



I. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les modalités de prélèvement d'eau sanitaire (eau chaude et eau froide) pour la recherche et le dénombrement de légionelles.

Il s'applique aux personnes habilitées.

II. Responsabilités

L'application de ce mode opératoire est sous la responsabilité du responsable du laboratoire d'Hygiène Hospitalière.

III. Références internes et externes

1. Références internes :

Procédure d'habilitation : [LAB-PBIO-QUAL-PRO-002](#)

Habilitation Prélèvement eau sanitaire - Recherche de Legionelles : [LAB-BVHPM-HYGH-ENR-058](#)

Procédure pré-analytique-Laboratoire d'Hygiène Hospitalière-BVHPM : [LAB-BVHPM-HYGH-PRO-008](#)

Procédure analytique recherche et dénombrement *Legionella* (eaux) : [LAB-BVHPM-HYGH-PRO-015](#)

Mode opératoire – Habilitation au prélèvement d'eau chaude sanitaire - recherche et dénombrement de Legionelles : [LAB-BVHPM-HYGH-MOP-032](#)

Liste des personnes habilitées au prélèvement d'eau chaude sanitaire pour la recherche et dénombrement de légionelles : [LAB-BVHPM-HYGH-ENR-035](#)

Fiche de prélèvement d'eau - recherche et dénombrement de légionelles : [LAB-BVHPM-HYGH-ENR-001](#)

Bon d'intervention- Prélèvement d'eau- Recherche de légionelles : [LAB-BVHPM-HYGH-ENR-081](#)

Légionelle-Distribution flacon –prélèvement 1^{er} jet : [LAB-BVHPM-HYGH-MOP-077](#)

2. Références externes :

NF-EN ISO 19458 – novembre 2006 : Qualité de l'eau – Echantillonnage pour analyse microbiologique

FD T 90-520 – Octobre 2005 : Qualité de l'eau - Guide Technique de prélèvement pour le suivi sanitaire des Eaux en application du Code de Santé Publique.

FD T 90-522 – Février 2022 : Qualité de l'eau - Guide Technique de prélèvement pour la recherche de *Legionella* dans les eaux.



Arrêté du 1er février 2010 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire

Circulaire DGS/SD7A/SD5C/DHOS/E4 n° 2002/243 du 22 avril 2002 relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements de santé

IV. Abréviations – définitions

ECS = Eau Chaude Sanitaire

V. Contenu

V-1 Matériel et étape préalable au prélèvement

Les flacons et les fiches de prélèvement sont préparés par le personnel du laboratoire.

En fonction du site de prélèvement, les préleveurs, plombiers habilités sur chacun des sites du CHRU de Brest, Carhaix, Quimper et de Concarneau, récupèrent le matériel :

Pour Brest : - à la Cavale Blanche (plateau technique automatisé du pôle de Biologie-Pathologie)
- à Morvan (local central de dépôt au rez-de-chaussée du bâtiment 7, à proximité du local des vaguemestres). Le matériel est alors acheminé par les navettes internes au CHU.

Pour Carhaix, Quimper et Concarneau, le matériel est envoyé par les navettes spécifiques.

Le matériel est transporté dans des conditions permettant d'assurer son intégrité (caisse en plastique pour le matériel listés ci-dessous et dans sa boîte d'origine pour le thermomètre).

Pour les prélèvements effectués par le personnel habilité du laboratoire, un véhicule de l'établissement est mis à disposition après réservation.

- Disposer du matériel suivant :
 - ✓ Savon Doux ou Désinfectant pour les mains (Produit Hydro-Alcoolique)
 - ✓ Masque
 - ✓ Désinfectant et fireboy (petit chalumeau)
 - ✓ Essuie main à usage unique
 - ✓ Marqueur toute surface, stylo, étiquette
 - ✓ Thermomètre pouvant relever une température allant jusqu'à 80°C (thermomètre contrôlé)
 - ✓ Minuteur
 - ✓ Flacon d'un litre stérile fourni par le laboratoire
 - ✓ Flacon pour la prise de température de l'eau (si prise d'eau de premier jet en cas de légionellose nosocomiale).
- Identifier le point de puisage.
- Enlever les bijoux, se laver les mains.



- Mettre un masque si prélèvement dans le cadre d'une suspicion de légionellose nosocomiale.
- Pendant le prélèvement, le bouchon du flacon ne doit pas entrer en contact avec aucun élément (doigts, sol, poche, ...)
- Remplir le flacon stérile avec un volume compris entre 0.5 L et 0.8 L (1 L pour le contrôle d'exposition – 1^{er} jet)

Remarque :

Ne jamais prendre la température dans le flacon destiné à l'analyse.

Ne pas faire déborder l'eau du flacon

Ne pas toucher le col et l'intérieur du bouchon

- Renseigner la feuille de prélèvement.
- Chaque flacon doit être clairement identifié.

V-2 Dispositions générales pour chaque type de prélèvement

Pour chaque type de prélèvement, renseigner la feuille de prélèvement et identifier clairement le flacon.

1) EAU CHAUDE SANITAIRE (ECS) - PRELEVEMENT SUR LE POINT D'USAGE (DOUCHE, DOUCHETTE, ROBINET...)

Prélèvement sur le 1^{er} jet :

Dans le cadre d'une **légionellose nosocomiale** ou d'un **contrôle de l'exposition de patients** :

Le prélèvement est réalisé dans des flacons portant une étiquette 1^{er} jet ([LAB-BVHPM-HYGH-MOP-077](#))

- S'assurer que le point de prélèvement n'a pas été utilisé depuis la veille.
Si oui, le signaler sur la fiche de renseignement. Se désinfecter les mains avec le Produit Hydro Alcoolique.
- Prélever l'eau chaude ou mitigée (sans écoulement préalable, sans démontage ni désinfection du point de puisage),
- Remplir le flacon stérile avec 1 Litre **sans faire déborder l'eau**.
- Laisser un volume mort afin de pouvoir mélanger l'échantillon.
- Veiller à ne pas toucher avec les doigts le col et l'intérieur du bouchon
- Prélever un deuxième flacon pour la prise de température,
- noter la température prise dans ce flacon

Prélèvement après écoulement :

Dans le cadre d'un **contrôle des conditions de maîtrise du réseau** d'eau chaude sanitaire (ou qualité de l'eau du réseau).



- Couper l'eau froide à l'alimentation (être accompagné d'un plombier ; si la coupure est impossible le noter et poursuivre le prélèvement).
- Faire couler l'eau jusqu'à stabilisation de la température et dans la limite de 2 à 3 minutes (minuteur)
- Noter la valeur de la température.
- Se désinfecter les mains avec le produit hydro alcoolique.
- Remplir le flacon stérile avec un volume compris entre 0.5 L et 0.8 L **sans faire déborder l'eau.**
- Laisser un volume mort afin de pouvoir mélanger l'échantillon.
- Refermer le flacon en veillant à ne pas toucher avec les doigts le col et l'intérieur du bouchon.
- Ne pas oublier de remettre l'eau froide en circuit

2) PRELEVEMENTS SUR LES POINTS TECHNIQUES (PRODUCTION D'EAU CHAUDE)

Fond de ballon :

- Couper l'eau froide à l'alimentation si ballon unique (être accompagné d'un plombier ; si la coupure est impossible le noter et poursuivre le prélèvement).
- Faire couler l'eau à grand débit quelques secondes pour chasser les dépôts de la canalisation d'évacuation.
- Réduire le débit et prendre la température jusqu'à sa stabilisation et noter sa valeur.
- Couper l'eau.
- Désinfecter le point de prélèvement par flambage (ou avec un désinfectant si embout plastique).
- Refaire couler l'eau quelques secondes (pour refroidir le robinet en cas de flambage et pour éliminer les traces de désinfectant).
- Se désinfecter les mains avec le produit hydro alcoolique.
- Remplir le flacon stérile avec un volume compris entre 0.5 L et 0.8 L **sans faire déborder l'eau**
- Laisser un volume mort afin de pouvoir mélanger l'échantillon.
- Refermer le flacon en veillant à ne pas toucher avec les doigts le col et l'intérieur du bouchon.
- Ne pas oublier de remettre l'eau froide en circuit.

Retour de boucle :

- Faire couler l'eau à grand débit quelques secondes.



- Réduire le débit et prendre la température jusqu'à sa stabilisation et noter sa valeur.
- Couper l'eau
- Désinfecter le point de prélèvement par flambage (ou avec un désinfectant si embout plastique)
- Refaire couler l'eau quelques secondes (pour refroidir le robinet en cas de flambage et pour éliminer les traces de désinfectant).
- Se désinfecter les mains et prélever un volume compris entre 0.5 L et 0.8 L **sans faire déborder l'eau.**
- Laisser un volume mort afin de pouvoir mélanger l'échantillon.
- Refermer le flacon en veillant à ne pas toucher avec les doigts le col et l'intérieur du bouchon
- Ne pas oublier de remettre l'eau froide en circuit.

3) **EAU FROIDE - PRELEVEMENT SUR LE POINT D'USAGE**

Dans le cas de l'eau froide, prélever l'eau au niveau d'un robinet simple bec, si possible.

En effet, un prélèvement effectué sur un mélangeur ou mitigeur risque d'entraîner la flore périphérique liée à l'eau chaude.

Prélèvement sur le 1^{er} jet :

Dans le cadre d'une **légionellose nosocomiale** ou d'un **contrôle de l'exposition de patients** :

- S'assurer que le point de prélèvement n'a pas été utilisé depuis la veille.
Si oui, le signaler sur la fiche de renseignement. Se désinfecter les mains avec le Produit Hydro Alcoolique.
- Prélever l'eau froide (sans écoulement préalable, sans démontage ni désinfection du point de puisage),
- Remplir le flacon stérile avec 1 Litre **sans faire déborder l'eau** .
- Laisser un volume mort afin de pouvoir mélanger l'échantillon.
- Veiller à ne pas toucher avec les doigts le col et l'intérieur du bouchon
- Prélever un deuxième flacon pour la prise de température,
- noter la température prise dans ce flacon

Prélèvement après écoulement :

Dans le cadre d'un **contrôle des conditions de maîtrise du réseau** d'eau froide (ou qualité de l'eau du réseau).

- Couper l'eau chaude à l'alimentation (être accompagné d'un plombier ; si la coupure est impossible le noter et poursuivre le prélèvement).



- Faire couler l'eau jusqu'à stabilisation de la température et dans la limite de 2 à 3 minutes (minuteur)
- Noter la valeur de la température.
- Se désinfecter les mains avec le produit hydro alcoolique.
- Remplir le flacon stérile avec un volume compris entre 0.5 L et 0.8 L **sans faire déborder l'eau.**
- Laisser un volume mort afin de pouvoir mélanger l'échantillon.
- Refermer le flacon en veillant à ne pas toucher avec les doigts le col et l'intérieur du bouchon.
- Ne pas oublier de remettre l'eau chaude en circuit

Toute détection d'une non-conformité lors de la réalisation du prélèvement doit être tracée et écrite sur la fiche de prélèvement au niveau de la ligne remarque (cf chapitre V-3) ex : flacon périmé, flacon non serti...

V-3 Fiche de prélèvement

Identifier clairement le flacon de manière unique et remplir la fiche de prélèvement avant ou immédiatement après le prélèvement (une fiche par prélèvement).

Cette fiche de prélèvement comporte les éléments suivants :

- la date et l'heure du prélèvement,
- le nom du préleveur,
- les coordonnées du site (établissement, bâtiment, étage),
- les références et localisations des points de prélèvement,
- le type d'installation (douche, lavabo ou autre...),
- la désinfection ou non du point de prélèvement,
- le type de désinfection (flambage, désinfectant de surface...),
- la fréquence d'utilisation des postes de puisage avant les prélèvements,
- le démontage ou non du point de prélèvement,
- la présence ou l'absence de tartre,
- la nature du désinfectant si le réseau est traité*en interne et la date du traitement,
- la nature de l'eau : chaude /froide/ mitigée / après écoulement / premier jet,
- la température de l'eau du premier jet ou après stabilisation.
- les éventuels problèmes rencontrés susceptibles d'affecter la qualité microbiologique de l'eau.
- Remarques éventuelles : cet item peut être utilisé pour notifier la détection d'une non-conformité.



*L'utilisation de désinfectants (traitement interne à l'établissement) dans le cadre d'un traitement du réseau (chlore, brome, ozone ou autre) doit être déclarée car elle peut conduire à une sous-estimation, voire une inhibition de la culture de *Legionella*.

Important : Reporter le numéro attribué au flacon sur sa fiche de prélèvement.

Fiche de prélèvement d'eau - recherche et dénombrement de légionelles [LAB-BVHPM-HYGH-ENR-001](#)

V-4 Acheminement et dépôt des prélèvements

Eau chaude sanitaire (ECS) et eau froide:

Les échantillons prélevés doivent être remis au maximum le lendemain du prélèvement au laboratoire d'hygiène à la plateforme du pôle de biologie à la Cavale Blanche. Lesensemencements doivent être réalisés le plus rapidement possible et au maximum le lendemain du prélèvement, le transport et la conservation de l'échantillon sont réalisés à température ambiante dans une caisse en plastique non réfrigérée. En cas de réception tardive d'échantillon liée à un événement imprévisible, les analyses peuvent être réalisées le surlendemain du prélèvement.

Les prélèvements sont transportés soit par le système de navette interne du CHU ou les navettes pour Carhaix et Quimper, soit directement au pôle Biologie-Pathologie de la Cavale Blanche par le préleveur. La réception (date et heure) est reportée sur la fiche de Prélèvement.

Les prélèvements sont enregistrés dans GLIMS avec la production de 9 étiquettes pour le suivi analytique.

Procédure pré-analytique - [LAB-BVHPM-HYGH-PRO-008](#)

Procédure analytique - [LAB-BVHPM-HYGH-PRO-01](#)

V-5 : En cas de changement dans la norme

Tout changement dans la norme concernant le prélèvement fera l'objet d'une information par mail ou par réunion des préleveurs.

VI. Annexes

Sans objet