



MÉTHODE	VERSION	DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR	
E-IV-1	2	10-12-2023	
<b>Recherche et dénombrement des Legionella et Legionella pneumophila</b>			
DESCRIPTIF			
Paramètres	légielles		
Références normatives	ISO 11731	2017	
	NFT 90-431	2017	
DOMAINE D'APPLICATION			
Matrice	Tous types d'eaux		
CRITÈRES DE PERFORMANCE			
Incertitude (relative) de la mesure	Voir l'annexe H de l'ISO 11731		%

## 1. Objet

Cette procédure décrit la méthode de recherche et de dénombrement de Legionella et Legionella pneumophila.

## 2. Procédure

L'ensemble des prescriptions des normes de référence sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix des normes de référence. Elles sont reprises dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA ». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans les normes de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescriptions normes de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
<b>Mode opératoire</b>	
(§8.1 Echantillons)	<p>Deux circulaires relatives au dénombrement des légionelles ont été éditées en 2018. La première concerne la détection et le dénombrement des légionelles dans les eaux sanitaires des piscines (Arrêtés du Gouvernement wallon déterminant les conditions sectorielles et intégrales relatives aux bassins de natation) ; la seconde concerne la détection de <i>Legionella</i> dans les eaux de tours aëroréfrigérées.</p> <p>Chacune de ces 2 circulaires fournit une matrice de décision permettant de définir la méthode à appliquer, en fonction du type d'échantillons (eau connue et non connue).</p> <p>Les 2 matrices de décision sont reprises à l'Annexe 1 de cette fiche.</p> <p>La NFT 90-431 peut également être appliquée pour autant que pour les eaux propres inconnues, celles-ci soient traitées comme des eaux sales telles que définies dans cette norme.</p>
(§8.4.7 Examen des boîtes)	<p>Les boîtes sont observées plusieurs fois au cours de l'incubation :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les boîtes peuvent être examinées une première fois, le 2ème ou 3ème jour afin de vérifier si les interférents ne sont pas trop nombreux sur tous les traitements et de réaliser une dilution immédiatement.</li> <li>• Elles sont examinées entre le 3ème et 5ème jour, et les colonies caractéristiques de chaque type sont dénombrées.</li> <li>• Une dernière lecture est réalisée en fin d'incubation (entre le 9ème et 10ème jour).</li> </ul>
Remarque supplémentaire : dilutions	<p>L'observation de la culture après 2 jours d'incubation peut mettre en évidence la présence d'une flore interférente abondante. Dans ce cas, des dilutions 1/10 (ou plus) du concentrât ou de l'échantillon brut avec le diluant R 1:40 peuvent être réalisés.</p>
(§8.5 Confirmation des colonies présumptives de Legionella sur milieux de culture : géloses BCYE et BCYE sans cys)	<p>L'appartenance de chaque type de colonie à l'espèce <i>Legionella pneumophila</i> est confirmée par un test immunochromatographique ou sérologique.</p> <p>La cassette immunochromatographique (Virapid Legionella) détermine l'appartenance de la bactérie au genre <i>Legionella</i>, à l'espèce <i>Legionella pneumophila</i> séro groupe 1 ou sérogroupes 2 à 15. Utilisation Cf. notice du fabricant.</p> <p>Lorsqu'une confirmation doit être obtenue rapidement, ce test peut être entrepris sur des colonies bien isolées apparues sur les gélosesensemencées avec l'échantillon.</p>
<b>Rapport d'essai</b>	

<p>(§10 Rapport d'essai)</p>	<p>Le rapport doit contenir au minimum :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• une référence à la présente méthode de la Région wallonne et à la méthode normalisée</li> <li>• l'identification complète de l'échantillon, avec précision du lieu de prélèvement la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client</li> <li>• la date d'analyse</li> <li>• les résultats du dénombrement et les éventuelles mesures de terrain (conductivité, t°, pH,...)</li> <li>• les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.</li> </ul>
<p><b>Assurance de qualité</b></p>	
<p>(§11 Assurance de qualité)</p>	<p>Le contrôle de qualité des essais sera réalisé par :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• le contrôle de performance du milieu de culture (productivité, sélectivité, spécificité) selon l'ISO 11133:2014</li> <li>• le contrôle des conditions d'essais : délais entre le prélèvement et l'analyse, condition de conservation des échantillons, qualité des milieux de culture, surveillance des températures d'incubation,...</li> <li>• la vérification de l'asepsie de l'environnement : témoin (filtration de 100ml de solution de Ringer et incubation parallèlement aux échantillons)</li> <li>• l'utilisation de matériaux de référence quantifiés et établissement d'une carte de contrôle</li> <li>• le contrôle externe par la participation à des exercices interlaboratoires.</li> </ul>

### 3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédentes sont :

- L'adaptation de la méthode suite à la parution de la nouvelle version de l'ISO 11731 en 2017
- L'introduction des matrices de décision
- La référence aux 2 circulaires éditées en 2018 : circulaire du 9 juillet 2018 relative à la détection de Legionella pneumophila dans le cadre du contrôle des piscines et circulaire du 13 novembre 2018 relative au contrôle des légionelles dans les tours aérorefrigérantes
- Suite aux commentaires de l'enquête, ajout de la référence à la NFT 90- 431: 2017

### 4. Annexes

Nom	Télécharger
E-IV-1_V2_annexe1.pdf	Télécharger