

Consignes d'utilisation

Prélèvements pour l'analyse de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. par biologie moléculaire — ddPCR

Analyse :

- Détection et quantification des bactéries du genre *Legionella* — Méthode 410

La méthode 410 est une méthode qui utilise la biologie moléculaire, elle permet la détection et la quantification absolue de l'ADN des bactéries viables et non viables du genre *Legionella* par ddPCR.

Matériel d'échantillonnage :

Matériel	N° 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 solide	5566	Échantillons solides : sols, compost, etc.
Écouvillon <ul style="list-style-type: none"> • Portoir, pipette, parafilm et sodium thiosulfate fournis 	5578	Échantillons de biofilm : parois de bassins, de puisards, intérieur de robinetterie, de boyaux, etc.

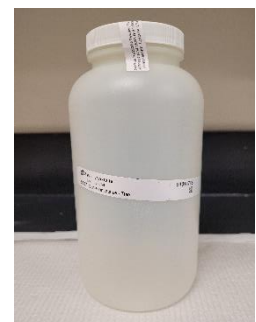
Règles importantes :

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. Référez-vous au Guide sur la protection respiratoire RG-1123.
3. Toujours respecter les conditions d'asepsie nécessaires lors de la prise de l'échantillon (c.-à-d. 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. Au besoin, 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.).
3. 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.
4. Fermer soigneusement et hermétiquement le contenant après le prélèvement.



Consignes d'utilisation

Prélèvements pour l'analyse de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. par biologie moléculaire — ddPCR

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 solide (sols, compost)

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 biologie moléculaire — ddPCR

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 sodium thiosulfate 0.1N afin de neutraliser les désinfectants
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).

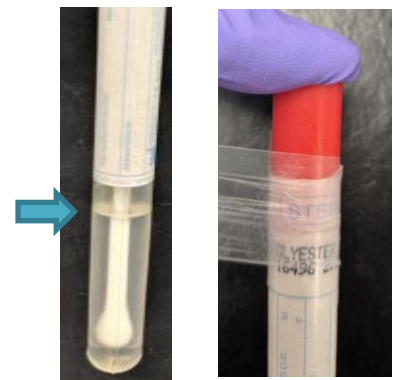


Figure 1

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 fourni, 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 biologie moléculaire — ddPCR

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.
- Il est de la responsabilité du demandeur de faire en sorte que le délai entre le prélèvement et la réception aux laboratoires de l'IRSST soit le plus court possible.
- 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 (2019). *Sampling Procedure and Potential Sampling Sites : 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*. <https://www.cdc.gov/legionella/downloads/cdc-sampling-procedure.pdf>
- 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