

Consignes d'utilisation

Prélèvements pour l'analyse de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. par culture

Analyse :

- Détection et identification des bactéries du genre *Legionella* -Méthode 370

La méthode 370 est une méthode par culture, elle permet la détection des bactéries viables et cultivables du genre *Legionella*.

Matériel d'échantillonnage :

Matériel	# IRSST Inventaire	Matrice
Contenant de prélèvement avec sodium thiosulfate- format de 1L	5567	Échantillons d'eau : eau chaude, spa, piscine, procédé, etc.
Contenant de prélèvement stérile-liquide	5564	Échantillons de procédé liquide : huile de coupe, etc.
Contenant de prélèvement stérile-solide	5566	Échantillons solides : sol, compost, etc.
Écouvillon <ul style="list-style-type: none">• Portoir, pipette, parafilm et sodium thiosulfate fournis	5578	Échantillons de biofilm : parois de bassins, de puits, intérieur de robinetterie, de boyaux, etc.

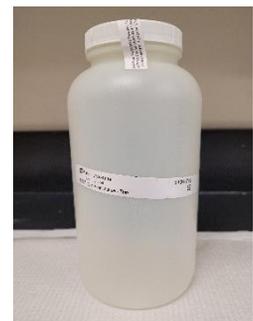
Règles importantes :

1. Toujours se laver et sécher les mains avant d'effectuer un échantillonnage. Le port de gants jetables est recommandé.
2. Lors du prélèvement, respecter les règles de sécurité au niveau de la protection respiratoire s'il y a un risque d'exposition aux bioaérosols (panache des tours de refroidissement à l'eau, bains thérapeutiques, etc.). Référez-vous au Guide sur la protection respiratoire contre les bioaérosols RG-1123.
3. Toujours respecter les conditions d'asepsie nécessaires lors de la prise de l'échantillon (i.e. éviter de mettre les doigts ou tout autre objet à l'intérieur du goulot et du bouchon du contenant et limiter au minimum l'exposition à l'air libre du contenant lors de l'échantillonnage).

Prélèvements :

Prélèvement d'eau effectué à un robinet (eau chaude, douche, etc.)

1. Utiliser les contenants de prélèvements d'un litre avec sodium thiosulfate (**5567**).
2. Nettoyer l'extérieur et l'intérieur du bec du robinet à l'aide d'une lingette à usage unique, imbibée d'une solution commerciale d'eau de Javel (ou autre désinfectant) afin de réduire les risques de contamination de microorganismes interférents.
3. Laisser couler l'eau à débit modéré avant de prélever l'échantillon. Régler la température de l'eau pour un prélèvement d'eau tiède (p. ex. : entre 25 à 45 °C, température plus favorable à la croissance et au maintien de la viabilité des *Legionella* spp.).



Consignes d'utilisation

Prélèvements pour l'analyse de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. par culture

4. Prélever l'échantillon.
 - Veiller à ne pas perdre la pastille de thiosulfate présente à l'intérieur du contenant lors de l'échantillonnage. Ne pas rincer la bouteille.
 - Laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le couvercle.
5. Fermer soigneusement et hermétiquement le contenant après le prélèvement.

Prélèvement d'eau effectué dans un bassin (réservoir, bain thérapeutique, piscine, etc.)

1. Utiliser les contenants de prélèvements d'un litre avec sodium thiosulfate (**5567**).
2. Prélever l'échantillon en plongeant le récipient vers le fond du bassin dans un angle d'environ 45° en un seul mouvement, de l'arrière vers l'avant.
 - Veiller à ne pas perdre la pastille de thiosulfate présente à l'intérieur du contenant lors de l'échantillonnage. Ne pas rincer la bouteille.
 - Laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le couvercle.
3. Fermer soigneusement et hermétiquement le contenant après le prélèvement.

Prélèvement de procédé liquide

1. Utiliser les contenants de prélèvement-liquide de 120 ml (**5564**).
2. Prélever au robinet ou autre selon le cas. S'il s'agit d'un réservoir, plonger le récipient vers le fond dans un angle d'environ 45° en un seul mouvement, de l'arrière vers l'avant.
 - Laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et le couvercle.
3. Fermer soigneusement et hermétiquement le contenant après le prélèvement.



Prélèvement de procédé solide

1. Utiliser les contenants de prélèvement-solide de 120 ml (**5566**).
 2. Désinfecter, avec de l'alcool, les outils qui seront utilisés pour le prélèvement, ou s'assurer d'utiliser des outils préalablement stériles.
 3. Si la superficie à échantillonner est grande, il est conseillé de la séparer en plusieurs parcelles d'un mètre carré environ. Il n'est pas nécessaire d'échantillonner toutes les parcelles. Celles-ci doivent être sélectionnées de façon à ce que l'échantillon soit le plus représentatif possible.
 4. Pour chaque parcelle sélectionnée, prélever des sous-échantillons (par exemple de la taille d'un sou) et les combiner dans le même contenant afin de constituer un seul échantillon.
 - Par exemple, une superficie de 5 m² de sol est séparée en 5 parcelles. Les parcelles 1, 3 et 5 sont sélectionnées. 15 sous-échantillons provenant de chacune de ces parcelles sont prélevés et combinés dans un même contenant.
 5. Un minimum de 20 g d'échantillon doit être prélevé pour l'analyse.
 - Laisser un espace d'air d'au moins 1 cm entre la surface de l'échantillon et le couvercle.
- Note : Les outils de prélèvement doivent être nettoyés à l'alcool entre chaque échantillon.



Consignes d'utilisation

Prélèvements pour l'analyse de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. par culture

Prélèvement de biofilm

Démonstration vidéo : Visionnez la consigne sous forme de vidéo sur le [site web de l'IRSST](#) ou sur [Youtube](#).

Utiliser seulement les écouvillons secs de type Dacron (**5578**) pour le prélèvement de biofilms.

➤ **Robinet ou pomme de douche (eau chaude) :**

1. Enlever l'aérateur du robinet ou la pomme de douche.
2. Faire couler l'eau quelques secondes et fermer le robinet.
3. Insérer l'écouvillon le plus loin possible dans la tuyauterie, en essayant de prélever au-delà du coude.
4. Frotter fermement la surface interne sans briser l'écouvillon.
 - a. Au besoin, prélever aussi le biofilm visible à l'intérieur de l'aérateur ou de la pomme de douche.
5. Prélever un peu d'eau de robinet ou de douche dans le contenant avant d'y insérer l'écouvillon. Remplir jusqu'à environ de 5-6 cm du bas du contenant ou sous la ligne d'étiquette du fabricant. (Voir Figure 1).
6. À l'aide de la pipette jetable fournie, ajouter 1 goutte de solution de sodium thiosulfate 0.1N afin de neutraliser les désinfectants résiduels.
7. Insérer l'écouvillon dans le contenant et appuyer fermement sur le bouchon pour refermer hermétiquement. Sceller le bouchon à l'aide d'un morceau de Parafilm (Voir Figure 2).

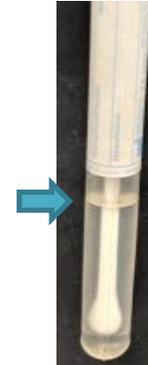


Figure 1



Figure 2

➤ **Jets d'eau de spas ou bains tourbillon :**

1. Prélever les surfaces intérieures des jets d'eau, en insérant l'écouvillon le plus loin possible.
2. Frotter fermement la surface interne sans briser l'écouvillon.
3. Prélever un peu d'eau de spa/bain tourbillon dans le contenant avant d'y insérer l'écouvillon. Remplir jusqu'à environ de 5-6 cm du bas du contenant ou sous la ligne d'étiquette du fabricant. (Voir Figure 1).
4. À l'aide de la pipette jetable fournie, ajouter 1 goutte de solution de sodium thiosulfate 0.1N afin de neutraliser les désinfectants résiduels.
5. Insérer l'écouvillon dans le contenant et appuyer fermement sur le bouchon pour refermer hermétiquement. Sceller le bouchon à l'aide d'un morceau de Parafilm (Voir Figure 2).

➤ **Bassins :**

1. Frotter fermement la paroi interne sans briser l'écouvillon.
2. Prélever un peu d'eau dans le contenant avant d'y insérer l'écouvillon. Remplir jusqu'à environ de 5-6 cm du bas du contenant ou sous la ligne d'étiquette du fabricant. (Voir Figure 1).
3. À l'aide de la pipette jetable fournie, ajouter 1 goutte de solution de sodium thiosulfate 0.1N afin de neutraliser les désinfectants résiduels.
4. Insérer l'écouvillon dans le contenant et appuyer fermement sur le bouchon pour refermer hermétiquement. Sceller le bouchon à l'aide d'un morceau de Parafilm (Voir Figure 2).

Consignes d'utilisation

Prélèvements pour l'analyse de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. par culture

Note : Veillez à ne pas toucher l'intérieur du tube contenant l'écouvillon avec la pipette jetable lors de l'ajout du sodium thiosulfate 0.1N pour éviter les risques de contamination croisée entre les échantillons. En cas de doute, utilisez une nouvelle pipette.

Expédition des échantillons :

- L'envoi de témoin n'est pas nécessaire.
- Les échantillons doivent arriver au laboratoire dans un délai **MAXIMUM de 48 heures** après échantillonnage, accompagnés de votre feuille de demande ClicLab ou du SISAT.
 - Recommandation : Effectuer l'échantillonnage en début de semaine pour permettre la réception des échantillons au plus tard le jeudi.
- S'assurer que les échantillons sont conservés entre 6 °C et 20 °C durant le transport. Prendre les précautions nécessaires pour éviter que les échantillons subissent des températures extrêmes (gel ou chaleur).
 - L'utilisation de blocs réfrigérants (Ice Pack) n'est requise qu'en période estivale seulement. Veiller à ce que le bloc réfrigérant ne soit pas en contact direct avec les échantillons, par exemple en l'enroulant dans du papier essuie-mains.

Références :

Centers for Disease Control and Prevention, 2015. Sampling Procedure and Potential Sampling Site Protocol for collecting environmental samples for Legionella culture during a cluster or outbreak investigation or when cases of disease may be associated with a facility (CS254961-A).

<https://www.cdc.gov/legionella/downloads/cdc-sampling-procedure.pdf>

Kerbel, W., J.D. Krause, B.G. Shelton and J.P. Springston, 2015. Recognition, Evaluation and Control of Legionella in Building Water Systems. American Industrial Hygiene Association, 31 p.

Ouellet, C. et Labrecque, C. (2022). Guide sur la protection respiratoire (Guide n° RG-1123-fr). Montréal, QC : IRSST. <https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/RG-1123-fr.pdf>

Contact : risquesbio@irsst.qc.ca