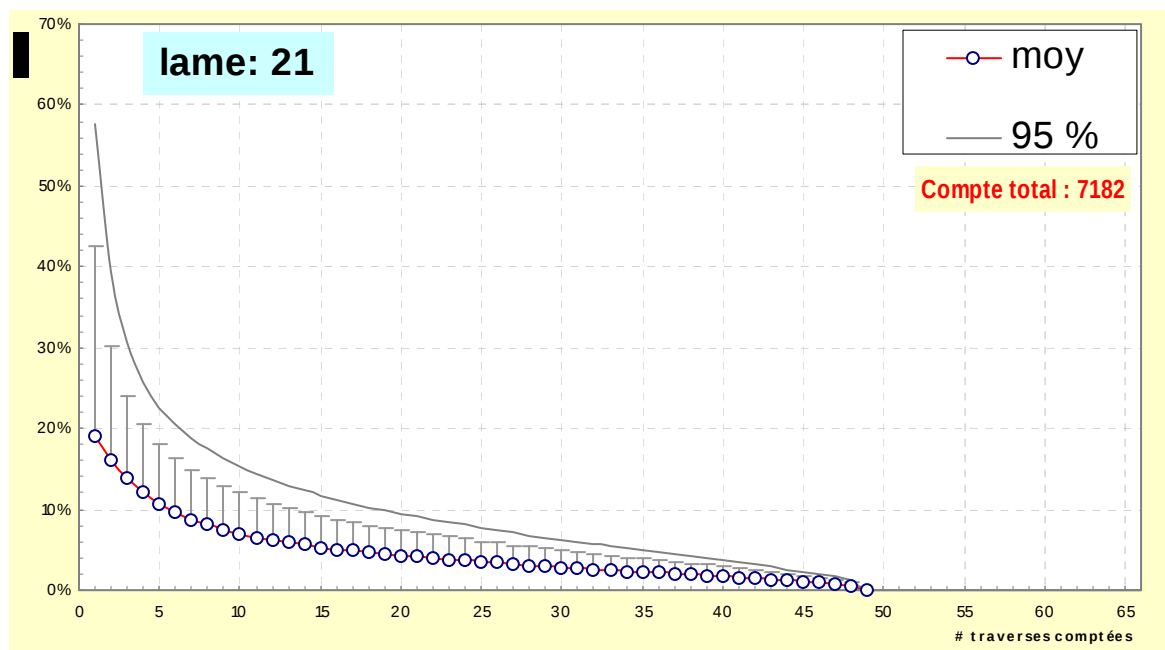
**Figure 3-2 : Profil de déposition lorsque la trace n'est pas parallèle au bord de la lame de microscope**



### 3.4 Simulation Monte Carlo

Le test de Martinez-Igelwicz a permis de démontrer que la courbe de distribution des pourcentages de l'erreur d'échantillonnage obtenue pour les 10 000 itérations obtenues de la simulation Monte Carlo correspond à une distribution normale. Pour chacun des 39 échantillons, la moyenne des pourcentages d'erreur, l'écart type et le 95<sup>e</sup> percentile sont rapportés sur un graphique du biais en fonction du nombre de traverses comptées. Les résultats obtenus pour un échantillon ayant un compte total de spores de 7182 sont présentés à la figure 3-3 à titre d'exemple.

**Figure 3-3 : Biais sur le résultat en fonction du nombre compté de traverses**



Nous avons considéré arbitrairement deux seuils d'erreurs de comptage imputables au pourcentage de la trace analysée soit 10% et 25%. L'intervalle de confiance à 95% est utilisé pour calculer le nombre minimal de traverses à compter pour obtenir une erreur d'échantillonnage inférieur à 10% ou 25% (19 fois sur 20). La figure 3-4 présente les courbes des 95<sup>e</sup> percentiles pour les 39 échantillons. Le nombre de traverses nécessaires pour atteindre ces seuils est variable selon les concentrations mesurées.

### 3.5 Évaluation du nombre minimum de traverse à compter

Pour chaque échantillon, le nombre minimal de traverses à compter pour atteindre les seuils de 10% et 25% a été déterminé à l'aide des graphiques des courbes des 95<sup>e</sup> percentiles. Les relations du nombre minimal de traverses à compter en fonction des nombres de spores par traverse ont été effectuées pour chaque seuil choisi. Un coefficient de corrélation de 0,88 est obtenu de la régression pour le seuil de 10% et 0,84 pour le seuil de 25%

Les deux équations de ces relations se traduisent ainsi :

$$\text{Équation 1 : \% de traverse} = (36, 46) + [(-10, 39) * \log \text{ du compte moyen}]$$

$$\text{Équation 2 : \% de traverse} = (16, 48) + [(-6, 63) * \log \text{ du compte moyen}]$$

Les relations obtenues du pourcentage de la trace à compter en fonction du nombre de spores par traverse permettent d'évaluer le nombre de traverses devant être analysés selon le nombre moyen de spores comptées dans une traverse. La courbe de la figure 3-5 a été tracée à partir des équations 1 et 2 obtenues des relations exponentielles des courbes des 95<sup>e</sup> percentile pour chaque échantillon. De ces équations, il est possible de déterminer que, selon le seuil jugé acceptable, soit 10% ou 25%, le nombre minimum de traverses à compter est très différent. Pour un compte moyen de 10 spores par traverse au moins 50% de la trace doit être analysée pour obtenir un seuil de 10% alors que 20% du compte est nécessaire pour atteindre le seuil de 25%.

**Figure 3-4 : Courbes des 95<sup>e</sup> percentile pour les 39 échantillons**

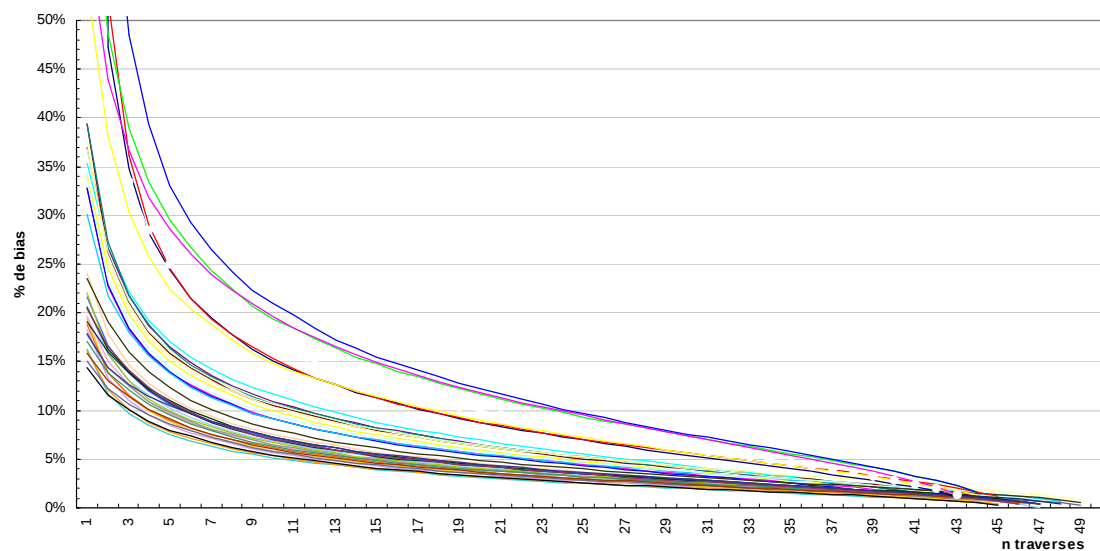
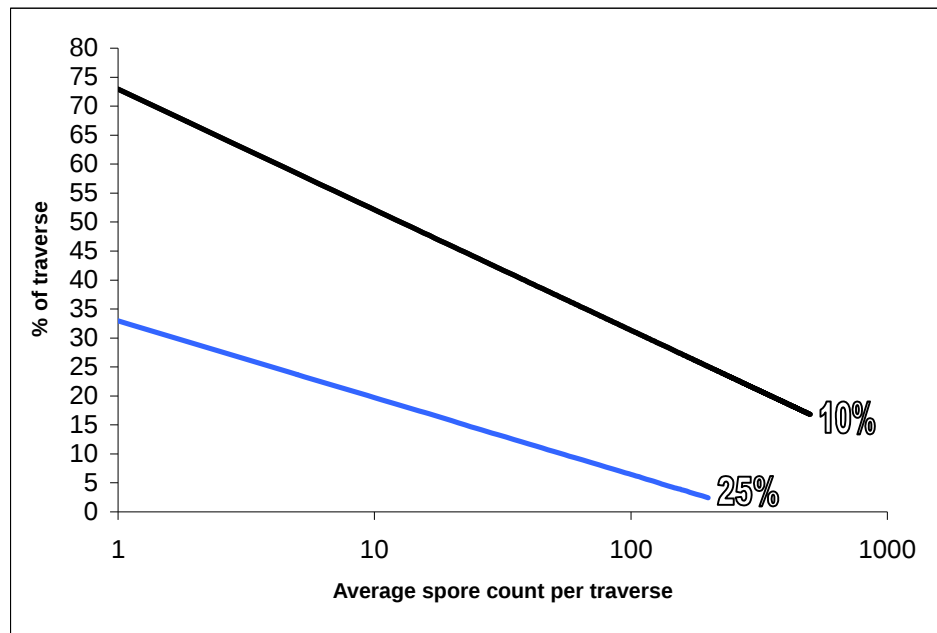


Figure 3-5 : Graphique représentant la régression linéaire des équations 1 et 2



### 3.6 Rendement de la méthode

La méthode a obtenu un niveau de répétitivité de 1,2% et une réplicabilité de 2,7% lorsque 100% de la trace est compté. La réplicabilité a habituellement un pourcentage de variation inférieur à la répétitivité. Dans notre étude une légère augmentation est observée pour la réplicabilité par rapport à la répétitivité. Cette augmentation de variation observée lorsque les analyses sont réalisées en une seule journée peut être attribuable à une fatigue tant oculaire que physique qui peut être ressentie par l'analyse après une journée entière de comptage. Le travail au microscope est exigeant pour la posture ainsi que pour les yeux. Ces résultats démontrent que cette fatigue contribue à augmenter bien que légèrement l'erreur de comptage.

Les limites de détection et de quantification calculée sont de 2 et 10 spores par traces respectivement lorsque toute la trace est analysée.



## 4. CONCLUSION

Le pourcentage de traverses compté lors de l'analyse des échantillons de type trappe à spores a une influence non négligeable sur le résultat final rapporté. Les pourcentages de 15 et 20% de trace comptée fréquemment utilisés par les différents laboratoires ne permettent pas d'obtenir un seuil d'erreur inférieur à 25% pour l'ensemble des niveaux de spores qui peuvent être rencontrés dans les échantillons. Le seuil de 10% serait que très rarement atteint avec ces pourcentages de compte.

Ce projet a permis de démontrer que le seuil de 25% d'erreur était atteignable pour l'ensemble des niveaux de concentrations lorsqu'au minimum 33% de la trace était comptée, par contre, pour 10% d'erreur c'est au moins 70% de la trace qui doit être comptée. Afin de connaître le pourcentage de la trace à compter pour chaque échantillon les équations 1 et 2 peuvent être utilisées en fonction de l'erreur jugée acceptable par le laboratoire. Il ne faut pas oublier que l'erreur attribuable au pourcentage de la trace comptée n'est qu'une erreur parmi d'autres.

Une méthode d'analyse est maintenant disponible au laboratoire.



## RÉFÉRENCES

- ACGIH® (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), Bioaerosols: Assessment and Control, ACGIH® worldwide, Cincinnati, OH, 1999.
- ASTM WK8015 Standard Test Method for the Determination of Airborne Fungal Spore Concentrations by Optical Microscopy of an Inertial Impaction Sample.
- Björnsson, E., Norbäck, D., Janson, C., Widström, J., Palmgren, U., Ström, G. and Boman, G., Asthmatic symptoms and indoor levels of micro-organisms and house dust mites, *Clinical and experimental allergy*, 25:423-431, 1995.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Acute pulmonary hemorrhage/hemosiderosis among infants, Cleveland, January 1993-Novembre 1994, 43:881-3, 1994.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Update pulmonary hemorrhage/hemosiderosis among infants, Cleveland, 1993-1997, MMWR 46:33-35, 1997
- Croft W.A., Jarvis, B.B. and Yatawara C.S. Airborne outbreak of trichotecene toxicosis. *Atm. Environ.*, 20:549-552, 1986.
- Eduard, W. and Aalen, O., The effect of aggregation on the counting precision of mould spores on filters, *Am. Occup. Hyg.*, 32:471-479, 1988.
- Hintze, J., 2001, NCSS: Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, Utah, SPLUS, Insightful Corporation, Seattle, Washington
- Horner, W.E., Helbling, A., Salvaggio, J.E. *et al.*, Fungal Allergens, *Clin. Microbio. Rev.*, 8:161-179, 1995.
- IOM (Institute of Medicine), Indoor Allergens: Assessing and Controlling Adverse Health Effects, National Academy Press, Washington, DC, 1993.
- Kim, J.L., Elfman, L., Mi, Y., Wieslander, G., Smedje, G. and Norbäck D., Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools-associations with asthma and respiratory symptoms in pupils, *Indoor air*, 17:153-163, 2007.
- Keinheinz G.T., Langolf, B.M. and Englebert, E., Characterization of airborne fungal levels after mold remediation, *Microbiological research*, 161: 367-376, 2006.
- Levetin, E., Fungi in: Bioaerosols, pp. 87-120. H. Burge, Ed. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 1995.
- Marchand, G., Détection moléculaire d'*Aspergillus versicolor* et comparaison avec les méthodes d'analyses de l'air basées sur les cultures et les comptes de conidies, Doctoral thesis, Université Laval, 2006.

- Miller J.D. Mycological Investigation of Indoor Environments, in: Microorganisms in home and Indoor Work Environments, Diversity, Health Impacts, Investigation and Control, Flannigan B., Samson, R.A., Miller, J.D. editors, CRC Press, Boca Raton, 2001.
- Moss O.R. and Kenover J.L. Use and Misues: Operating guide. In Cascade impactor "Sampling and data analysis," Monograph series, Edited by: J.P. Lodge Jr. and T.L. Chan, American Industrial Hygiene Association, Ohio, USA. 1986.
- Neas, L.M., Dockery, D.W., Burge, H., *et al.* Fungus spores, Air Pollutants, and Other Determinants of Peak Expiratory Flow Rate in Children, Am. J. Epidemiology, 143:797-807, 1996.
- Pyrri, I. and Kapsanaki-Gotsi, E., A Comparative study on the airborne fungi in Athens, Greece, by viable and non-viable sampling methods, Aerobiologia, 23:3-15, 2007.
- Sivasubramani, S.K., Niemeier, R.T., Reponen, T. and Grinshpun, S.A., Assessment of the aerosolization potential for fungal spores in moldy homes, Indoor Air, 14:405-412, 2004
- Stetzenbach L.D. and Buttner M.P., Airborne Microorganisms and Indoor Air Quality, In Encyclopedia of Microbiology, Vol 1, Lederberg editor, Second edition, Academic Press, San Diego, CA, 2000.
- Toivola, M., Nevalainen, A. and Alm, S., Personal exposures to particles and microbes in relation to microenvironmental concentrations, Indoor Air, 14:351-359, 2004.