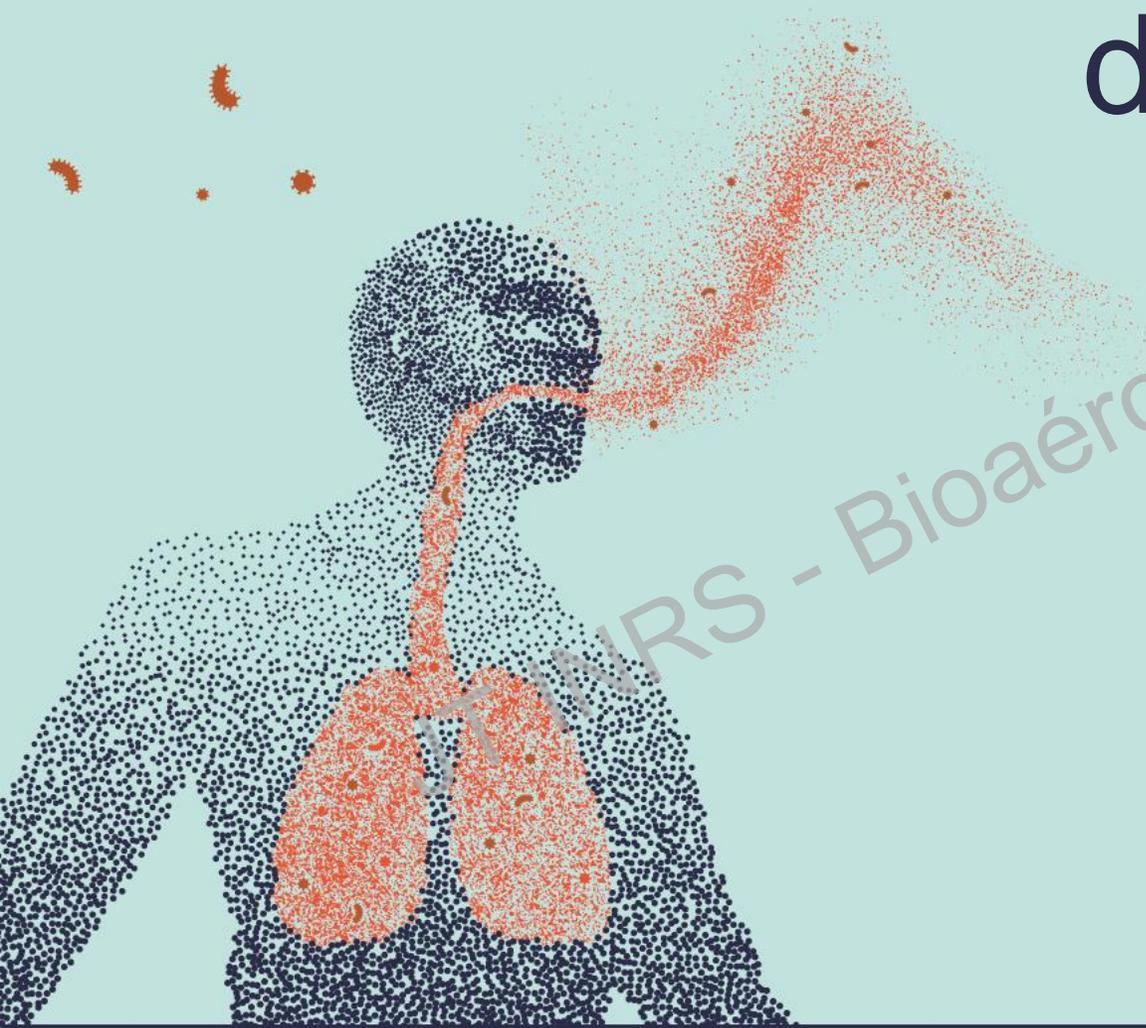


JOURNÉE  
TECHNIQUE



# Méthode de mesure des micro-organismes cultivables

Lise Alonso

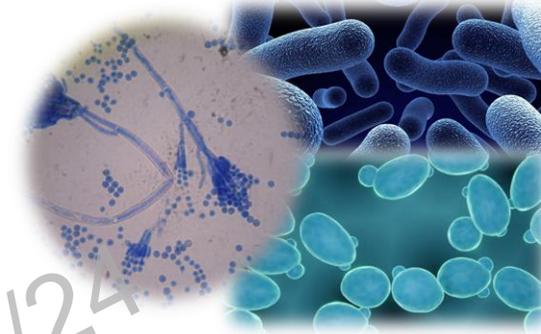


**BIOAÉROSOLS  
AU TRAVAIL**

Mieux les comprendre pour les prévenir

**26** NOVEMBRE 2024

# Introduction



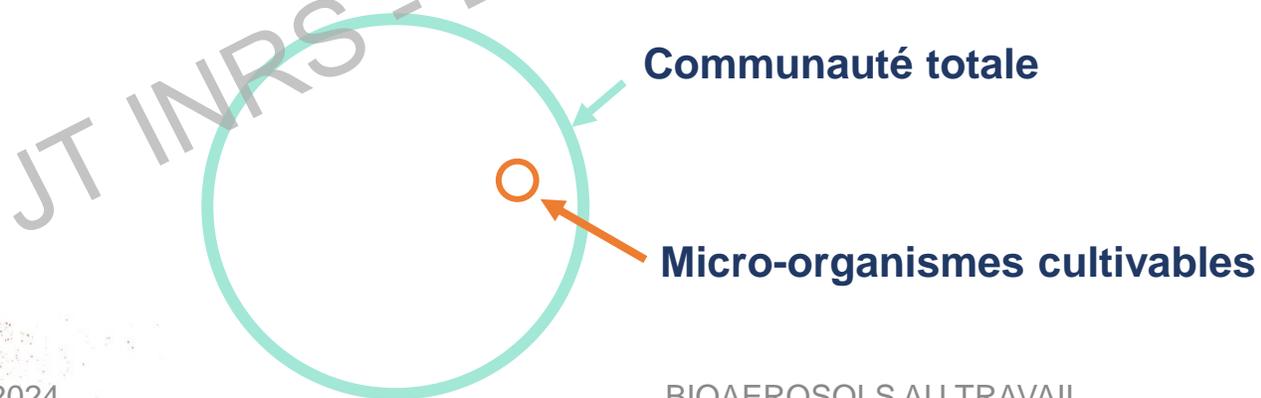
Les **micro-organismes cultivables** sont capables de se développer sur des milieux de culture dans les **conditions de laboratoire** :

- Bactéries
- Moisissures
- Levures

Pour leur croissance, les micro-organismes ont des besoins spécifiques en **nutriments** (sources de carbone, azote, minéraux) et des **conditions environnementales** particulières (température, humidité)

Les micro-organismes sont adaptés à leur environnement, qui peut être complexe

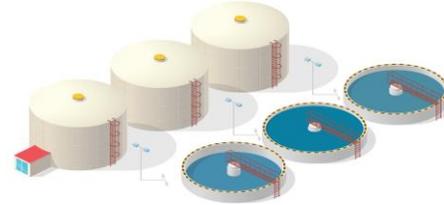
→ **1 à 10%** de la totalité des micro-organismes présents dans l'environnement



# Où les trouve-t-on?



Usines de recyclage



Station d'épuration



Bâtiments, construction



Vétérinaire



Bibliothèque, archives



Secteurs de soins



Agriculture

# Pourquoi les mesurer ?

Sont associés à plusieurs troubles observés chez les travailleurs, symptômes gastro-intestinaux, inflammatoires et immuno-allergiques

Permet d'évaluer l'exposition des travailleurs ou les concentrations microbiennes émises dans l'air à un poste de travail

# Comment les mesurer ?

## Au laboratoire

### ➤ Développement de méthodes

1. **Plan d'expérience** : nombre de répétitions, paramètres à étudier, choix des micro-organismes

2. **Prélèvement**: banc de génération et dispositif de prélèvement

3. **Analyse au laboratoire**

4. **Interprétation des résultats**

## Sur le terrain

### ➤ Validation de méthodes

1. **Préparation de la campagne de mesure**: contact avec l'entreprise, type de prélèvements, nombre de prélèvements, situations de travail à étudier ...

2. **Prélèvement individuel ou d'ambiance** : dispositifs de prélèvement

Transport à 4°C sous 24H

# Comment les générer et les prélever au laboratoire ?

## Banc de génération



Cassette fermée 37 mm avec filtre en polycarbonate + pompe 2L.min<sup>-1</sup>

Durée de prélèvement : 60 min



Micro-organisme seul ou en mélange

# Comment les générer et les prélever au laboratoire ?

## Banc de génération



Cassette fermée 37 mm avec filtre en polycarbonate + pompe  $2L \cdot min^{-1}$

Durée de prélèvement : 60 min



Micro-organisme seul ou en mélange

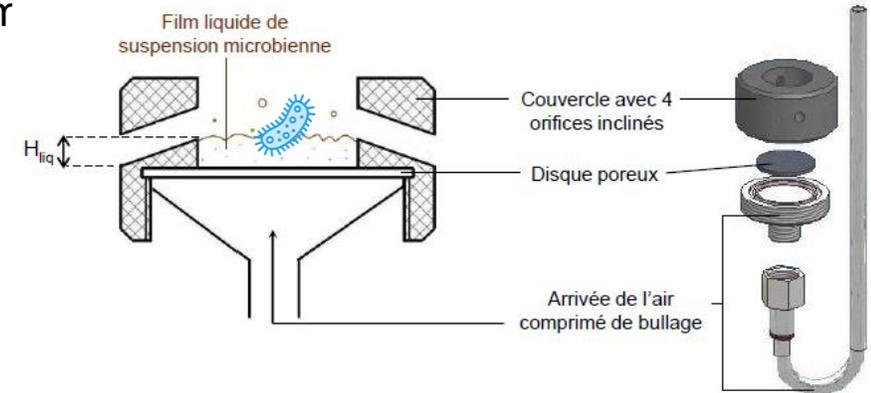
# Comment les générer et les prélever au laboratoire ?

## Banc de génération



Cassette fermée 37 mm avec filtre en polycarbonate + pompe 2L.r

Durée de prélèvement : 60 min



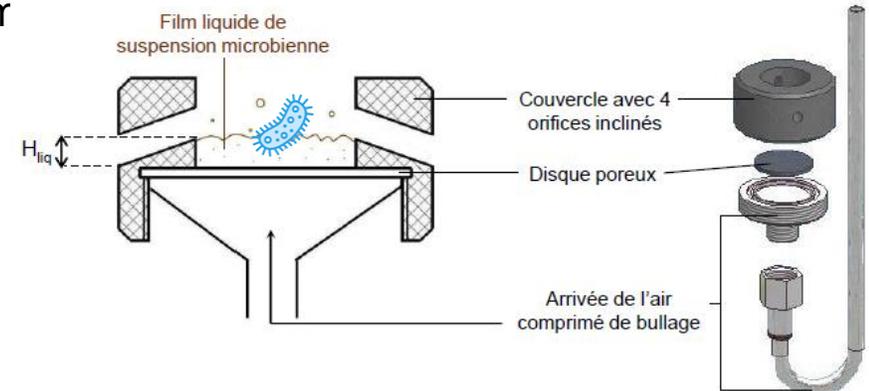
# Comment les générer et les prélever au laboratoire ?

## Banc de génération



Cassette fermée 37 mm avec filtre en polycarbonate + pompe 2L.r

Durée de prélèvement : 60 min



# Comment les prélever sur le terrain?



Cassette fermée 37 mm avec filtre en polycarbonate + pompe 2L.min<sup>-1</sup>

Durée de prélèvement : minimum 4 à 5 h

Prélèvement individuel ou d'ambiance



## Microorganismes aérobies M-147

Prélèvement : Actif sur cassette  
Analyse : comptage  
Données de validation : Validation partielle  
Numéro de la méthode : M-147  
Ancien numéro de fiche : 121

**Méthode MétroPol M-147  
Micro-organismes aérobies  
ou cultivables**

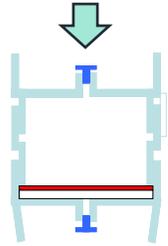
Transport à 4°C et analyse au laboratoire sous 24h

# Comment les analyser ?

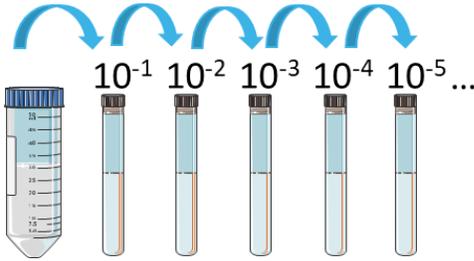


1. Ajout de l'éluat

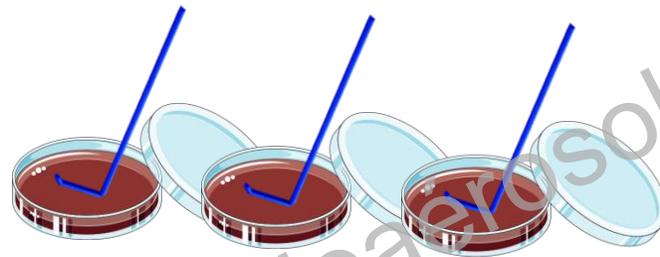
10 ml



2. Agitation 20min à 2000 rpm



3. Dilution en série au dixième

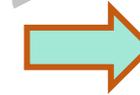


4. Etalement sur milieu bactéries et sur milieu moisissures



5. Incubation à 25°C pendant 3 à 5 jours

6. Dénombrement



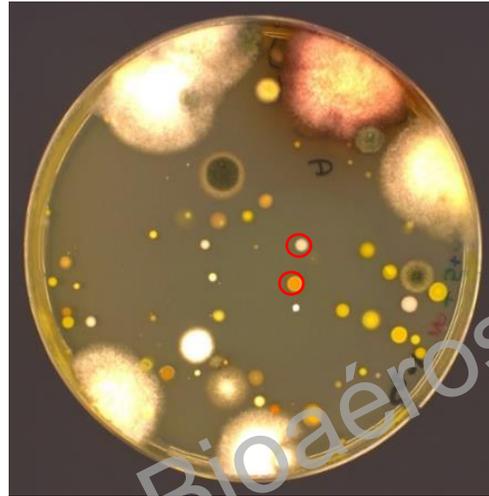
Nombre de colonies par m<sup>3</sup> d'air

## Interprétation des résultats

- Comparaison aux zones de références  
→ zones supposées non contaminées dans le lieu de travail des prélèvements (zones administratives)
- Comparaison avec les valeurs guides définies en 2023

# Limites de la méthode

- Représente seulement 1 à 10 % des micro-organismes présents
- Limites de spécificité



Milieu moisissures  
MEA (Malt Extract Agar)



Milieu bactéries  
TSA (Tryptone Soja Agar)  
+ 0,8% actidione

- Sous-estime potentiellement la concentration réelle en micro-organismes cultivables notamment à cause du processus de compétition

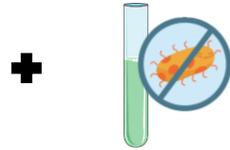
# Amélioration de la méthode

Comparaison de plusieurs milieux de culture avec des concentrations en antimicrobiens différentes

## 5 milieux moisissures

### Moisissures-Levures

MEA BD
MEA Biokar
SDA Biokar
DG18 Biokar
RBC Biokar



Chloramphénicol

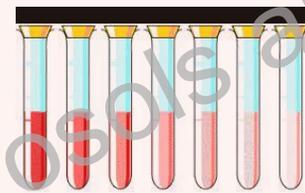
## 4 milieux bactéries

### Bactéries

TSA BD
TSA Biokar
PCA Biokar
NA Biokar



Actidione



Plusieurs concentrations

## Au laboratoire



## Sur le terrain



# Conclusion et méthode complémentaire

Méthode MétroPol M-147 : Micro-organismes aérobies

Méthode **simple** et **peu couteuse**, encore **très utilisée**

Beaucoup de micro-organismes sont adaptés à des environnements naturels complexes difficiles à reproduire

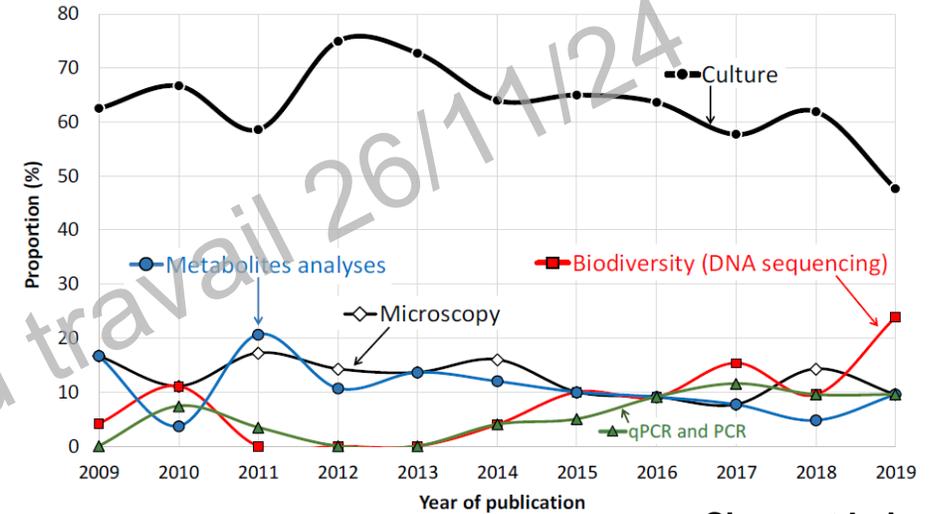
→ 1 à 10 % des micro-organismes présents

→ Durée de l'analyse assez longue : 3 à 5 jours

D'autres méthodes existent, basées sur la **biologie moléculaire**

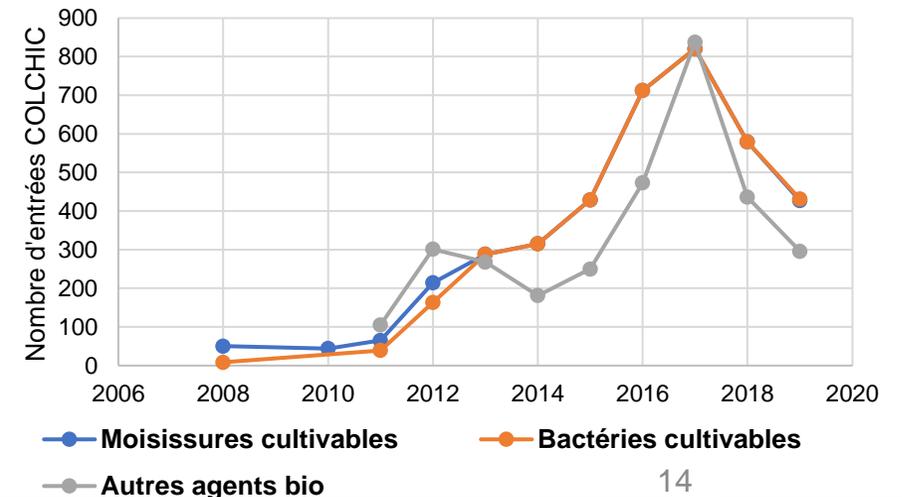
La **PCR quantitative** permet de quantifier la totalité des micro-organismes en se basant sur l'analyse du matériel génétique

## Données de la littérature:



Simon et Loison, 2020

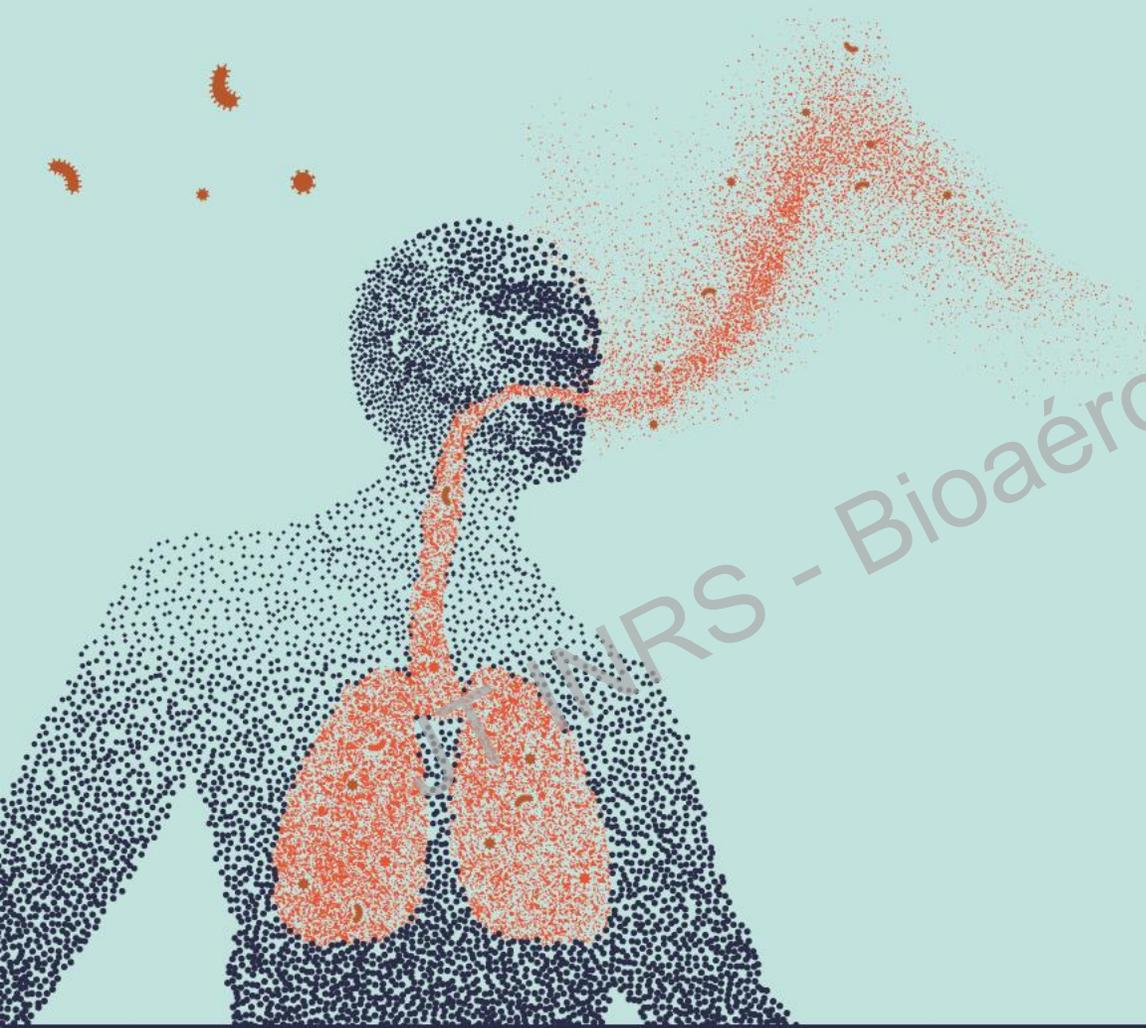
## Données COLCHIC :



JOURNÉE  
TECHNIQUE



Merci pour votre  
attention



INRS - Bioaérosols au travail 26/11/24

**BIOAÉROSOLS  
AU TRAVAIL**

Mieux les comprendre pour les prévenir

**26** NOVEMBRE 2024