

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, donc 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, tour de refroidissement (TRE), 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 sec stérile de type Dacron	5578	Échantillons de biofilm
Solution de Sodium Thiosulfate 0.1N	Sur demande	
Formulaire de Demande d'analyse Tour-RBQ	1621	

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-497.
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).
4. Utiliser de l'alcool afin de désinfecter les outils qui seront utilisés pour le prélèvement des solides.

Prélèvements :

Prélèvement effectué pour une tour de refroidissement à l'eau (règlement du RBQ)

1. Utiliser les contenants de prélèvements d'un litre avec sodium thiosulfate (5567).
2. Les échantillons doivent être prélevés selon les instructions du « Protocole d'échantillonnage de l'eau du circuit des tours de refroidissement pour la recherche des légionelles » (DR-09-11) disponible sur le [site web du CEAEQ](#).

- **Important** : Attendre 48 heures après un traitement choc avant de faire un prélèvement.

Consignes d'utilisation

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

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 du robinet à débit modéré au moins 2 à 3 minutes avant de prélever l'échantillon.
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 stérile- liquide (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 stérile- solide (5566).
2. Prélever de petites quantités de solide (sol, compost, etc.) à différents endroits à l'aide d'une cuillère ou autre instrument propre et/ou préalablement désinfecté. Remplir le contenant.
 - 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.

Consignes d'utilisation

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

Prélèvement de biofilm

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

➤ **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. 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).

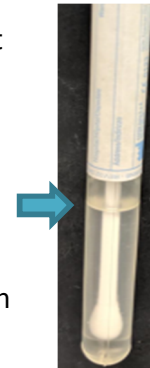


Figure 1



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. 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).

➤ **Tour de refroidissement à l'eau (TRE) :**

1. Les surfaces suivantes peuvent être échantillonnées pour vérifier la présence de *Legionella* spp.: Bassin de collection, puisard et toutes surfaces qui demeurent humides.
2. Frotter fermement la surface interne sans briser l'écouvillon.
3. 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).
4. 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).

Consignes d'utilisation

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

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 et ne dépasse pas 48 heures.
 - Il est préférable d'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.
- Pour les demandes d'analyse d'échantillon de tour de refroidissement (RBQ), veuillez conserver la copie rose et retourner les autres copies avec les échantillons. Les sections 1 à 5 doivent être complétées (un formulaire par tour de refroidissement).

Référence :

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.

Lavoie, J., Y. Cloutier, J. Lara, G. Marchand , Avril 2007. Guide sur la protection respiratoire contre les bioaérosols. Recommandations sur le choix et l'utilisation (RG-497). IRSST, 30 p.

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>

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>