

**Centre d'expertise  
en analyse environnementale  
du Québec**



**DR-09-11**

**Protocole d'échantillonnage de l'eau du circuit des tours de  
refroidissement pour la recherche des légionelles**

ÉDITION : 2013-04-18

**Québec** 

## ÉQUIPE DE TRAVAIL

---

### Chargée de projet et rédactrice

Mélanie Robitaille Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

### Réviseurs

Philippe Cantin Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

Gilles Chaperon Société CAPSIS, France

Isabelle Forcier Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

Michel Legris Agence de la santé et de services sociaux de la Capitale-Nationale,  
Direction régionale de santé publique

Geneviève Marchand Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail

Michèle Merchat KoSAMTI, France

Alexandre Routhier Agence de la santé et de services sociaux de la Capitale-Nationale,  
Direction régionale de santé publique

Janet E. Stout Special Pathogens Laboratory et University of Pittsburgh, États-Unis

Isabelle Verret Société immobilière du Québec

### Photographies

Michel Legris Agence de la santé et de services sociaux de la Capitale-Nationale,  
Direction régionale de santé publique

### Mise en page

Vicky Gagnon Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

Nous remercions la Société immobilière du Québec pour l'accès à une tour de refroidissement pour la prise de photographies.

Pour de l'information complémentaire sur les activités du **Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec** ou pour vous procurer nos documents, veuillez consulter notre site Internet à l'adresse suivante : [www.ceaeq.gouv.qc.ca](http://www.ceaeq.gouv.qc.ca) ou communiquer avec nous :

### Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

Complexe scientifique

2700, rue Einstein, bureau E.2.220

Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301

Télécopieur : 418 528-1091

Courriel : [ceaeq@mdefp.gouv.qc.ca](mailto:ceaeq@mdefp.gouv.qc.ca)

Référence bibliographique :

MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT, DE LA FAUNE ET DES PARCS DU QUÉBEC, 2013. *Protocole d'échantillonnage de l'eau du circuit des tours de refroidissement pour la recherche des légionelles*, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 13 p.

<http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/documents/publications/echantillonnage.htm>

Dépôt légal – Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2013

ISBN-978-2-550-67543-3 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2013

# TABLE DES MATIÈRES

Introduction .....	5
1. Planification de l'échantillonnage .....	5
1.1 Coordonnées des laboratoires accrédités pour l'analyse .....	5
1.2 Choix du moment de l'échantillonnage .....	6
1.3 Choix du site d'échantillonnage .....	6
1.4 Précautions pour la santé et la sécurité du préleveur .....	6
1.5 Planification du transport des échantillons .....	6
2. Méthode d'échantillonnage .....	7
2.1 Recommandations générales avant l'échantillonnage .....	7
2.2 Collecte de l'échantillon dans le bassin de réception des fluides de ruissellement de la tour .....	8
2.3 Collecte de l'échantillon par l'intermédiaire d'une valve .....	10
3. Conservation et transport des échantillons .....	11
4. Bibliographie .....	12
Annexe 1 – Matériel pour l'échantillonnage .....	13

Tableau 1 – Agent de conservation, type de contenant, volume d'échantillon et délai de conservation pour la recherche des légionelles .....	5
--	---



# Introduction

Le soin que l'on apporte à l'échantillonnage est essentiel à l'obtention d'un échantillon représentatif et de résultats d'analyse fiables et comparables. Aussi ce protocole fournit-il l'information nécessaire pour planifier et exécuter l'échantillonnage de l'eau dans des circuits avec tours de refroidissement à l'eau (aussi appelées « tours aérorefroidissantes ») pour la recherche des légionelles (*Legionella pneumophila* ou *Legionella* spp.). Il est écrit à l'intention des préleveurs.

## 1. Planification de l'échantillonnage

### 1.1 Coordonnées des laboratoires accrédités pour l'analyse

Le laboratoire qui procédera à l'analyse de l'échantillon fournit les contenants pour l'échantillonnage.

On trouve les coordonnées des laboratoires accrédités par le ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs (MDDEFP) offrant des services d'analyse en microbiologie de l'air<sup>1</sup> dans la liste DR-12-LLA-08 à la page <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/Ila08.htm> (rechercher le domaine 606 qui représente l'analyse des légionelles).

**Tableau 1 – Agent de conservation, type de contenant, volume d'échantillon et délai de conservation pour la recherche des légionelles**

Paramètres d'analyse	Agent de conservation	Type de contenant	Volume d'échantillon suggéré	Délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse
<i>Legionella pneumophila</i> ou <i>Legionella</i> spp.	Thiosulfate de sodium (concentration finale de 100 mg/l)	Contenant stérile en verre ou contenant stérile en plastique non toxique pour les bactéries	Selon la méthode d'analyse du laboratoire – communiquer avec le laboratoire	Le plus court possible, et au plus 48 heures après le prélèvement

Au moment de la communication avec le laboratoire, il est important :

- de demander les contenants d'échantillonnage qui incluent l'agent de conservation;
- de demander le formulaire de demande d'analyse et de comprendre comment le remplir;
- de savoir comment identifier les contenants d'échantillonnage;
- de connaître le meilleur mode d'expédition des échantillons (transporteur);

<sup>1</sup> L'infection par les légionelles se transmet par l'air, ce qui explique que ce paramètre fasse partie du domaine de la microbiologie de l'air. Cela dit, c'est bien l'eau du circuit des tours de refroidissement qui est échantillonnée pour la recherche des légionelles.

- de connaître les heures d'ouverture et les jours les plus appropriés pour la réception des échantillons (par exemple, éviter les vendredis);
- de vérifier s'il y a d'autres renseignements à connaître avant l'échantillonnage.

### **1.2 Choix du moment de l'échantillonnage**

Il faut attendre au moins 48 heures après le dernier traitement de l'eau (désinfection, décontamination, etc.) avant de procéder à l'échantillonnage.

Si des produits de traitement de l'eau sont ajoutés à une fréquence de moins de 48 heures, il faut prendre l'échantillon juste avant le prochain ajout de produit traitant.

Si le traitement de l'eau est en continu, l'échantillonnage peut être fait à tout moment.

### **1.3 Choix du site d'échantillonnage**

L'échantillon d'eau doit être pris à un point du circuit qui soit le plus représentatif possible et hors de l'influence directe de l'eau d'appoint et de l'ajout de produits de traitement s'ils sont ajoutés en continu.

Le bassin de réception des fluides de ruissellement est un endroit où peut se faire l'échantillonnage. Pour cela, suivre la procédure décrite à la section 2.2 Collecte de l'échantillon dans le bassin de réception des fluides de ruissellement de la tour.

Une valve dans le circuit peut aussi être utilisée pour l'échantillonnage. Dans ce cas, suivre la procédure décrite à la section 2.3 Collecte de l'échantillon par l'intermédiaire d'une valve.

### **1.4 Précautions pour la santé et la sécurité du préleveur**

Pour sa protection, le préleveur doit :

- porter des lunettes de sécurité antiéclaboussures;
- porter des gants en latex ou en nitrile neufs et jetables, et changer de gants entre chaque prélèvement si plusieurs prélèvements sont effectués;
- porter un demi-masque neuf et jetable ayant une efficacité de filtration minimale de N95 (certifiée par le National Institute of Occupational Safety and Health [NIOSH])<sup>2</sup>;
- être accompagné d'au moins une personne qui sait faire fonctionner l'installation;
- si l'échantillonnage s'effectue dans le bassin, s'assurer que le risque de contact avec les aérosols soit minimal. Selon la conception de la tour de refroidissement, cela peut impliquer d'arrêter les ventilateurs.

### **1.5 Planification du transport des échantillons**

Le transport des échantillons et leur réception au laboratoire au moment adéquat doivent être planifiés afin que le délai entre l'échantillonnage et l'analyse soit le plus court possible.

<sup>2</sup> Au besoin, se référer au [Guide sur la protection respiratoire contre les bioaérosols](#), IRSST, RG-497, 2007.

## 2. Méthode d'échantillonnage

### 2.1 *Recommandations générales avant l'échantillonnage*

- 2.1.1 Il est important de noter dans le registre d'entretien de la tour de refroidissement toute information sur la présence et la nature des agents de traitement auxquels l'eau du circuit a été soumise (biocide, agent tensio-actif, etc.) qui pourraient affecter l'échantillon, et ce, afin de faciliter l'interprétation des résultats d'analyse.
- 2.1.2 Au moment de l'échantillonnage, l'eau doit être en mouvement dans le circuit depuis suffisamment de temps pour garantir l'homogénéité de l'eau.
- 2.1.3 La lecture de la conductivité de l'eau avant l'échantillonnage permet de déterminer si l'eau du circuit est influencée ou non par l'eau d'appoint<sup>3</sup>.
- 2.1.4 Si la collecte d'échantillon pour l'analyse de chlore résiduel, du pH ou la lecture de paramètres comme la température sont prévues au même moment que la collecte de l'échantillon pour la recherche de légionelles, commencer par prendre l'échantillon pour la recherche des légionelles et procéder ensuite aux autres analyses ou prélèvements qui ne font pas partie de ce protocole.
- 2.1.5 Il faut éviter de contaminer le contenant, son bouchon ou l'intérieur de la valve. Il faut aussi garder l'extérieur du contenant le plus propre possible avant l'échantillonnage.
- 2.1.6 Il faut réduire le plus possible le temps d'ouverture du contenant au moment de la collecte de l'échantillon.
- 2.1.7 Il ne faut pas rincer le contenant fourni par le laboratoire puisqu'il est stérile et qu'il contient un agent de conservation.
- 2.1.8 Il faut laisser un espace vide d'au moins 2,5 cm dans le contenant au-dessus de l'eau échantillonnée et éviter de laisser déborder le contenant en le remplissant afin de ne pas perdre l'agent de conservation.

---

<sup>3</sup> L'eau du circuit de la tour de refroidissement et l'eau d'appoint ont des conductivités différentes. Le rapport de conductivité entre l'eau du circuit de la tour et l'eau d'appoint, pour une eau représentative de l'eau en circulation, est généralement compris entre 2 et 5, selon la norme AFNOR FD T 90-522.

## 2.2 Collecte de l'échantillon dans le bassin de réception des fluides de ruissellement de la tour

1.



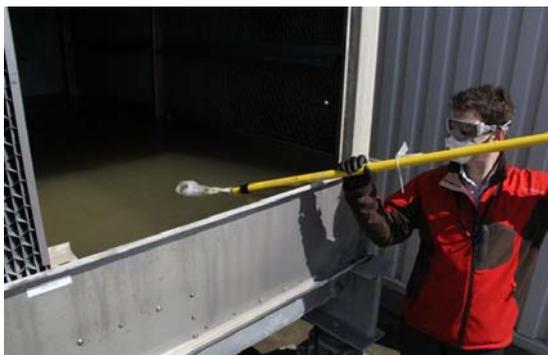
Mettre le masque, les lunettes et les gants.

2. Ouvrir le contenant stérile fourni par le laboratoire.

3.



Remplir le contenant en l'immergeant dans le bassin à un angle de 45° par rapport à la verticale et en laissant l'ouverture à la surface. S'assurer de ne pas renverser l'agent de conservation et laisser un espace vide d'au moins 2,5 cm dans le haut. Prendre garde de ne pas échantillonner des dépôts au fond du bassin.



Si l'eau du bassin est difficile d'accès, il est possible d'utiliser une perche pour prélever l'échantillon.

4.



Fermer le contenant et l'essuyer.

5.



Écrire sur le contenant le numéro d'échantillon.

6. Noter sur le formulaire de demande d'analyse toute information pertinente à l'intention du laboratoire (date, heure, endroit du prélèvement, couleur de l'eau, présence de dépôt, etc.) et au besoin prendre une photo pour documenter l'état de la tour ou l'apparence de l'échantillon par exemple.

## 2.3 Collecte de l'échantillon par l'intermédiaire d'une valve

1. Mettre le masque, les lunettes et les gants.



2. Faire couler l'eau au moins 30 secondes afin de s'assurer que l'eau stagnante dans la canalisation menant à la valve soit purgée et que les conduits soient rincés. Il peut être utile de prévoir un grand contenant comme une chaudière pour recueillir l'eau de purge.



3. Ouvrir le contenant stérile fourni par le laboratoire.

4. Remplir le contenant d'échantillonnage, sans toucher la valve, en laissant un espace vide d'au moins 2,5 cm dans le haut et en s'assurant de ne pas renverser l'agent de conservation. Essuyer le contenant s'il a été mouillé.



5. Écrire sur le contenant le numéro d'échantillon.
6. Noter sur le formulaire de demande d'analyse toute information pertinente à l'intention du laboratoire (date, heure, endroit du prélèvement, couleur de l'eau, présence de dépôt, etc.) et au besoin prendre une photo pour documenter l'apparence de l'échantillon par exemple.

### 3. Conservation et transport des échantillons



Pour leur transport, les échantillons doivent être déposés à l'abri de la lumière, dans une boîte rigide comme une glacière. Pour les protéger des chocs, il est souhaitable d'immobiliser les échantillons par du matériel de remplissage. Le formulaire de demande d'analyse et tout autre document pertinent pour le laboratoire peuvent être déposés à l'intérieur, si possible dans un sac ou un plastique protecteur.

Les échantillons sont transportés à la température ambiante et n'ont pas à être refroidis. Il faut prendre les précautions pour éviter que les échantillons subissent des températures extrêmes.



Du ruban adhésif ou un autre moyen devrait être utilisé pour garder la boîte de transport fermée jusqu'à son arrivée au laboratoire.

Le transport des échantillons jusqu'au laboratoire doit être fait dans un délai le plus court possible et ne dépassant pas 48 heures.

*Note au laboratoire : Si le laboratoire reçoit les échantillons plus de 24 heures après leur prélèvement, il devrait les garder réfrigérés avant leur analyse afin d'éviter le développement de flore interférente à la recherche des légionelles.*

## 4. Bibliographie

Agence de la santé et des services sociaux de la Capitale-Nationale, Écllosion de légionellose dans la ville de Québec, Québec, Canada, été 2012, Agence de la santé et des services sociaux de la Capitale-Nationale, Direction régionale de santé publique, 2012, 145 p.

AS/NZS 3666.3, Air-handling and water systems of buildings — Part 3 : Performance-based maintenance of cooling water systems, Australie et Nouvelle-Zélande, 2011.

ASTM D5952 — 08 Standard guide for the inspection of water systems for Legionella and the investigation of possible outbreaks of Legionellosis (Legionnaires' disease or Pontiac fever).

Barbaree, JM, Gorman, GW, Martin, WT, Fields, BS, Morrill, WE. Protocol for sampling environmental sites for legionellae. *Appl Environ Microbiol.* 1987;53:1454-8.

Environment Agency (National Laboratory Service), The determination of Legionella bacteria in waters and other environmental samples — Part 1 — Rationale of surveying and sampling, Royaume-Uni, 2005.

Guide technique de prélèvement pour la recherche de Legionella dans les eaux, FD T90-522, Association française de normalisation (AFNOR), France, juillet 2006.

Guide des bonnes pratiques, Legionella et tours aérorefrigérantes, Ministères en charge de la Santé, de l'Industrie et de l'Environnement, Direction générale de la santé, France, juin 2001.

Recherche et dénombrement des *Legionella* Partie 2 : Méthode par filtration directe sur membrane pour les eaux à faible teneur en bactéries, NF EN ISO 11731-2 (reproduction intégrale de la norme ISO 11731-2 :2004), Association française de normalisation (AFNOR), France, juillet 2008.

## Annexe 1 – Matériel pour l'échantillonnage

Objet	Cocher
Lunettes de sécurité antiéclaboussures	
Gants en latex ou en nitrile neufs et jetables	
Demi-masque neuf et jetable ayant une efficacité de filtration minimale de N95 (NIOSH)	
Contenant d'échantillonnage stérile avec agent de conservation fourni par le laboratoire	
Papier absorbant pour essuyer le contenant après l'échantillonnage	
Boîte rigide de transport pour l'échantillon	
Formulaire de demande d'analyse du laboratoire dans un plastique ou un sac protecteur	
Crayon indélébile	
Stylo	
Ruban adhésif ou autre pour garder la boîte de transport fermée	
Caméra (facultatif)	
<b>Si l'échantillonnage se fait par une valve, ajouter</b>	
Chaudière pour l'eau de purge (facultatif)	

**Centre d'expertise  
en analyse  
environnementale**

**Québec** 