

Maîtrise du risque légionelles par désinfection au point d'usage : apport de la technologie Behring™ - Essais à l'échelle pilote

Marie-Cécile Trouilhé,

Docteur, Ingénieur de Recherche au CSTB

Xavier Pellet, Docteur-Ingénieur,

Directeur de la Société RC-Lux

ABSTRACT

Control of Legionella risk by disinfection at point of use: contribution of Behring™ technology - Pilot scale testing.

The contamination of hot water distribution systems by Legionella causing acute pneumonia or Legionnaires'disease is a major public health problem. The physical and chemical disinfection methods have shown their limitation and a transitory efficiency. Therefore, the RC-Lux company has developed an innovative water disinfection at point of use. The Behring™ method combines hydrodynamic cavitation to crush the bacterial aggregates in water and a UV-specific treatment with intermittent flow. Tests conducted at the pilot scale show reduction rates of 5 log units of cultivable Legionella concentrations in distributed water from the first drops. This new device of terminal water treatment is a major interest in the fight against "Legionella risk" whose control was strengthened since the Order of the 1st February 2010.

La contamination des réseaux d'eau chaude sanitaire par des légionelles engendrant une pneumopathie aigüe ou légionellose représente un problème majeur de santé publique. Les procédés de désinfection physiques ou chimiques ont montré leurs limites et une efficacité transitoire. Dans ce cadre-là, la société RC-Lux a développé une technologie innovante de désinfection des eaux au point d'utilisation. Le procédé Behring™ associe une cavitation hydrodynamique pour dissocier les agrégats bactériens présents dans l'eau et un traitement UV spécifique au débit intermittent. Des essais menés à l'échelle pilote, ont montré des taux d'abattement supérieurs à 5 unités log des concentrations en légionelles cultivables dans l'eau distribuée et ceci dès les premières gouttes. Ce nouveau dispositif de traitement terminal de l'eau est d'un intérêt majeur dans le cadre de la lutte contre le « risque légionelles » dont le contrôle s'est renforcé depuis l'arrêté du 1^{er} février 2010.

Décrites depuis plus de 30 ans, les légionelles, bactéries pathogènes pour l'Homme, engendrent des pneumopathies aigües ou légionellose encore appelée maladie du légionnaire (Fraser et al., 1977). La légionellose est généralement mortelle dans 15 à 30 % des cas (Fields et al., 2002). En France, la maladie est à déclaration obligatoire depuis 1987. Au cours de la dernière décennie, le nombre de cas enregistré est en augmentation ce qui s'explique principalement par une amélioration de la surveillance et du diagnostic mais aussi par des risques d'exposition plus importants. En 2008, les autorités sanitaires ont enregistré 1244 cas de légionelloses dont 11 % mortels. Les légionelles sont des bactéries hydro-

telluriques et thermophiles qui se retrouvent à l'état naturel principalement dans les eaux douces (lacs, rivières...) et dont l'optimum thermique se situe entre 35 °C et 37 °C. De ce fait, les légionelles trouvent un environnement de croissance très favorable dans les installations liées à l'activité humaine comme les tours aéroréfrigérantes (TAR) et les réseaux d'eau chaude sanitaire (RECS).

Le mode de transmission à l'Homme se fait par inhalation d'aérosols d'eau contaminés inférieurs à 5 µm. De nombreuses inconnues persistent en ce qui concerne la relation entre l'aérosol contaminé et le déclenchement d'une légionellose. Cependant, des facteurs de risques individuels comme le tabagisme, l'alcoolisme, l'immunodé-



Figure 1 : Appareillage associé à la technologie Behring™ permettant la désinfection de l'eau au point d'usage.

pression ou le diabète favorisent la survenue de la maladie (Stout et Yu, 1997). En plus d'être libres dans l'eau (bactéries pélagiques), les bactéries du genre *Legionella* se rencontrent sur-

tout dans le biofilm (communauté microbienne) qui se forme et adhère à la surface des canalisations en contact avec l'eau. Selon les travaux de Flemming et Walker (2002), 95 % des légionelles présentes dans les RECS se trouvent dans le biofilm (bactéries sessiles) dans lequel elles établissent un parasitisme vis-à-vis de certains protozoaires (amibes principalement) afin de faciliter leur multiplication et leur dissémination (Brown et Barker, 1999 ; Greub et Raoult, 2004). La localisation dans des amibes confèrent aux légionelles une protection vis-à-vis des différents traitements de désinfection des réseaux (Thomas et al., 2004).

Les RECS sont les installations le plus souvent incriminées dans la survenue de cas groupés de légionellose (Berthelot et al., 1998 ; Mouchtouri et al., 2007). Ainsi, le contrôle du « risque légionelles » dans ces installations constitue un enjeu sanitaire de premier ordre. À ce jour, plusieurs procédés de désinfection ont été décrits pour l'élimination des légionelles dans les RECS et, parmi eux, les traitements thermiques et chimiques sont les plus largement utilisés. Les traitements chimiques présentent diverses natures de produits et de méthodologies d'application. Ils agissent par ionisation en créant, par exemple, des ions cuivre et argent ou par oxydation (chlore, brome, iode, dioxyde de chlore, chloramines, ozone, peroxyde d'hydrogène...) (Kim et al., 2002). D'après les travaux menés par Maillard (2002), l'efficacité d'un biocide varierait considérablement selon les

micro-organismes considérés y compris au sein d'une même espèce. En outre, leur action serait étroitement liée aux conditions d'application : dose et durée, pH, température... (Russell, 2003). La nature des matériaux joue aussi un rôle très important sur la fixation des micro-organismes dans un biofilm et sur l'efficacité des traitements (Bellenger et al., 2004 ; Van der Kooij et al., 2005). Le biocide le plus souvent utilisé pour la désinfection des RECS est le chlore sous ses différentes formes (Sanli-Yurudu et al., 2007). La plupart des études menées à l'échelle pilote ou *in-situ* montrent (i) une efficacité transitoire des traitements appliqués en chocs ou de manière continues et (ii) une recolonisation plus ou moins rapide du réseau par *Legionella* (Saby et al., 2005 ; Farhat et al., 2010). En effet, il est aujourd'hui bien connu que le biofilm joue un rôle majeur dans la recontamination des RECS après traitement. De plus, en circulant, l'eau détache des agrégats de biofilm qui peuvent atteindre des tailles supérieures à 100 µm et contenir plusieurs milliers de bactéries. Comme déjà évoqué, contrairement aux bactéries planctoniques, les légionelles sessiles présentes dans ces agrégats montrent une forte résistance à toutes les formes de désinfection.

D'un point de vue réglementaire, la lutte contre le « risque légionelles » s'est renforcée avec l'arrêté du 1^{er} février 2010 qui vise le contrôle des installations collectives de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire qui alimentent les établissements recevant du public (ERP) considérés « sensibles » comme par exemple les campings, les établissements sociaux ou encore les piscines. D'une manière générale, les ERP classés à risque sont ceux qui possèdent des douches dont l'utilisation est irrégulière dans le temps. Ces établissements devront effectuer des mesures préventives de surveillance des réseaux collectifs d'eau chaude sanitaire. La mesure des concentrations en légionelles est réalisée selon un protocole normalisé (AFNOR NT90-431) et, au niveau de l'ensemble des points d'usage à risque, cette concentration ne devra pas dépasser 1000 unités formant colonies (UFC) par litre. Pour les établissements sociaux, médicaux et médico-sociaux hébergeant des populations à risque (patients hospita-

lisés, personnes âgées, ...), les dénombrements en légionelles et plus particulièrement en *Legionella pneumophila* devront être inférieurs au seuil de détection de la méthode (< 500 UFC/L). L'arrêté précise que lorsque ces seuils ne seront pas respectés, le responsable des installations devra prendre sans délai les mesures correctives nécessaires au rétablissement de la qualité de l'eau et à la protection des usagers. Les délais d'application de ce nouveau texte de lois sont fixés au (i) 1^{er} juillet 2010 pour les établissements de santé, les établissements sociaux et médico-sociaux d'hébergement des personnes âgées ; (ii) au 1^{er} janvier 2011 pour les hôtels, les résidences de tourisme, les campings, les autres établissements sociaux et médico-sociaux et les établissements pénitentiaires ; et enfin (iii) au 1^{er} janvier 2012 pour tous les autres ERP. Face d'une part à la prise de conscience grandissante du problème de santé publique lié à la contamination des RECS par *Legionella* et d'autre part à l'échec du plan national de prévention des légionelloses 2004-2008 visant à réduire de 50 % l'incidence des cas, le développement de solutions innovantes pour lutter contre les légionelles apparaît comme indispensable. Dans ce cadre-ci, la société grenobloise RC-Lux a développé une technologie innovante, appelée Behring™, qui permet de

Face au « risque légionelles », les procédures de désinfection conventionnelles des réseaux d'eau chaude sanitaire (RECS) montrent une efficacité transitoire. De nombreuses études ont montré que la recolonisation rapide des réseaux est liée à la présence d'un biofilm adhérent à la surface des canalisations. Le biofilm est un réservoir à légionelles qui assure leur protection et permet leur passage dans la phase aqueuse. Dans les établissements Recevant du Public (ERP) dits « sensibles » où les RECS montrent des défaillances locales, il est nécessaire d'apporter une sécurité aux points de puisage. C'est pourquoi, la société RC-Lux a développé une technologie innovante de désinfection des eaux au point d'utilisation. Le procédé Behring™ combine une cavitation hydrodynamique pour dissocier les agrégats bactériens présents dans l'eau et un traitement UV spécifique au débit intermittent. L'appareillage Behring™ a été installé sur un pilote simulant un RECS à l'échelle 1 qui est situé au Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB). Les essais se sont avérés très encourageants puisque plusieurs séries de prélèvements ont montré un abattement supérieur à 5 unités log (de 10⁶ UFC/L jusqu'à non détectable) de la concentration en légionelles dans l'eau après passage par la tête de désinfection et ce dès les premières gouttes.



**Entrée : agrégat bactérien
(100 microns)**



Cavitateur



**Sortie : agrégat dissociés
(5 microns)**

Figure 2 : Exemple de dissociation des agrégats bactériens par cavitation hydrodynamique.

désinfecter l'eau au point d'utilisation. Ce système peu encombrant (figure 1) est installé au niveau des points de puisage (douches, robinets, ...) et permet d'assurer une sécurité quotidienne dans la durée avec un minimum de maintenance. La technologie associe la cavitation hydrodynamique et un traitement UV spécifique aux débits intermittents.

La cavitation consiste en la formation de micro-bulles dans un liquide soumis à une très forte accélération. Elle est connue dans le monde des turbines hydrauliques ou des hélices de bateaux et a fait l'objet de nombreuses études (Farhat, 1994). La technologie Behring™ utilise ce phénomène pour détruire les agrégats bactériens relargués par les biofilms. En effet, les micro-bulles subissent pendant environ 30 millièmes de secondes une pression supérieure à 1000 atmosphères et une température supérieure à 1000 °C alors que le liquide environnant reste sous conditions ambiantes. Quand les bulles implosent, elles produisent des ondes de choc qui peuvent endommager les turbines des pompes ou des hélices. La cavitation peu appréciable dans les cas cités devient une arme redoutable contre les agrégats bactériens. Le biofilm détaché est dissocié en petit morceaux, voire en bactéries isolées, qui deviennent ainsi très sensibles aux traitements UV conventionnels (figure 2).

Grâce au développement d'une électronique spécifique, la lampe UV ne s'allume que lorsque l'eau coule ce qui permet de multiplier par 5 la durée de vie moyenne de celle-ci par rapport à une lampe UV classique. La consommation électrique s'en voit aussi réduite au minimum et il n'y a pas d'eau réchauffée qui stagne dans la tête de l'appareil. Un capteur UV intégré dans le dispositif contrôle en permanence la dose d'UV (mJ/cm²) et pilote l'ouverture et la fermeture d'une électrovanne. L'eau n'est distribuée que si les normes les plus exigeantes sont respectées. Enfin, l'appareil déclenche des purges et des flashes UV auto-

matiques pour assurer en permanence une sécurisation de l'eau pendant les périodes de non utilisation prolongée.

Le développement de la technologie innovante Behring™, soutenu par OSEO, a été réalisé en collaboration avec plusieurs laboratoires référents. Des essais menés avec le Laboratoire d'hygiène de la Ville de Paris (LHVP) ont, par exemple, montré de très bons résultats sur l'eau potable en présence de *Pseudomonas aeruginosa* (Squinazi et Pellet, 2010). Aussi, la technologie a déjà trouvé une application dans la sécurisation des fontaines réfrigérantes.

Pour compléter ces travaux sur la partie Légionelles, une étude à l'échelle pilote a été menée par le Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB) qui dispose d'un banc d'essais simulant à l'échelle 1 des RECS (Trouilhé et al., 2009 ; Farhat et al., 2010).

Cette installation pilote ALPHEO entièrement construite en acier inoxydable 316L est composée (i) de boucles d'eau chaude d'une longueur de 30 m et d'un volume de 14 L qui fonctionnent par paires, (ii) d'un ballon d'eau chaude et (iii) de nombreux équipements télécommandés (Trouilhé et al., 2009). Chacune des boucles présente une concentration en *Legionella spp* de l'ordre de 10⁵-10⁶ UFC/L. Cette contamination stable en légionelles environnementales a été assurée par des alimentations alternées du pilote par de l'eau de rivière, de l'eau de ville et de l'eau issue d'une TAR contaminée. Pour simuler une douche, le

dispositif Behring™ a été branché sur un robinet de purge d'une boucle du banc ALPHEO (figure 3) pendant une période de 11 semaines au cours desquelles 7 séries de prélèvements ont été effectuées. Chaque prélèvement comptait trois échantillons d'eau :

- un échantillon de l'eau circulant dans la boucle du banc d'essais ALPHEO (entrée de la tête Behring™),
- les premiers 500 mL d'eau traités par le dispositif Behring™ après le démarrage de ce dernier (sortie de la tête Behring™),
- les 5 L d'eau traités prélevés après une minute de fonctionnement de l'appareillage.

Les dénombrements de *Legionella spp* cultivables ont été effectués selon le protocole normalisé AFNOR NT90-431. Même si la norme précédemment citée préconise des prélèvements de 500 mL, il a été choisi de travailler à partir de 5 L d'eau dans le cas de cette étude (à l'exception des 2 premiers prélèvements) afin d'abaisser d'un facteur 10 la limite de détection.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 1 et montrent tout d'abord que l'ensemble des essais a été réalisé dans des

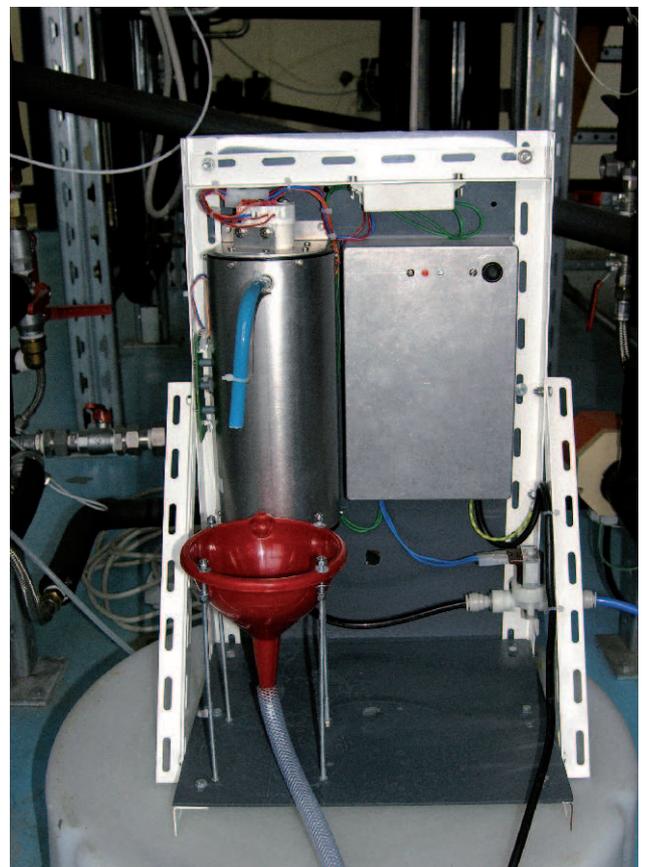


Figure 3 : Appareillage associé à la technologie Behring™ branché sur une installation pilote.

Tableau 1 : Concentrations en *Legionella spp* mesurées dans l'eau de la boucle du banc ALPHEO, dans les premières gouttes d'eau en sortie du système Behring™ et dans l'eau écoulée après une minute de fonctionnement de la lampe UV. Les dénombrements ont été effectués sur milieu de culture GVPC selon la méthode normalisée AFNOR NT90-431

Date des prélèvements	Boucle (UFC/L)	Premières gouttes (UFC/L)	Après une min. d'écoulement (UFC/L)
30 septembre 2009	1,115 x 10 ⁶	< 500	< 500
12 octobre 2009	1,350 x 10 ⁶	< 500	< 500
28 octobre 2009*	1,175 x 10 ⁶	< 500	< 50
05 novembre 2009	9,300 x 10 ⁵	< 500	< 50
17 novembre 2009	6,450 x 10 ⁶	< 500	< 50
1 ^{er} décembre 2009	3,150 x 10 ⁶	< 500	< 50
16 décembre 2009	5,000 x 10 ⁶	< 500	< 50

* à partir de cette date, 5 L d'eau ont été filtrés après une minute de fonctionnement de l'appareillage.

conditions identiques puisque les concentrations en *Legionella spp* à l'entrée du dispositif Behring™ sont restées stables et de l'ordre de 10⁶ UFC/L. En ce qui concerne le traitement de l'eau, la technologie Behring™ apparaît très efficace dès les pre-

mières gouttes puisque toutes les mesures effectuées dans les 500 premiers mL sont inférieures à la limite de détection de la méthode de dénombrement utilisée. Après une minute d'écoulement, l'utilisation d'un appareillage Behring™ permet un abatte-

ment supérieur à 5 unités log des *Legionella spp* cultivables.

En résumé, les tests menés à l'échelle pilote sur le banc ALPHEO montrent que malgré une concentration en légionelles très importante dans la boucle d'eau chaude ($\approx 10^6$ UFC/L), l'appareil a permis de délivrer, dès la première goutte et dans la durée, une eau respectant les normes AFNOR applicables en milieu hospitalier. L'appareil est donc un moyen simple et efficace pour répondre aux exigences réglementaires liées à la gestion du « risque légionelles » dans les ERP dit « sensibles ». Sans utilisation de produit chimique et avec une maintenance minimum, la technologie Behring™ est à la fois économique et écologique. Elle trouve tout son sens lorsqu'il est nécessaire d'assurer la sécurité d'une douche dans la durée, en remplacement des filtres à usage unique utilisés dans certains établissements. D'autres applications sont aussi prévues dans la brumisation, très concernée par le « risque légionelles ». ■

Références bibliographiques

- Association Française de Normalisation (AFNOR) (2003) Qualité de l'eau – Recherche et dénombrement de *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila*. Méthode par ensemencement direct et après concentration sur membrane ou centrifugation. AFNOR NF T90-431, Paris, France.
- Bellenger, F., Correc, O., Derrien, F., Diab, Y. (2004) Nécessité d'outils innovants pour l'évaluation de l'état des installations de distribution d'eau dans les bâtiments. Journées Information Eau, 1: 54-1-54-14.
- Bertelot, P., Grattard, F., Ros, A., Lucht, F., Pozzetto, B. (1998) Nosocomial legionellosis outbreak over a three-year period: investigation and control. *Clinical Microbiology and Infection* 4: 385-391.
- Brown, M. R., Barker, J. (1999) Unexplored reservoirs of pathogenic bacteria: protozoa and biofilm. *Trends in Microbiology* 7: 46-50.
- Farhat, M. (1994) Contribution à l'étude de l'érosion de cavitation. Thèse de l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne.
- Farhat, M., Trouilhé, M.-C., Briand, E., Moletta-Denat, M., Robine, E., Frère, J. (2010) Development of a pilot-scale 1 for *Legionella* elimination in biofilm in hot water network: heat shock treatment evaluation. *Journal of Applied Microbiology* 108(3): 1073-1082.
- Fields, B. S., Benson R. F., Besser R. E. (2002) *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clinical Microbiology review* 15: 506-526.
- Flemming, H. C., Walker, J. T. (2002) Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Science and Technology* 47: 271-280.
- Fraser, D. W., Tsai, T. F., Orenstein, W., Parkin, W. E., Beecham, H. J., Sharrar, R. G., Harris, J., Mallison, J. F., Martin, S. M., McDade, J. E., Shepard, C. C., Brachman, P. S. (1977) Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *New England Journal of Medicine* 297: 1189-1197.
- Greub, G., Raoult, D. (2004) Microorganisms Resistant to Free-Living Amoeba. *Clinical Microbiology Reviews* 17(2): 413-433.
- Kim, B. R., Anderson, J. E., Mueller, S. A., Gaines, W. A., Kendall, A. M. (2002) Literature review – efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Research* 36: 4433-4444.
- Maillard, J.-Y. (2002) Bacterial target sites for biocide action. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement* 92: 16S-27S.
- Mouchtouri, V., Velonakis, E., Hadjichristodoulou, C. (2007) Thermal disinfection of hotels, hospitals, and athletic venues hot water distribution systems contaminated by *Legionella* species. *American Journal of Infection Control* 35(9): 623-627.
- Russell, A. D. (2003) Biocides use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *The Lancet Infectious Diseases* 12(3): 794-803.
- Saby, S., Vidal, A., Suty, H. (2005) Resistance of *Legionella* to disinfection in hot water distribution systems. *Water Science and Technology* 52: 15-28.
- Sanli-Yurudu, N. O., Kimiran-Erdem A., Cotuk, A. (2007) Studies on the efficacy of chloramines T Trihydrate (N-chloro-p-toluene sulfonamide) against planktonic and sessile populations of different *L. pneumophila* strains. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 210: 147-153.
- Squinazi, F., Pellet, X. La sécurisation microbiologique de l'eau à son point d'usage : l'apport de la technologie Behring™. *Revue Hygiènes* Juin 2010.
- Stout, J. E., Yu, V. L. (1997) Legionellosis. *New England Journal of Medicine* 337(10): 682-687.
- Thomas, V., Bouchez, T., Nicolas, V., Robert, S., Loret, J.-F., Lévi, Y. (2004) Amoeba in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in *Legionella* persistence. *Journal of Applied Microbiology* 97: 950-963.
- Trouilhé, M.-C., Farhat, M., Lakel, A. (2009) Etude pilote pour l'évaluation de l'efficacité des traitements anti-légionelles. *L'eau, l'Industrie, les Nuisances* 319: 37-40.
- Van der Kooij, D., Veenendaal, H. R., Scheffer, W. J. H. (2005) Biofilm formation and multiplication of *Legionella* in model warm water system with pipes of copper, stainless steel and cross-linked polyethylene. *Water Research* 39: 2789-2798.