



Titre: Contrôle et gestion de la légionelle dans les grands bâtiments
Title:

Auteur: Stéphanie Fey
Author:

Date: 2014

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Fey, S. (2014). Contrôle et gestion de la légionelle dans les grands bâtiments
Citation: [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.
<https://publications.polymtl.ca/1470/>

 Document en libre accès dans PolyPublie
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/1470/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Michèle Prévost
Advisors:

Programme: Génie civil
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

CONTRÔLE ET GESTION DE LA LÉGIONELLE DANS LES GRANDS
BÂTIMENTS

STÉPHANIE FEY

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)

AOÛT 2014

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

CONTRÔLE ET GESTION DE LA LÉGIONELLE DANS LES GRANDS BÂTIMENTS

présenté par : FEY Stéphanie

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. BARBEAU Benoit, Ph.D., président

Mme PRÉVOST Michèle, Ph.D., membre et directrice de recherche

Mme BOURDEAU Suzel, B.ing., membre

DÉDICACE

*« Vis comme si tu devais mourir demain.
Apprends comme si tu devais vivre toujours »*

Mahatma Gandhi

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier chaleureusement Mme Michèle Prévost, ma directrice de maîtrise de m'avoir donné l'opportunité d'intégrer une chaire de recherche aussi dynamique et tout spécialement pour son enseignement. Merci, Michèle, de m'avoir partagé votre passion sans borne pour la recherche, la curiosité intellectuelle, le travail créatif et rigoureux.

Merci à tout le personnel de la Chaire Industrielle CRSNG en Eau Potable ! Le dynamisme infini de l'équipe pour les projets des étudiants n'a d'égal que leur professionnalisme et leur créativité pour régler les problèmes logistiques. J'aimerais souligner la patience infinie de Jacinthe Mailly et Mélanie Rivard de m'avoir initiée à la microbiologie et au laboratoire. Merci, Jacinthe, pour tes encouragements et bons conseils, grâce à toi j'ai eu confiance dans mes démarches au laboratoire. Il est aussi impensable de ne pas remercier Julie Philibert, Yves Fontaine et Mireille Blais pour leur participation précieuse aux projets de recherche.

À mes très chères collègues ; Émilie Bédard, Cindy Lalancette et Dominique Charron des projets sur la qualité de l'eau dans les grands bâtiments sans qui la maîtrise n'aurait pas été aussi intéressante, je dis merci. Merci pour les discussions et les échanges stimulants ainsi que la collaboration mutuelle qui aura permis de faire progresser ce projet de recherche bien plus loin.

Merci aux partenaires de la Chaire sans qui ce projet de recherche n'aurait pas été possible. Je tiens à remercier personnellement Hamid, mécanicien de machinerie fixe à la SQI et Maurice, plombier dans un CSSS, qui m'ont partagé leur passion pour leur profession et m'ont permis de bien cerner toutes les particularités de la dimension hydraulique du projet. J'ai aussi eu la chance de compter sur plusieurs collaborateurs microbiologistes. Tout d'abord, du centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Philippe Cantin et Manuela Villion qui ont coordonné et réalisé toutes les analyses légionelles dans les TAR et ont été d'une aide précieuse. Geneviève Marchand de l'IRSST m'a gentiment guidé dans la construction de ma base de données et mon stage à l'IRSST.

Un merci particulier à toute ma famille qui n'a jamais cessé de croire en moi et de m'encourager et à Maxime pour m'avoir supporté au cours de cette étape.

RÉSUMÉ

L'épidémie de légionellose à Québec en 2012 ainsi que l'implantation de nouvelles réglementations touchant le contrôle de *Legionella* dans les bâtiments exigeront des gestionnaires d'immeubles de mieux comprendre cette bactérie opportuniste trouvant les conditions idéales à sa prolifération dans les réservoirs artificiels des grands bâtiments. L'objectif principal du projet de recherche est d'étudier certains éléments déterminants parmi les critères de conception et modalités d'exploitation pour le contrôle de la prolifération de la légionelle dans les grands bâtiments. Cet objectif est orienté spécifiquement sur les aspects de gestion hydraulique et de désinfection chimique et thermique des grands bâtiments. Trois systèmes ont été étudiés : les réseaux d'eau chaude sanitaire, les tours de refroidissement des grands bâtiments (TAR) et les TAR en milieu industriel.

Dans un premier temps, l'étude des réseaux d'eau chaude en milieu hospitalier et les analyses microbiologiques ont permis d'identifier trois points critiques de contrôle de la légionelle : les chauffe-eau et les boucles de recirculation, soit l'ossature principale du réseau et les points d'utilisation qui sont responsables de la contamination distale si des températures de contrôle ne sont pas maintenues. À cet égard, les travaux ont démontré que les profils de température aux points d'utilisation sont un excellent outil pour évaluer les zones à risque d'amplification des légionelles et mieux comprendre le régime hydraulique dans un réseau. Finalement, le suivi des températures en continu à la sortie des chauffe-eau est essentiel afin de s'assurer que l'équipement de chauffage assure en tout temps une température de contrôle minimale.

Dans un deuxième temps, cinq tours de refroidissement des grands bâtiments institutionnels ont été suivies durant une saison d'opération afin de valider l'efficacité de différents plans de suivi, d'entretien et d'exploitation. Le suivi microbiologique a mis en évidence des concentrations de bactéries totales et viables et de BHA élevées, mais modestes et peu fréquentes de *L. pneumophila*. Les traitements chimiques chocs ainsi que l'injection bihebdomadaire de biocide se sont avérés inefficaces pour contrôler la flore bactérienne. Le système avec traitement électromagnétique a montré des tendances différentes particulièrement une diminution des BHA, mais la présence plus fréquente et persistante de *Legionella*.

L'analyse critique des résultats microbiologiques des TAR industrielles obtenus par l'Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et Sécurité au travail (IRSST) a révélé que les TAR en production industrielle sont une source potentiellement élevée de *L. pneumophila* toute l'année, contrairement à certaines TAR institutionnelles.

ABSTRACT

Following the Quebec's legionellosis outbreak in 2012 and the recent promulgation of regulations on the control of *Legionella* in buildings, building managers need to better understand this opportunistic bacteria that find adequate conditions for its proliferation in artificial reservoirs of large buildings. The main objective of the research project was to investigate key design criteria and modalities of operation to control the proliferation of *Legionella* in large buildings. This objective is directed specifically to address aspects of hydraulic management and chemical and thermal disinfection in large buildings. Three types of systems were studied: domestic hot water systems, cooling towers of large buildings and industrial's cooling towers (CTs).

Firstly, monitoring of hot water systems in hospitals and microbiological analyzes identified three critical points for *legionella* control: water heaters and recirculating loops, the main network, and points of use that are responsible for distal contamination if controlled temperatures are not maintained. In this regard, this study has shown that temperature profiling at points of use is an excellent tool to locate areas at risk of amplification of *Legionella* and to improve the understanding of hydraulics of the distribution system. Finally, the continuous temperature monitoring at the outlet of the water heater is essential to ascertain that the heating equipment ensure a minimum temperature control in any time.

The, five cooling towers of large institutional buildings were monitored during an operating season to validate the effectiveness of different levels of monitoring, maintenance and operation. Microbiological monitoring showed high concentrations of total and viable bacteria and HPC, but modest and infrequent concentrations of *L. pneumophila*. Chemical shock treatments and biweekly injection of biocides appear ineffective in controlling bacterial flora. The electromagnetic treatment system showed a different pattern with lower level of HPCs compared to viable bacteria, but with common and persistent presence of *Legionella*.

Finally, a critical analysis of the microbiological results of industrials CTs, obtained by the Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et Sécurité au travail (IRSST), showed that industrials TARs are potentially high source of *L. pneumophila* throughout the year, unlike some institutional CTs.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT	VII
TABLE DES MATIÈRES	VIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIII
LISTE DES FIGURES.....	XV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XX
LISTE DES ANNEXES.....	XXI
INTRODUCTION.....	1
1. MISE EN CONTEXTE	1
2. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE	3
2.1 Objectifs	3
2.2 Hypothèses scientifiques	3
3. STRUCTURE DU MÉMOIRE	3
CHAPITRE 1 REVUE DE LA LITTÉRATURE	5
1.1 <i>Legionella</i>	5
1.1.1 Taxonomie.....	5
1.1.2 La légionellose	7
1.1.3 Sources d'infection.....	8
1.2 Facteurs favorisant la prolifération de <i>Legionella</i>	9
1.2.1 Biofilm et présence de protozoaires	10
1.2.2 Température	12

1.2.3	Stagnation.....	17
1.2.4	Qualité de l'eau	20
1.2.5	Matériaux et corrosion	22
1.3	Désinfection	22
1.4	Approche de contrôle de la légionelle dans les TAR.....	26
1.5	Méthodes de détection.....	27
1.5.1	Culture	27
1.5.2	qPCR	28
1.5.3	vPCR	28
1.5.4	Flore bactérienne	29
1.6	Règlementations québécoises et directives pour le contrôle de <i>Legionella</i>	30
1.6.1	Réseau d'eau chaude sanitaire.....	30
1.6.2	Tours aérorefroidissantes	31
CHAPITRE 2 DÉMARCHE DE L'ENSEMBLE DU TRAVAIL DE RECHERCHE.....		34
2.1	Établissement d'un protocole d'analyse et d'identification des bonnes pratiques hydraulique dans les réseaux d'eau chaude sanitaire	34
2.2	Campagne d'échantillonnage et d'évaluation en milieu hospitalier	34
2.2.1	Mesures supplémentaires de la température.....	34
2.2.2	Validation du protocole et des conclusions dans un 2e établissement hospitalier	35
2.2.3	Vérification du bilan thermique par un pilote	35
2.3	Validation de l'efficacité de différents plans de suivi, d'entretien et d'exploitation des tours de refroidissement	35
2.3.1	Campagne d'échantillonnage et de suivi de trois sites.....	35
2.3.2	Décroissance et efficacité des désinfectants au laboratoire	35

2.4	Analyse critique du suivi de <i>Legionella</i> en contexte industriel par la création d'une base de données	36
CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE		37
3.1	Essais de perte thermique des conduites en stagnation en laboratoire	37
3.1.1	Matériel	37
3.1.2	Méthode.....	37
3.2	Procédures d'échantillonnages	38
3.2.1	Milieu hospitalier	38
3.2.2	Protocole d'échantillonnage des tours aérorefroidissantes	44
3.3	Méthodes analytiques	50
3.3.1	Paramètres physico-chimiques	50
3.3.2	Paramètres microbiologiques	52
3.4	Mesure de la décroissance et de l'efficacité de désinfectants utilisés dans le programme d'entretien des TAR	53
3.4.1	Mesure de la concentration des produits actifs dans les biocides commerciaux	54
3.4.2	Décroissance des désinfectants dans l'eau ultra-pure	54
3.4.3	Décroissance et efficacité des désinfectants dans l'eau de TAR	54
3.5	Analyse du suivi de <i>Legionella</i> par des industries pour la protection des travailleurs en contexte non réglementaire	55
3.5.1	Création d'une base de données	55
CHAPITRE 4 RÉSEAU D'EAU CHAUDE SANITAIRE		56
4.1	Pertes thermiques de conduites en période de stagnation	57
4.2	Diagnostic du réseau d'eau chaude sanitaire d'un hôpital régional	60
4.2.1	Source d'eau potable	61
4.2.2	Analyse de la structure du réseau d'eau chaude.....	61

4.2.3	Températures des chauffe-eau.....	62
4.2.4	Résultats des profils de température.....	63
4.2.5	Résultats du suivi microbiologique de <i>Legionella</i> dans l'eau chaude	66
4.2.6	Variations des températures de l'eau dans les réseaux d'eau chaude sanitaire.....	68
4.2.7	Architecture hydraulique.....	70
4.2.8	Bilan des différents réseaux d'eau chaude du CSSS.....	70
4.2.9	Classement des réseaux d'eau chaude.....	86
4.2.10	Importance de la prévalence observée de <i>L. pneumophila</i> dans l'eau aux points d'usage... ..	89
4.2.11	Actions correctrices et préventives	92
4.2.12	Impacts anticipés du changement de source sur l'entretien du réseau d'eau chaude sanitaire... ..	94
4.3	Diagnostic des réseaux d'eau chaude sanitaire	95
4.3.1	Comparaison et portée de divers protocoles	95
4.3.2	Définition d'une approche de diagnostic et de contrôle de la prolifération de <i>Legionella</i>	101
CHAPITRE 5 TOURS DE REFROIDISSEMENT.....		108
5.1	Mise en contexte.....	108
5.2	Stratégies de traitement des TAR.....	108
5.2.1	Procédure de mise en route	108
5.2.2	Traitement préventif de routine.....	109
5.2.3	Traitement curatif.....	111
5.3	Résultats physico-chimiques	112
5.4	Résultats microbiologiques des suivis.....	114
5.4.1	Résultats au Site 1	114

5.4.2	Résultats au Site 2	118
5.4.3	Résultats au Site 3	119
5.5	Efficacité des traitements	121
5.5.1	Comparaison des niveaux de colonisation des sites étudiés	121
5.5.2	Évaluation de l'efficacité des traitements curatifs pour contrôler la flore microbienne.....	124
5.5.3	Évaluation de l'efficacité des traitements préventifs	125
5.5.4	Évaluation de l'opération des TAR.....	133
CHAPITRE 6	SUIVI DE LEGIONELLE EN CONTEXTE INDUSTRIEL	135
6.1	Portrait du suivi de <i>Legionella</i> effectué par les industries	135
6.2	Prévalence de <i>L. pneumophila</i> dans l'eau de procédé des industries.....	136
6.3	Prévalence de <i>L. pneumophila</i> dans l'eau de consommation des industries	139
6.4	Portée du suivi des industries et limites de l'étude	140
CHAPITRE 7	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	142
BIBLIOGRAPHIE		146
ANNEXES		157

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Analyses de légionelle en réseau d'eau chaude sanitaire et points de consommation (adapté de Cristina, 2014)	18
Tableau 1.2 Stratégie de contrôle de <i>Legionella pneumophila</i> (Régie du bâtiment du Québec (RBQ), 2013).....	33
Tableau 3.1 Réseaux des chauffe-eau de l'Hôpital Régional du CSSS d'un territoire	39
Tableau 3.2 Instruments de lecture de la température installés sur les différents réseaux de chauffe-eau	40
Tableau 3.3 Caractéristiques des points d'échantillonnage retenus	41
Tableau 3.4 Caractéristiques des TAR, réseaux et mode d'exploitation des différents sites	45
Tableau 3.5 Caractéristiques des TAR, réseaux et mode d'exploitation des différents sites (suite)	46
Tableau 3.6 Méthodes et références des paramètres physico-chimiques.....	51
Tableau 4.1 Temps de stagnation nécessaire pour atteindre la température optimale de prolifération de la légionelle en fonction du type d'isolation	59
Tableau 4.2 Description des quatre réseaux d'eau chaude de l'hôpital régional	62
Tableau 4.3 Résumé des données de température des différents chauffe-eau (°C)	63
Tableau 4.4 Résultats des analyses <i>Legionella spp.</i> et <i>L. pneumophila</i> aux points de consommation et contrôles en réseau d'eau chaude.....	67
Tableau 4.5 Classement proposé des systèmes d'eau chaude à partir des profils de températures	87
Tableau 4.6 Sommaire des résultats de qualité physico-chimique utilisés pour les critères de vulnérabilité et des observations microbiologiques (<i>Legionella spp.</i> et <i>L. pneumophila</i>).....	88
Tableau 5.1 Produits chimiques utilisés dans l'entretien des TAR.....	110
Tableau 5.2 Produits chimiques utilisés pour le traitement curatif des TAR.....	112
Tableau 5.3 Paramètres physico-chimiques et microbiologiques	113

Tableau 5.4 Moyenne et écart-type des concentrations de BHA en période d'exploitation régulière en fonction du site.	123
Tableau 6.1 Répartition des échantillons analysés par l'IRSST de 2011 au 12 mai 2013 selon l'usine	135

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 Taxonomie des <i>Legionella</i> (Goupil-Sormany & Huot, 2012).....	6
Figure 1-2 Schéma présentant les diverses formes morphologiques de <i>L. pneumophila</i> (Heuner & Swanson, 2008)	6
Figure 1-3 Effet des traitements thermiques sur la viabilité des trophozoïtes et kystes de quatre souches d'amibes (Cervero-Arago et al., 2013).....	11
Figure 1-4 Résistance de <i>Legionella</i> en fonction de la température (Merchat, 2013a).....	12
Figure 1-5 Décroissance de <i>L. pneumophila</i> séro groupe 1 à trois différentes températures en fonction du temps de contact (Stout et al., 1986).....	13
Figure 1-6 Résistance de différentes souches de <i>Legionella</i> en fonction du temps de chauffage à 70 °C (Allegra et al., 2008)	14
Figure 1-7 Impact d'un traitement thermique curatif à 70°C durant 2 heures (Saby, Vidal et al. 2005).....	15
Figure 1-8 Impact de la température distale (mesurée dans le 4 ^{ème} L d'eau froide et 6 ^{ème} L d'eau chaude) sur la colonisation par <i>Legionella</i> dans quatre hôpitaux (n=625) (adapté de Arvand, 2011).....	16
Figure 1-9 Impact du régime hydraulique sur le biofilm (Merchat, 2013a).....	19
Figure 1-10 Impact de quatre traitements-chocs au chlore (50 mg/L, 12 heures) sur la flore bactérienne et <i>Legionella</i> dans l'eau et le biofilm (Saby et al., 2005).....	24
Figure 1-11 Variation dans la concentration de <i>L. pneumophila</i> dans un réseau mal contrôlé (adapté de Merchat, 2013)	29
Figure 1-12 Schéma du réseau d'eau chaude sanitaire d'un grand bâtiment	31
Figure 1-13 Schéma tour de refroidissement de type ouvert et fermé (Merchat, 2013b)	32
Figure 3-1 Montage du pilote à deux trains parallèles	38
Figure 3-2 Schéma hydraulique des réseaux de TAR 1 et 2 du site 1.....	47
Figure 3-3 Schéma hydraulique du réseau du site 2.....	48

Figure 3-4 Schéma hydraulique du réseau des TAR 1 et 2 et du réseau 3 du site 3	48
Figure 4-1 Évolution de la température de l'eau dans une conduite de cuivre (12,7mm 1/2'')	
pendant la période de stagnation en fonction de deux types de calorifugeage et sans	
calorifugeage exposés à l'air.	59
Figure 4-2 Profils de température de l'eau froide en fonction du volume écoulé pour les points de	
consommation échantillonnés (n = 14)	64
Figure 4-3 Profils de concentrations de chlore résiduel dans l'eau froide en fonction du volume	
écoulé pour les points de consommation échantillonnés (n = 14).....	65
Figure 4-4 Profils de température de l'eau chaude en fonction du volume écoulé pour les points de	
consommation échantillonnés équipés de robinets de type séparatif (n=14)	65
Figure 4-5 Profils de température de l'eau des robinets mitigés en fonction du volume écoulé pour	
les points de consommation échantillonnés (n = 3)	66
Figure 4-6 Répétition des échantillonnages pour <i>L. pneumophila</i> par qPCR en septembre et octobre	
2013	68
Figure 4-7 Volume d'eau contenu dans une colonne de distribution typique de 6 étages.....	70
Figure 4-8 Schéma des chauffe-eau et du réseau Bloc A.....	71
Figure 4-9 Localisation des points d'échantillonnage et des points positifs pour <i>Legionella</i> par	
culture ou qPCR dans le réseau du Bloc A	72
Figure 4-10 Variation de la température en fonction de l'heure de la journée (10-01-2013) pour le	
chauffe-eau #1 et #2 du réseau Bloc A	73
Figure 4-11 Profils de température des points de consommation desservis par le réseau du Bloc A	
.....	73
Figure 4-12 Représentation du réseau du Nouveau Bloc B	75
Figure 4-13 Variations de la température de l'eau en sortie de chauffe-eau en fonction de l'heure	
de la journée (11-01-2013) pour le chauffe-eau #1 du réseau Nouveau B	76
Figure 4-14 Variation de la température en sortie de chauffe-eau en fonction de l'heure de la	
journée (16-01-2013) pour le chauffe-eau #1 du réseau Nouveau B	77

Figure 4-15 Profils de température des points de consommation desservis par le réseau du réseau Nouveau B.....	77
Figure 4-16 Variation de la température en fonction de l'heure de la journée (10-01-2013) pour le chauffe-eau #3 du réseau Bloc G, H	79
Figure 4-17 Variation de la température en fonction de l'heure de la journée (10-01-2013) pour le chauffe-eau #2 du réseau Bloc G, H	79
Figure 4-18 Localisation des points d'échantillonnage et des points positifs pour <i>Legionella</i> par culture ou qPCR dans le réseau Bloc G, H et des étages du bas du B	80
Figure 4-19 Températures mesurées hebdomadairement à la sortie combinée des deux chauffe-eau d'appoint de la chaufferie en 2011 et 2012	81
Figure 4-20 Différences de températures en sortie de chauffe-eau et en retour de boucle de recirculation pour le bloc B, C, D, E et F en fonction de l'heure du jour – 9 au 15 février 2013	82
Figure 4-21 Différences de température en sortie de chauffe-eau et en retour de boucle de recirculation pour le bloc de service en fonction de l'heure et du jour – 9 au 15 février 2013	83
Figure 4-22 Schéma du réseau du Bloc BCDEF	83
Figure 4-23 Profils de température aux points d'utilisation desservis par le réseau de la chaufferie	84
Figure 4-24 Localisation des points d'échantillonnage et des points positifs pour <i>Legionella</i> par culture ou qPCR dans le réseau Bloc BCDEF	85
Figure 4-25 Température à 5 minutes et à 60 minutes selon les différents réseaux.....	89
Figure 5-1 Système à champs électromagnétiques <i>Pulse~Pure</i> TM	111
Figure 5-2 Résultats du suivi microbiologique du réseau no 1 du site 1 en fonction de la date et des interventions d'exploitation.....	115
Figure 5-3 Résultats du suivi microbiologique du réseau 2 du site 1 en fonction de la date et de l'exploitation.....	117

Figure 5-4 Résultats du suivi microbiologique du réseau de refroidissement du site 2 en fonction de la date et de l'exploitation.....	119
Figure 5-5 Résultats du suivi microbiologique des tours 1&2 du réseau principal du site 3 en fonction de la date et de l'exploitation.....	120
Figure 5-6 Flore bactérienne totale, viable et cultivable en fonction du site en période d'exploitation régulière. Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum) et les boîtes du 25 ^{ème} et 75 ^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.	122
Figure 5-7 Résultats microbiologiques avant et après (immédiatement et 48h) les traitements curatifs choc (n=5). Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum) et les boîtes du 25 ^{ème} et 75 ^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.	124
Figure 5-8 Impact du traitement curatif choc à l'hypochlorite de sodium (CSW20) du réseau 1 du site n° 3 sur les bactéries totales et viables (bact./mL) et sur les BHA (UFC/mL)	125
Figure 5-9 Résultats microbiologiques des traitements préventifs chimiques (n=25). Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum), les boîtes les 25 ^{ème} et 75 ^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.	126
Figure 5-10 Efficacité des traitements préventifs en log d'abattement (-) ou d'augmentation (+) sur les BHA (UFC/mL) et les bactéries viables et totales (bact./mL) 1 heure après le traitement (n=25). Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum), les boîtes les 25 ^{ème} et 75 ^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.	127
Figure 5-11 Décroissance du Bronopol dans le Biosperse 295 à 4° et 29°C dans de l'eau ultra pure tamponnée à pH 8.....	128
Figure 5-12 Décroissance du Bronopol et de la flore bactérienne dans l'eau de TAR à 20° et 35°C	129
Figure 5-13 Comparaison entre la décroissance du Bronopol au laboratoire dans l'eau d'une TAR à 20°C présentant une turbidité de 1,5 UTN et la décroissance théorique dans le réseau d'une	

TAR présentant les mêmes conditions en considérant un taux de renouvellement de l'eau de 3,5 jours.....	130
Figure 5-14 Concentration de BHA (UFC/mL) en fonction du chlore résiduel libre (mg/L de Cl ₂) pour les réseaux n°1 et 2 du site n°1 et le réseau des TAR 1 et 2 du site n°3 (n=39).....	132
Figure 6-1 Nombre d'échantillons présentant diverses concentrations de <i>L. pneumophila</i> en UFC/L pour l'eau de procédé	136
Figure 6-2 Pourcentage d'échantillons présentant diverses concentrations de <i>L. pneumophila</i> en UFC/L pour l'eau de procédé	137
Figure 6-3 Concentration de <i>L. pneumophila</i> en fonction de la date julienne – eau de procédé toutes les usines confondues (2011 au 12 mai 2013).....	137
Figure 6-4 Nombre d'échantillons présentant diverses concentrations de <i>L. pneumophila</i> en UFC/L dans l'eau de procédé en fonction de l'usine.....	138
Figure 6-5 Pourcentage d'échantillons présentant diverses concentrations de <i>L. pneumophila</i> en UFC/L pour l'eau de consommation en fonction de l'année	139
Figure 6-6 Nombre d'échantillons présentant diverses concentrations de <i>L. pneumophila</i> dans l'eau de consommation en fonction de l'usine (2011 au 12 mai 2013)	139
Figure 6-7 Pourcentage d'échantillons présentant diverses concentrations de <i>L. pneumophila</i> dans l'eau de type non identifié (n=417).....	141

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

La liste des sigles et abréviations présente, dans l'ordre alphabétique, les sigles et abréviations utilisés dans le mémoire ainsi que leur signification.

ADN	Acide désoxyribonucléique
BCYE	Buffered Charcoal Yeast Extract
BHA	Bactéries hétérotrophes aérobies
CHSLD	Centre d'hébergement et de soins de longue durée
CMI	5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one
CSSS	Centre de santé et de services sociaux
IRSST	Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité au travail
MI	2-methyl-4-isothiazolin-3-one
MIF	Mature intracellular form
pH	Potentiel hydrogène
PVC	Polychlorure de vinyle
qPCR	Quantitative polymerase chain reaction
RBQ	Régie du bâtiment du Québec
REC	Réseau d'eau chaude sanitaire
SQI	Société québécoise des infrastructures (anciennement la SIQ)
TAR	Tour aéroréfrigérante
UFC	Unité formatrice de colonie
UG	Unité génome
UTN	Unité de turbidité néphélométrique
VNC	Viabiles non cultivables
vPCR	Viable polymerase chain reaction

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 - Protocole d'échantillonnage en milieu hospitalier.....	157
Annexe 2 - Protocole de l'hôpital Sainte-Justine pour la détection de <i>legionella</i>	160
Annexe 3 - Résultats microbiologiques en milieu hospitalier.....	168
Annexe 4 - Résultats physico-chimiques en milieu hospitalier.....	170
Annexe 5 - Version soumise de l'article.....	171

INTRODUCTION

1. MISE EN CONTEXTE

L'épidémie de légionellose à Québec en 2012, causée par la prolifération de *Legionella pneumophila* dans une tour aéroréfrigérante (TAR), a mis en évidence l'absence de règlements et d'obligations de gestion et de contrôle des tours de refroidissement des bâtiments au Québec (Goupil-Sormany & Huot, 2012). Les conditions idéales à la croissance de cette bactérie sont présentes dans les milieux tièdes et humides naturels, mais aussi dans les réseaux d'eau chaude sanitaire ou les systèmes de refroidissement. Certaines des conditions idéales à la prolifération de *L. pneumophila* sont : la température qui est optimale entre 25 et 42°C, la présence de biofilm et de protozoaires (amibes), la stagnation, les matériaux de plomberie, l'absence de résiduel de chlore ou encore l'âge du système.

L'aérosolisation de petites gouttelettes contenant *Legionella pneumophila* peut ensuite se produire aux robinets, pommeaux de douches et TAR, et les plus petites gouttelettes peuvent être subséquentement inhalées. La maladie du légionnaire ou légionellose est considérée comme relativement rare, mais des éclosions importantes ont été rapportées à travers le monde. L'importance de la contribution de *L. pneumophila* comme cause de pneumonies dans la population en général, plus particulièrement dans les institutions de santé, est en réévaluation à travers le monde. Deux facteurs contribuent à cette réévaluation, la démonstration récente d'une prévalence plus élevée que précédemment estimée principalement en raison de la reconnaissance des lacunes de diagnostic, et le taux de mortalité élevé de la légionellose, particulièrement dans le cas d'infections nosocomiales.

De nombreux pays ont émis depuis une dizaine d'années des normes et directives visant spécifiquement à contrôler le risque légionelle, d'abord dans les réseaux d'eau chaude puis plus récemment dans les TAR. Ces obligations couvrent la conception, la surveillance et l'entretien des différents éléments des réseaux hydrauliques des bâtiments pouvant supporter la prolifération de légionelles, plus particulièrement dans les hôpitaux desservant une clientèle plus vulnérable aux infections. Plus spécifiquement, des seuils d'action et de gestion de *L. pneumophila* ont été proposés. Dans ces pays, le retour d'expertise récent permet maintenant d'identifier les meilleures pratiques et de les adapter au Québec.

Toutefois, la détermination de seuils d'alerte préventifs souffre du fait qu'il est encore difficile de déterminer le seuil infectieux pour l'humain. Peu d'études concluantes sont disponibles pour relier le risque d'infection à une concentration précise de légionelle (Buse, Schoen, & Ashbolt, 2012; Schoen & Ashbolt, 2011). Une partie de cette difficulté réside dans la difficulté de quantifier *L. pneumophila* dans des échantillons environnementaux. La méthode par culture est la plus communément utilisée pour quantifier la légionelle et plus spécifiquement *L. pneumophila*, mais il s'agit d'une procédure couteuse et longue qui sous-estime la concentration. En effet, *Legionella* spp. et *L. pneumophila* se cultivent difficilement et perdent la capacité de croître sur une gélose (culturabilité) suite à l'exposition des stress environnementaux comme la désinfection. Une méthode alternative standardisée est aujourd'hui disponible, la qPCR, c'est-à-dire par l'amplification quantitative d'amorces d'ADN. Cette nouvelle approche semi-quantitative est aussi sujette à certaines limites particulièrement au niveau de l'interprétation des résultats, puisque l'ADN des bactéries mortes peut aussi être amplifié et quantifié, ce qui n'est pas représentatif du potentiel infectieux.

La littérature présente beaucoup d'informations sur les facteurs affectant la présence de légionelle dans les réseaux d'eau chaude sanitaire et les TAR et de nombreuses méta-analyses relient clairement le risque de prolifération au maintien de certaines conditions d'exploitation. De ces informations, il est possible de tirer de grandes conclusions sur les paramètres à contrôler pour limiter les risques de prolifération de légionelle. Malgré la relative abondance de publications, les informations disponibles ne permettent pas de conclure sur les protocoles de suivi environnemental efficaces pour évaluer et contrôler le risque dans ces systèmes. En d'autres mots, comment doit-on opérer et suivre l'exploitation d'un système pour s'assurer que le risque de prolifération de légionelle est minimisé?

Deux aspects de la gestion hydraulique des systèmes mal caractérisés dans les normes et guides ont été identifiés et ont servi de fondement aux travaux présentés dans ce mémoire : (1) la vérification de la distribution des températures dans les réseaux d'eau chaude; (2) l'impact de la circulation sur l'efficacité de la désinfection dans les TAR. De plus, une analyse d'une base de données de prévalence de légionelle dans des TAR et établissements industriels a été complétée pour soutenir la définition des protocoles de suivi.

2. OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE

2.1 Objectifs

L'objectif principal du projet de recherche est de proposer et de valider une méthodologie de diagnostic des zones et périodes à risques de prolifération de *L. pneumophila* dans les TAR et les réseaux d'eau chaude. L'objectif général est précisé par quatre objectifs spécifiques :

1. Établir un protocole d'analyse de l'état d'un réseau d'eau chaude sanitaire.
2. Identifier les bonnes pratiques hydrauliques pour le contrôle de la légionelle dans les réseaux d'eaux chaudes sanitaires des grands bâtiments.
3. Valider l'efficacité de différents plans de suivi, d'entretien et d'exploitation des TAR.
4. Analyser de manière critique les résultats du suivi de TAR industrielles obtenus par Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité au travail

2.2 Hypothèses scientifiques

- 1) Les profils de température dans les réseaux d'eau chaude sanitaire permettent d'identifier les zones à risque pour la prolifération de *L. pneumophila*.
- 2) Des variations soutenues, dans la gamme des températures qui favorise la croissance de légionelle, se produisent quotidiennement dans les chauffe-eau conventionnels.
- 3) La désinfection-choc à l'aide de biocide oxydant des TAR réduit significativement et de façon durable la concentration de bactéries totales et de *L. pneumophila*.
- 4) Les tours de refroidissement industrielles constituent une source potentielle de *L. pneumophila* toute l'année.

3. STRUCTURE DU MÉMOIRE

Une revue critique de la littérature cernera tout d'abord les principaux travaux réalisés en lien avec le sujet d'étude suivi au chapitre 2 par la démarche du travail de recherche. Le chapitre 3 présentera la méthodologie et le matériel requis pour réaliser les objectifs. Par la suite, trois chapitres aborderont trois réservoirs de légionelle pour vérifier les hypothèses mentionnées précédemment :

Tableau 1 Structure du mémoire

Chapitre	Nom	Hypothèse No	Objectif No
Chapitre 4	Réseau d'eau chaude sanitaire	1,2	1,2
Chapitre 5	Tours de refroidissement	3	2,3
Chapitre 6	Contexte industriel	4	4

Finalement, des recommandations générales et une conclusion sont présentées au chapitre 7.

CHAPITRE 1 REVUE DE LA LITTÉRATURE

Cette revue de littérature sur *Legionella* présente dans un premier temps la bactérie, le mode d'infection et les maladies causées par *L. pneumophila*. La deuxième section présente, compare et commente les différents facteurs de prolifération, de contrôle et de mesure de légionelle. Finalement, une compilation de différentes normes québécoises ayant trait au contrôle de *L. pneumophila* dans les réseaux d'eau chaude sanitaire et les tours de refroidissement est présentée.

1.1 *Legionella*

Un bref survol de la taxonomie des espèces de *Legionella* sera présenté dans cette section ainsi que des informations générales sur la légionellose et les réservoirs artificiels.

1.1.1 Taxonomie

Legionella est un bacille à Gram négatif de la famille des *Legionellaceae*. Elle est naturellement présente dans les sols et l'eau, certaines conditions favorisent sa prolifération et seront présentées à la section 1.2. *Legionella pneumophila* est l'une des 52 espèces de légionelle qui serait responsable de 90 % des cas de légionellose documentés au Québec dont 80 % sont attribuables au séro groupe 1 seulement (Gouvernement du Québec, 2010b). Une arborescence de la taxonomie des *Legionella* est présentée à la figure 1-1.

Le cycle de vie de *L. pneumophila* dans l'environnement est assez complexe tel que le montre la figure 1-2. On note la présence de plusieurs formes de vie, dont des formes intracellulaires dans des hôtes protozoaires, principalement des ciliés et des amibes. La forme sous laquelle *L. pneumophila* est présente influence sa virulence et sa résistance aux facteurs environnementaux (Al-Bana, Haddad, & Garduno, 2014).

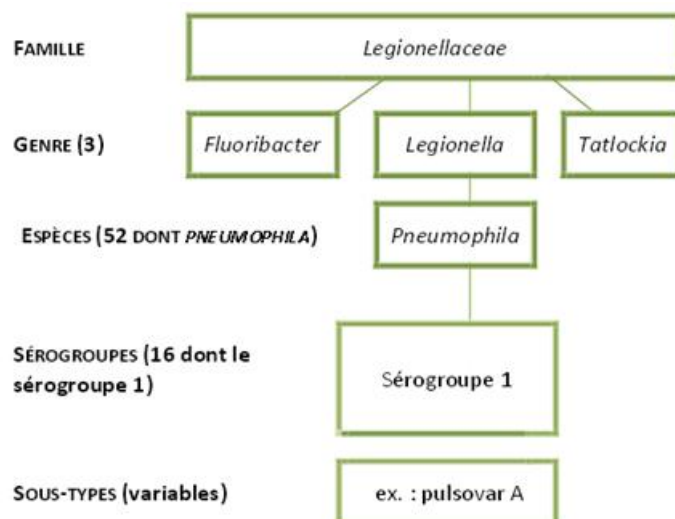


Figure 1-1 Taxonomie des *Legionella* (Goupil-Sormany & Huot, 2012)

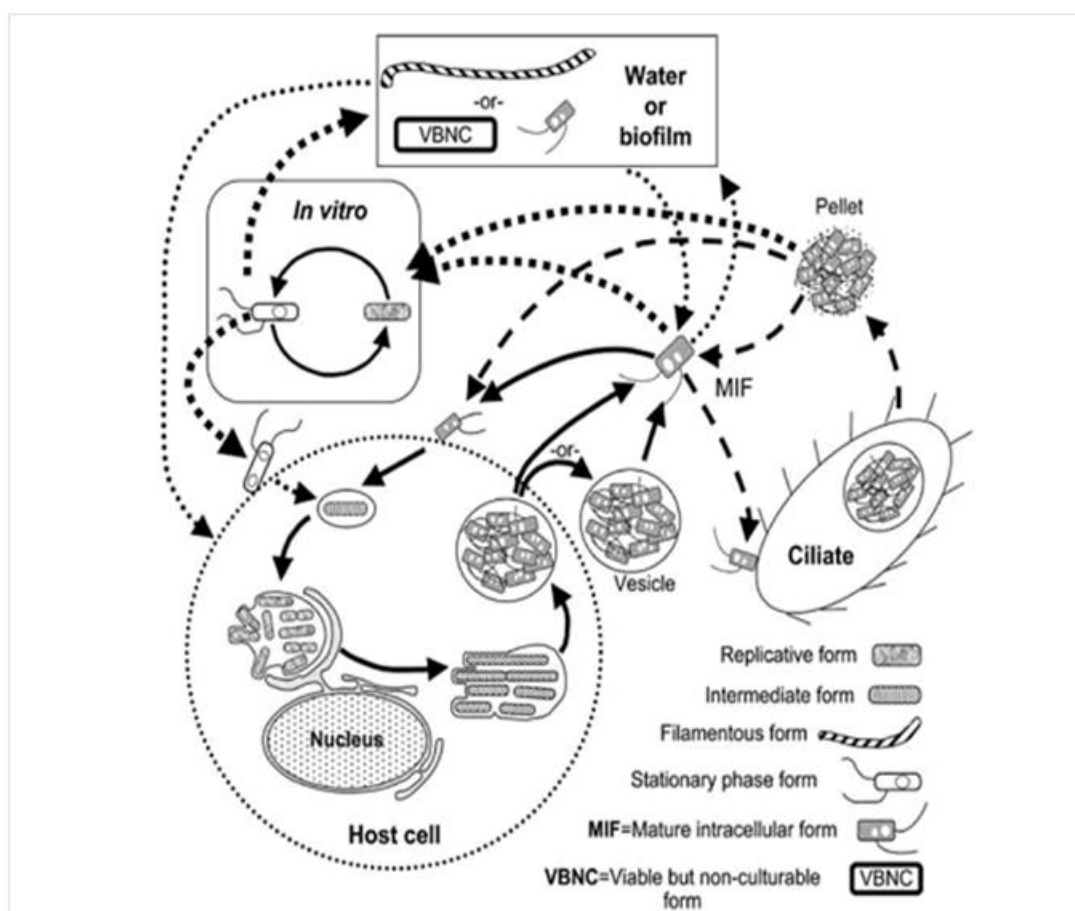


Figure 1-2 Schéma présentant les diverses formes morphologiques de *L. pneumophila* (Heuner & Swanson, 2008)

1.1.2 La légionellose

L'infection par *L. pneumophila* peut se produire lorsque la bactérie est aérosolisée sous forme de petites gouttelettes qui sont inhalées. L'aérosolisation de petites gouttelettes contenant *L. pneumophila* peut se produire aux robinets, pommeaux de douches et panaches de TAR, et ces gouttelettes sont respirables si elles ont un diamètre inférieur à 5 µm (ou diamètre équivalent <10 µm). Après un temps d'incubation de 2 à 10 jours chez l'humain, deux formes de la maladie peuvent se développer, la maladie du légionnaire ou la fièvre de Pontiac, forme bénigne de la maladie à l'allure grippale (Organisation mondiale de la Santé (OMS), 2013). La légionellose ne peut être transmise d'une personne à une autre ou par voie orale (Gouvernement du Québec, 2010a). La légionellose est une pneumonie grave avec un taux de mortalité de 15 à 20% dans la population (Gouvernement du Québec, 2010a), et pouvant atteindre 50 % en milieu hospitalier (Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), 1997). De nombreux facteurs tels que le sexe, l'âge, le tabagisme influencent les risques de contracter la maladie (Gouvernement du Québec, 2010a). La légionellose est une maladie à déclaration obligatoire au Québec auprès du directeur de la Santé Publique.

La maladie du légionnaire ou légionellose est considérée comme relativement rare, mais des éclosions importantes causées par des contaminations de TAR ou de réseaux d'eau chaude ont été rapportées à travers le monde (Craun et al., 2010; Fields, Benson, & Besser, 2002; Sonder et al., 2008; Walser et al., 2014). Plusieurs pays dont le Japon, les pays membres de l'Union Européenne, les États-Unis ont rapporté des hausses majeures d'incidence de la légionellose depuis 1999-2000 (Azuma, Uchiyama, & Okumura, 2013). *Legionella* est l'agent pathogène causant le plus d'éclosions attribuables à l'eau potable aux États-Unis depuis 2001 surpassant les virus entériques, *Giardia* et *Cryptosporidium* (Brunkard et al., 2011). L'importance de la contribution de *L. pneumophila* comme cause de pneumonie dans la population en général est sujette à discussion. Une prévalence plus élevée dans la population générale que précédemment estimée a été mise en évidence lorsqu'un dépistage plus systématique est mis en place (Craun et al., 2010; von Baum et al., 2008).

Il n'existe pas de consensus sur la dose infectieuse permettant d'estimer le risque d'infection correspondant à une concentration précise de légionelle (Buse et al., 2012; Schoen & Ashbolt, 2011). Buse et al. (2012) propose des concentrations dans l'air variant en fonction de la virulence

de la bactérie ou de la susceptibilité des personnes exposées, c'est-à-dire des patients immunodéprimés (Buse et al., 2012). Toutefois, l'application récente de modèles de QMRA (Quantitative Microbial Risk Analysis) à la prédiction d'épidémies documentées suggère que les modèles disponibles peuvent sous-estimer le risque associé à la présence de *L. pneumophila* dans l'eau (Azuma et al., 2013).

1.1.3 Sources d'infection

Plusieurs réservoirs artificiels rapportés par Décarie (Gouvernement du Québec, 2010a) l'agence réglementaire du Royaume-Uni, le Health and Safety Executive (Health and Safety Executive (HSE), 2013c) peuvent supporter, voire favoriser, la croissance de légionelles et former des aérosols. Mentionnons tout d'abord les plus communément reliés à des cas de légionellose :

- ❖ les réseaux d'eau chaude sanitaire (domestique, hospitalier ou de grands bâtiments) par la distribution aux douches, bains, robinets, etc.;
- ❖ les tours de refroidissement (climatisation des édifices ou de refroidissement de procédés industriels);
- ❖ les baignoires à remous et les spas;
- ❖ les fontaines décoratives;
- ❖ les appareils respiratoires (humidificateurs, bronchoscopes, etc.);
- ❖ les douches d'urgences;
- ❖ l'équipement dentaire;
- ❖ l'arrosage et l'irrigation agricole;
- ❖ les véhicules de nettoyage à l'eau ou d'incendie;
- ❖ les usines de traitement des eaux usées;
- ❖ l'équipement de pasteurisation;
- ❖ la bruine d'humidification des légumes et produits alimentaires.

Certains de ces réservoirs sont plus importants en termes d'éclosions ou de nombre de cas isolés. Il est important de souligner que les tours de refroidissement sont associées à de nombreuses et

récentes épidémies de légionellose (Walser et al., 2014) qui se démarquent par leur importance et leur étendue. Mentionnons que certains cas ont été détectés jusqu'à 11 km de la source uniquement par le transport des aérosols (Goupil-Sormany & Huot, 2012). Toutefois, en nombre de cas, les réseaux d'eau chaude des établissements de santé sont un réservoir important en raison de la plus grande vulnérabilité de leur clientèle. Les infections nosocomiales de légionellose sont plus importantes du taux de létalité plus élevé dans une clientèle plus vulnérable (Lecointe et al., 2010).

1.2 Facteurs favorisant la prolifération de *Legionella*

Buse *et al.* (2012) ont effectué une synthèse récente des principaux facteurs influençant le développement de légionelles dans des systèmes d'eau. Certaines des conditions idéales à la prolifération de *L. pneumophila* sont : la température optimale entre 25 et 42°C (Fields et al., 2002; Stout, Best, & Yu, 1986), la présence de biofilm et de protozoaires (Hilborn et al., 2006; Loret et al., 2005; Moore, M. R. et al., 2006; Serrano-Suarez et al., 2013; Valster, Wullings, & van der Kooij, 2010), le temps de stagnation (Laferrière, Prévost, Bédard, Lalancette, & Déziel, 2012; République Française, 2010a), les matériaux de plomberie (Rogers, Dowsett, Dennis, Lee, & Keevil, 1994), l'absence de résiduel de chlore (Mérault et al., 2011) et l'âge élevé du système (Mouchtouri, V. A., Goutziana, Kremastinou, & Hadjichristodoulou, 2010).

Ces facteurs favorisant la prolifération peuvent être maîtrisés en ajustant l'exploitation des systèmes en cause. Les grands principes d'exploitation assurant la prévention du risque de prolifération des légionelles dans les REC sont bien résumés par une circulaire française (République Française, 2010b) :

- *éviter la stagnation de l'eau et en assurer une bonne circulation ;*
- *lutter contre l'entartrage et la corrosion par une conception et un entretien adaptés à la qualité de l'eau et aux caractéristiques de l'installation ;*
- *maintenir l'eau à une température élevée dans les installations depuis la production et tout au long des circuits de distribution et mitiger l'eau au plus près des points d'usage (pour éviter les brûlures).*

Quant aux principes d'exploitation des TAR, ils sont bien synthétisés par la RBQ (Régie du bâtiment du Québec (RBQ), 2013) en quatre points :

- *le traitement de l'eau;*
- *la gestion hydraulique (circulation de l'eau);*

- la gestion des matières solides;
- la limitation de la dispersion des aérosols.

1.2.1 Biofilm et présence de protozoaires

Toute surface en contact avec l'eau développera un biofilm caractérisé par l'adsorption, l'attachement et l'organisation de microorganismes. Un biofilm évolue dans le temps en alternant différentes phases d'accrochage et de largage des microorganismes en réponse aux stimuli de l'environnement. Il est important de contrôler la présence de biofilm dans les réservoirs artificiels, car ils sont l'hôte de *Legionella pneumophila*, d'amibes, de ciliés et d'une multitude de bactéries en leur fournissant les conditions propices pour leur prolifération et leur protection (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Dans l'environnement, *L. pneumophila* se reproduit essentiellement dans des hôtes protozoaires, mais peut se développer et survivre dans un biofilm (Steinert, Hentschel, & Hacker, 2002).

La présence de biofilm est un facteur particulièrement déterminant pour le contrôle de la prolifération de la légionelle dans les TAR et les réseaux. Dans un réseau, plus de 95% des bactéries présentes sont fixées dans le biofilm (Flemming, H.-C., Percival, & Walker, 2002) qui les protège des désinfectants (Laurent, Servais, et al., 2005). Une corrélation a d'ailleurs été établie entre l'augmentation du rapport surface/volume (surface en contact avec de l'eau dans l'ensemble du réseau par rapport au volume d'eau) et la concentration moyenne de *Legionella* mesurée dans l'eau (Bentham & Broadbent, 1993). Les meilleures stratégies industrielles de contrôle du biofilm dans les TAR ciblent le contrôle de l'épaisseur du biofilm par l'utilisation d'un biodispersant à effet tensioactif. L'érosion progressive du biofilm serait le meilleur gage d'une stabilité des concentrations de *Legionella* dans l'eau en raison d'une meilleure efficacité des désinfectants (Merchat, communication personnelle, 2013). Le contrôle de l'épaisseur du biofilm peut aussi avoir un impact économique considérable dans l'opération des TAR. La présence de biofilm, bien plus que les pertes de charge hydraulique qu'elle induit, diminue la capacité d'échange thermique réalisé dans le condenseur puisque la conductivité thermique du biofilm est beaucoup plus faible que celle du métal (Flemming, H. C. & Geesey, 1990).

L'abondance et la diversité des protozoaires, particulièrement les amibes et les ciliés, déterminent la prolifération, la résistance et la virulence de *L. pneumophila* (Cirillo et al., 1999; Lau & Ashbolt, 2009). *L. pneumophila* infecte et prolifère dans un grand nombre d'espèces d'amibes (Alleron,

Merlet, Lacombe, & Frère, 2008; Dupuy et al., 2011). L'omniprésence des amibes a été mise en évidence par Berk dans une étude comparative d'échantillons provenant de 40 TAR et 40 milieux naturels. Les résultats ont mesuré la colonisation d'amibes par *L. pneumophila* dans 22 des 40 TAR, avec une probabilité augmentée par 16 fois de présenter une amibe infectée par *Legionella* provenant d'une TAR comparativement à des amibes provenant de l'environnement (Berk et al., 2006).

L'effet protecteur des amibes envers divers désinfectants a été mis en évidence dans plusieurs études. La réponse de *L. pneumophila* au chlore et au dioxyde de chlore est plus faible en co-culture avec des amibes. Le niveau d'inactivation en co-culture avec des amibes par rapport à la forme planctonique baisse de 2 et 1 log à des Ct de 5 et 0,6 mg min/L. La monochloramine n'est pas influencée par la co-culture avec 1 log d'inactivation à 2 mg min/L dans tous les cas (Dupuy et al., 2011).

L'effet protecteur des amibes contre les traitements thermiques a aussi été mis en évidence. Il est important de faire une différenciation dans la forme des protozoaires telle que les travaux de Cervero l'ont démontré. En effet, les trophozoïtes c'est-à-dire la forme active et infectieuse sont beaucoup plus vulnérables que les kystes, forme environnementale commune et prête à infecter. Par exemple, la figure 1-3 présente l'inactivation en log de plusieurs variétés d'amibes après plusieurs minutes à 50°C. Bien que certaines variétés soient plus résistantes, il est possible d'obtenir une réduction de 2 à 3 log par ce traitement sur la forme trophozoïte comparativement à moins d'un log pour les kystes (Cervero-Arago, Rodriguez-Martinez, Canals, Salvado, & Araujo, 2013).

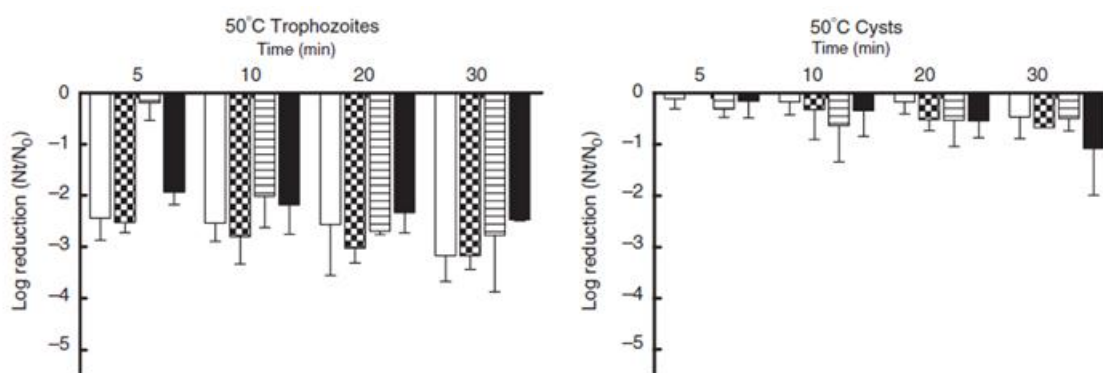


Figure 1-3 Effet des traitements thermiques sur la viabilité des trophozoïtes et kystes de quatre souches d'amibes (Cervero-Arago et al., 2013)

L'efficacité du traitement thermique est plus grande à 60 et 70°C, toutefois, certaines variétés d'amibes sont beaucoup plus résistantes, tel que *Acanthamoeba castellanii* et leur inactivation nécessitent un long temps de contact.

Après un passage dans les protozoaires, *L. pneumophila* se présente sous la forme mature intracellulaire (MIF). Cette forme est infiniment plus résistante aux détergents et 11 fois plus infectieuse que la forme cultivée stationnaire (Garduno, Garduno, Hiltz, & Hoffman, 2002). Elle constitue donc la cible à privilégier dans le contrôle de *L. pneumophila* (Al-Bana et al., 2014; Garduno et al., 2002).

1.2.2 Température

La température optimale favorisant la prolifération de *Legionella* se situe entre 25 et 42°C (Yee & Wadowsky, 1982). Toutefois, la résistance à des températures élevées est caractéristique de cette bactérie. L'impact de la température sur *Legionella* est présenté à la figure 1-4 en fonction des réservoirs artificiels. La désinfection rapide n'est atteinte qu'à des températures élevées de plus de 70°C.

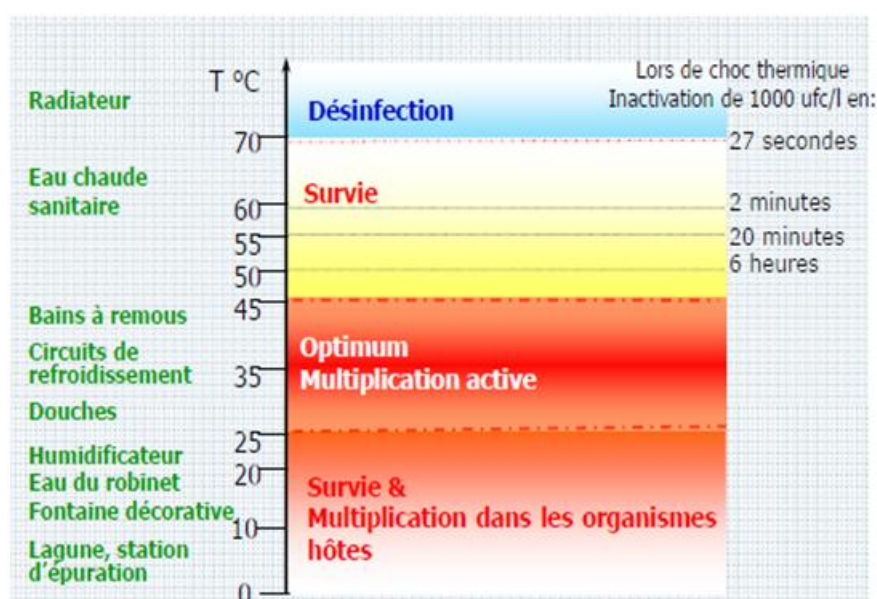


Figure 1-4 Résistance de *Legionella* en fonction de la température (Merchat, 2013a)

L'inactivation de *Legionella* à de hautes températures est fonction du temps de contact, soit le temps d'exposition pendant lequel la bactérie est exposée à des températures élevées. Il est ici possible de faire un parallèle avec l'approche de désinfection des Ct (concentration de désinfectant

X temps de contact). Des courbes d'inactivation typiques sont présentées à la figure 1-5 montrant la décroissance de *L. pneumophila* en fonction du temps de chauffage d'une suspension de cultures de laboratoire dans un milieu riche en nutriments (Figure 1-5). Stout et coll. précisent que le temps d'exposition requis pour une inactivation d'un log à 60°C varie de 1,3 à 10,6 minutes pour 75 isolats de 10 espèces de *Legionella*, dont 8 sérotypes de *L. pneumophila*; alors qu'à 80°C, ce temps diminue à moins de 0,7 minute (Stout et al., 1986). Ces premiers résultats sont encore souvent utilisés pour interpréter la survie de *L. pneumophila* dans les réseaux d'eau chaude.

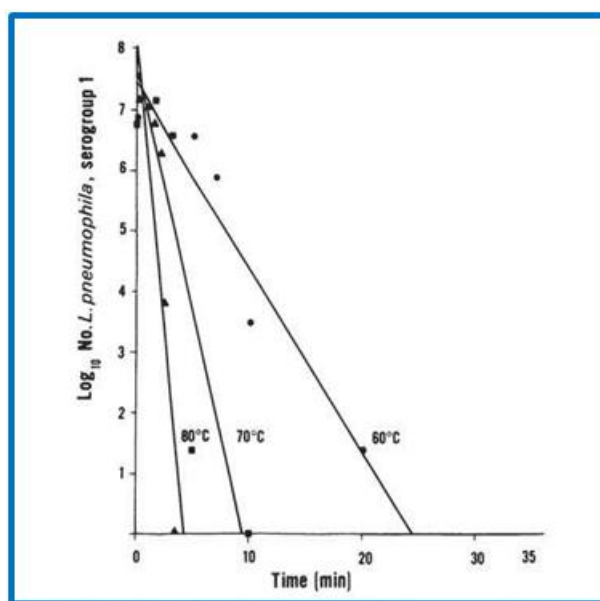


Figure 1-5 Décroissance de *L. pneumophila* sérotype 1 à trois différentes températures en fonction du temps de contact (Stout et al., 1986)

Des travaux plus récents viennent nuancer les observations initiales de la résistance à la température de *Legionella* et de *L. pneumophila*. En effet, les niveaux d'inactivation par la température rapportés par Stout et coll. (1986) ne s'appliquent qu'à la forme de croissance exponentielle ou stationnaire de la bactérie cultivée dans un milieu riche et ne sont pas indicateurs de la résistance des formes planctoniques ou du biofilm présents dans l'environnement. Plusieurs aspects ont été étudiés récemment dont :

- 1) les conditions utilisées pour les essais *Legionella*, particulièrement la préparation des souches et le milieu de suspension;
- 2) la mesure précise de désinfectant résiduel permettant d'estimer correctement une exposition correspondant à une inactivation;

- 3) la présence de formes viables non cultivables, de souches résistantes à la température, de MIF ou de protozoaires.

L'impact de l'exposition de souches environnementales de *L. pneumophila* à une température de 70°C a été étudié par (Allegra et al., 2008). Les résultats montrent une perte rapide de la culturabilité après 10 minutes d'exposition à 70°C. La figure 1-6 montre les différences de cinétique d'inactivation des formes viables cultivables et non cultivables de 12 souches de *Legionella*. On note que certaines souches (*Lp* SG1 066, *Lp* SG1 Paris, *Lp* SG1 Philadelphie, *Lp* SG1 BAC, etc.) sont résistantes au traitement thermique avec moins de 2 log d'inactivation même après 60 minutes de chauffage à 70°C.

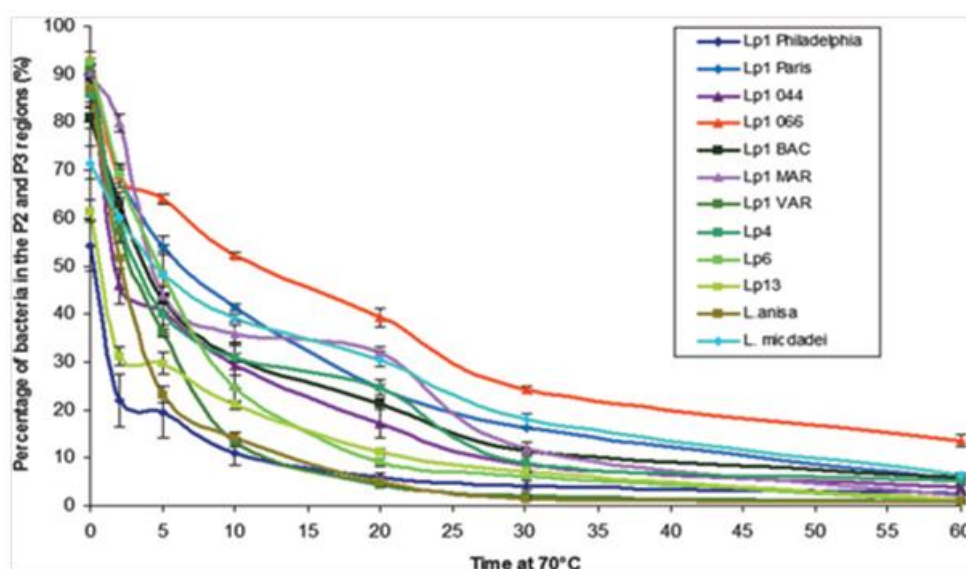


Figure 1-6 Résistance de différentes souches de *Legionella* en fonction du temps de chauffage à 70 °C (Allegra et al., 2008)

Cette résistance de souches environnementales peut être provoquée par des traitements thermiques chocs répétés dans des réseaux d'eau chaude sanitaire hospitaliers. Ainsi, certaines souches de *L. pneumophila* peuvent résister à plus de 60 minutes de traitement à 70°C avec une diminution d'à peine 25% des cellules viables, mais non cultivables. L'effet d'un traitement thermique choc (120 minutes à 70°C) sur *Legionella* est de courte durée aussi bien dans l'eau que dans le biofilm, alors que le maintien d'une température de plus de 55°C dans un réseau permet de diminuer de façon stable les concentrations de *Legionella* (Saby, Vidal, & Suty, 2005).

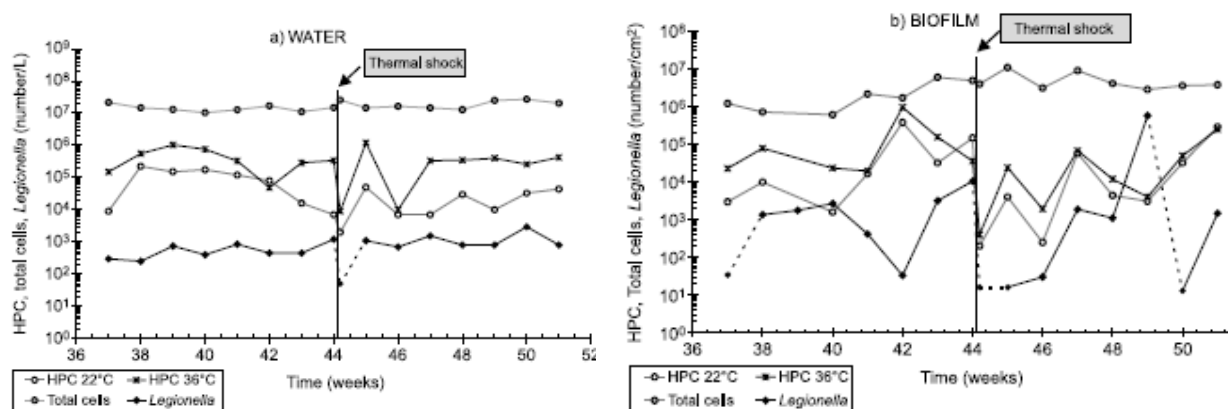


Figure 1-7 Impact d'un traitement thermique curatif à 70°C durant 2 heures (Saby, Vidal et al. 2005)

Il est important de souligner que la température est la première barrière recommandée par la quasi-totalité des auteurs et retenue dans toutes les directives et réglementations visant le contrôle de *Legionella* dans les REC. Toutefois, l'efficacité d'un régime thermique dans un grand réseau dépend de la capacité de maintenir des températures élevées dans l'ensemble du réseau, particulièrement en amont des points d'utilisation. L'influence de la température distale aux points d'utilisation dans les réseaux d'eau chaude sanitaire et d'eau froide sur la positivité de *Legionella* a été démontrée par (Arvand, Jungkind, & Hack, 2011). La figure 1-8 est particulièrement éloquent pour les REC où une variation de quelques degrés au point de consommation a un impact significatif sur la prévalence de *Legionella*. Ces échantillons ont été prélevés après 3L de purge en eau froide et 5 L en eau chaude. Les points ont été sélectionnés dans 4 unités de soin reconnues pour leur concentration élevée en *Legionella* ou des cas de légionellose rapportés.

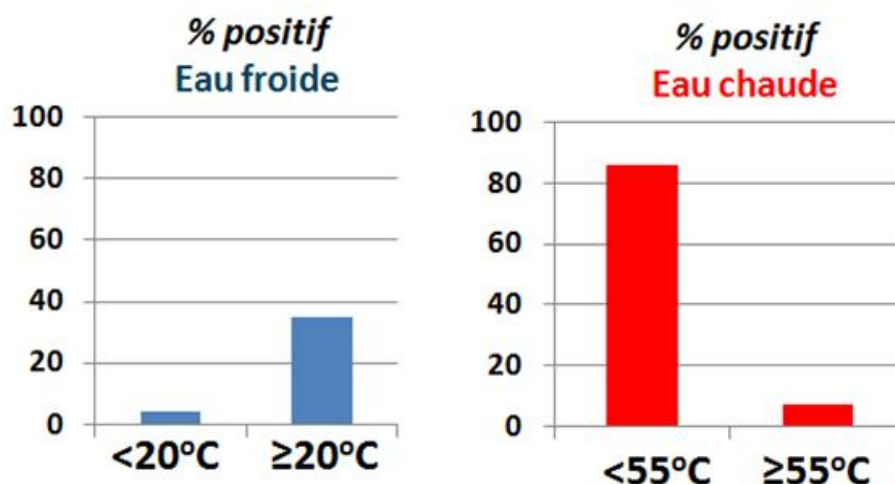


Figure 1-8 Impact de la température distale (mesurée dans le 4^{ème} L d'eau froide et 6^{ème} L d'eau chaude) sur la colonisation par *Legionella* dans quatre hôpitaux (n=625) (adapté de Arvand, 2011)

L'utilisation de la température comme première barrière de prolifération de *Legionella* dans les REC doit être fondée sur une compréhension des limites de cette stratégie. Tout d'abord, afin d'atteindre des températures de 55°C au point distal (de consommation), l'eau doit être suffisamment chauffée au début du réseau d'eau chaude sanitaire dans le chauffe-eau. De plus, il faut que le réseau soit suffisamment bien isolé pour que l'eau reste chaude jusqu'au point d'utilisation. Tous les chauffe-eau n'ont pas la capacité de maintenir des conditions de températures suffisantes pour le contrôle de *L. pneumophila*. Borella et coll. ont démontré que les chauffe-eau électriques présentaient une zone d'entartrage dans le bas du chauffe-eau et donc que l'eau est chauffée inégalement comparativement aux chauffe-eau au gaz présentant moins de prévalence en *L. pneumophila*.

Les principes énoncés précédemment sont appuyés par des réglementations claires dans plusieurs pays. Par exemple, en Grande-Bretagne la température à la sortie des chauffe-eau doit être de 60°C en tout temps, le retour de boucle supérieur ou égal à 50°C ainsi qu'aux points de consommation après une minute d'écoulement (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). La France privilégie une distinction pour la température à la sortie des chauffe-eau entre 60°C pour les établissements de santé et 55°C pour tous les autres types de bâtiments (République Française & Ministère de la Santé et des Solidarités, 2005). Pour ce qui est des retours de boucle et des points du réseau, un minimum de 50°C est prescrit (République Française, 2010b). L'Allemagne propose une

règlementation similaire soit $\geq 60^{\circ}\text{C}$ en sortie de chauffe-eau et en tout point du réseau dans un grand système ($>400\text{L}$ de stockage) et $\geq 60^{\circ}\text{C}$ en sortie de chauffe-eau et $\geq 50^{\circ}\text{C}$ en tout point du réseau dans un petit système ($<400\text{L}$ de stockage) (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004). Finalement, aux États-Unis les consignes prescrites par l'Occupational Safety & Health Administration (OSHA) sont de maintenir la température à la sortie des chauffe-eau à 60°C et la température aux de points de consommation ou retour de boucle à au moins 50°C .

L'impact de la température dans le contrôle de *Legionella* est aussi indirect, car celle-ci influence l'efficacité des désinfectants. Lorsque l'exposition au chlore (Ct) est maintenue constante, l'augmentation de la température de 30 à 50°C n'influence pas l'inactivation par le chlore de *L.pneumophila* sous forme planctonique qui est très rapide et efficace (Dupuy et al., 2011). Toutefois pour maintenir le même Ct à des températures plus élevées il faut appliquer une plus grande concentration, car il est plus difficile de maintenir un résiduel en raison de la consommation augmentée de désinfectant.

La diminution de la température d'opération sous les 20 degrés peut aussi être un moyen efficace de contrôler *L. pneumophila* dans les TAR. L'abaissement de la température exige un fonctionnement plus coûteux au niveau énergétique en raison de l'augmentation de la recirculation. Toutefois, les niveaux de *Legionella spp* <1000 UFC/L ont pu être maintenus pendant deux ans sans traitement supplémentaire. Par contre, la température n'avait aucun effet sur la concentration totale de BHA (Kusnetsov, J. M., Tulkki, Ahonen, & Martikainen, 1997).

1.2.3 Stagnation

La stagnation est définie comme une eau sans mouvement, sans circulation. Il s'agit d'une situation fréquente dans les réseaux d'eau chaude sanitaire sans pompe de recirculation forcée, car l'eau reste stagnante dans les conduites jusqu'à ce qu'il y ait une demande en eau en un point du réseau. C'est aussi une situation fréquente dans des TAR exploitées de façon intermittente. La stagnation de l'eau est reconnue comme une des causes principales de prolifération de *Legionella* dans les réseaux d'eau chaude sanitaire, en raison de l'incapacité de maintenir des températures et des concentrations résiduelles de désinfectants suffisamment élevées (Bartram, Chartier, Lee, Pond, & Surman-Lee, 2007; Health and Safety Executive (HSE), 2013b; République Française, 2010b; Saby et al., 2005). Les bras morts ou cul-de-sac, qu'ils soient hydrauliques ou physiques, aussi bien

dans les réseaux d'eau chaude sanitaire que dans les réseaux des TAR sont des zones perpétuellement stagnantes qui représentent des niches idéales pour la prolifération des bactéries. La stagnation, en plus de favoriser la formation de biofilm (Merchat 2004), réduit l'apport en oxygène et nutriment du biofilm et peut entraîner un état de stress nutritionnel chez les bactéries ou produire le détachement de bactéries du biofilm vers l'eau (Bentham & Broadbent, 1993). La stagnation dans les réservoirs de chaufferie est un facteur de risque de prolifération de *L. pneumophila* documenté en raison de la stratification thermique (Ciesielski, Blaser, & Wang, 1984). Plusieurs études ont montré des contaminations suite à la remise en service de secteurs ou de réservoirs isolés (Fisher-Hoch et al. 1981). La présence des culs-de-sac physiques augmente la vitesse de recolonisation d'un réseau après un traitement thermique (Saby et al., 2005). L'importance de la prolifération dans les antennes avec stagnation a clairement été mise en évidence par la plus grande positivité et l'augmentation des concentrations de *L. pneumophila* dans les échantillons de premier jet (Tableau 1.1) (Cristina et al., 2014; Mouchtouri, V. et al., 2007). Bedard et coll. ont mis en évidence une recroissance microbienne rapide dans les antennes des réseaux d'eau chaude sanitaire avec stagnation pouvant atteindre 3 log de BHA en 1 heure seulement (Laferrière, Prévost, & Bédard, 2013).

Tableau 1.1 Analyses de légionelle en réseau d'eau chaude sanitaire et points de consommation (adapté de Cristina, 2014)

Pathogen	Hot water				
	Outlet points		Plumbing system		Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test
	N	Mean $\pm$ SD	N	Mean $\pm$ SD	
<i>Legionella</i> species (cfu/L)					
<i>Legionella pneumophila</i>	2,081,100	27,382.89 $\pm$ 42,245.33	1,479,100	19,461.84 $\pm$ 29,982.11	$z = 5.908; P < .001$
<i>Legionella pneumophila</i> sg 1	48,400	636.84 $\pm$ 2,033.97	500	6.58 $\pm$ 41.16	$z = 3.460; P < .001$
<i>L. pneumophila</i> sgs 2–14	2,032,700	26,746.05 $\pm$ 42,316.73	1,478,600	19,455.26 $\pm$ 29,985.06	$z = 5.592; P < .001$
Other <i>Legionella</i> species	2,700	35.53 $\pm$ 124.05	0	0	$z = 2.827; P = .004$

C'est pourquoi l'ensemble des directives et réglementations pour contrôler la prolifération de *L. pneumophila* contiennent des recommandations pour éliminer les secteurs stagnants dans les réservoirs, les circuits et les réseaux. Spécifiquement, la réglementation française précise qu'il faut « éviter la stagnation de l'eau et en assurer une bonne circulation » (République Française, 2005b). Certaines directives précisent la longueur maximale des antennes (bras morts) alors que d'autres spécifient des temps d'équilibrage avant l'atteinte de températures de consigne (Association

Française de Normalisation (AFNOR), 2006; Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012; Health and Safety Executive (HSE), 2013b). Par exemple, l'Organisation mondiale de la Santé recommande une longueur pour les bras morts inférieure à 10 fois le diamètre de la conduite ou 3 litres (World Health Organization (WHO), 2011). Au Royaume-Uni, la British Standard Institute (BSI) recommande plutôt un dimensionnement des bras morts en bout de conduite inférieur à deux fois le diamètre de celle-ci ou 1,5 litre pour le réseau principal ou 0,5 litre pour un réseau secondaire. La réglementation allemande a établi un volume mort maximal de 3L au-delà duquel il est obligatoire d'installer un système de recirculation ou un chauffage distal (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004).

L'impact de la stagnation a aussi été étudié dans les réseaux des tours de refroidissement. Toutefois, aucune corrélation n'a pu être établie entre le nombre d'heures d'opération (circulation) quotidiennes et la concentration de *Legionella* (Bentham & Broadbent, 1993). Ce qui a été clairement mis en lumière dans cette étude est l'importante remise en suspension de *Legionella* depuis le biofilm vers l'eau au redémarrage du réseau après une période d'arrêt. L'impact du changement de régime hydraulique décrit précédemment est schématisé à la figure ci-dessous en comparaison avec un régime hydraulique stable avec un biofilm bien contrôlé.

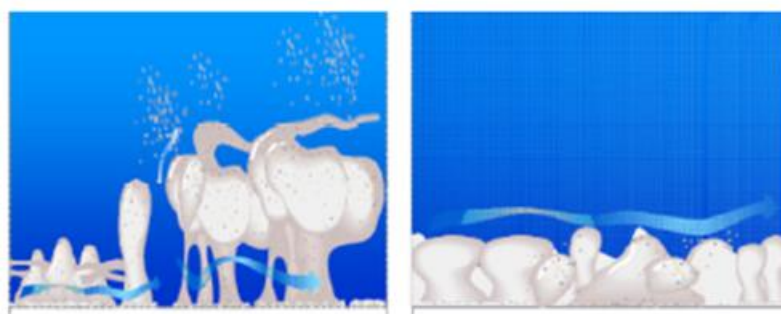


Figure 1-9 Impact du régime hydraulique sur le biofilm (Merchat, 2013a)

La stagnation à long terme est un facteur reconnu de risque de prolifération et la remise en route de TAR et de réseaux d'eau chaude sanitaire après un arrêt prolongé a été associé à des contaminations élevées de *Legionella* et de *L. pneumophila* (Mouchtouri, V. et al., 2007) et même une éclosion à Toronto en 2005 (Expert Panel, 2005). La période suivant la mise en eau et précédant l'utilisation normale du réseau étant risquée, elle doit être écourtée autant que possible. Afin d'assurer la qualité de l'eau lors de la mise en service, le guide anglais (Health and Safety Executive (HSE), 2013b) prévoit diverses procédures de démarrage. Pour les petits réseaux d'eau sanitaire,

une vidange complète du réseau est requise juste avant la période d'occupation. Pour les réseaux plus complexes, il est nécessaire, après la vidange, de procéder à une désinfection au chlore ou au dioxyde de chlore de l'ordre 1 à 3 mg /L. Il est alors nécessaire de suivre le résiduel de chlore durant tout le temps de contact et de s'assurer que le pH soit sous les 7,6. Les fermetures temporaires sont soumises aux mêmes consignes. La mise en route des TAR doit se faire uniquement lorsque l'utilisation du système est requise sinon le réseau doit être drainé. Tout le suivi de la mise en route doit être rapporté au registre de la maintenance spécifiquement adapté au réseau. Une procédure est décrite dans le guide comprenant un pré-nettoyage, nettoyage et un post-nettoyage (Health and Safety Executive (HSE), 2013b).

1.2.4 Qualité de l'eau

La qualité de l'eau, notamment les nutriments présents et incluant ses paramètres physico-chimiques tel que le pH, la dureté et l'alcalinité peuvent influencer la prolifération de *Legionella*.

1.2.4.1 Nutriment

Le contrôle du biofilm dans les réseaux de distribution peut être atteint par une limitation de la matière organique biodégradable (Prévost, Laurent, Servais, & Joret, 2005). Certains auteurs suggèrent qu'une eau peu chargée en nutriments démontre moins fréquemment une présence de *Legionella* (Kusnetsov, J.M. et al., 1993). Certains auteurs attribuent cette tendance à la nécessité de la présence d'une certaine quantité de biofilm avant de soutenir une population de protozoaires pour assurer des conditions de réplication intracellulaire de *Legionella*. Toutefois, le contrôle des nutriments est une option de gestion très difficile à atteindre, car *L. pneumophila* peut se développer en présence d'une concentration très faible de nutriments (van der Kooij & van der Wielen, 2014). Le contrôle par la seule limitation des nutriments n'est donc pas une option efficace de traitement ou de prévention.

1.2.4.2 Dureté et alcalinité

L'eau plus ou moins dure contient plus ou moins de minéraux dissous qui peuvent se cristalliser et précipiter sous forme de tartre en présence de catalyseurs lors d'une hausse de la température. La présence de tartre est un facteur favorisant le développement de biofilm chargé en *Legionella* (Department of Health (DH) & Estates and Facilities Division, 2006).

Dans les réseaux d'eau chaude sanitaire, le fond du ballon des chauffe-eau ou réservoir de stockage d'eau chaude présentent des risques importants d'entartrage et sont parfois responsables d'une contamination systémique des réseaux d'eau chaude sanitaire. En France, il est nécessaire d'effectuer une analyse microbiologique annuelle de ces réservoirs et d'y fournir un entretien adapté (République Française, 2010b).

Les réseaux des tours de refroidissement sont particulièrement susceptibles aux problèmes d'entartrage. En effet, le pH d'opération et l'augmentation de la température et de la minéralisation de l'eau lors des échanges thermiques favorisent la formation de tartre. En raison des coûts énergétiques par la perte de transfert de chaleur qu'engendre une problématique d'entartrage, ces réseaux sont généralement traités préventivement. Il est notamment suggéré d'utiliser des produits chimiques, de limiter la concentration des minéraux par des purges, adoucir l'eau par échangeur d'ion ou encore en augmentant la solubilité du calcium et du magnésium par l'ajout d'acide, mais cette dernière technique s'adresse surtout aux milieux industriels (Health and Safety Executive (HSE), 2000).

1.2.4.3 pH

Le pH peut influencer la prolifération et la survie de *L. pneumophila* par deux voies :

- 1) L'impact du pH sur la croissance de *L. pneumophila* et des protozoaires.
- 2) L'influence du pH sur la corrosion et le maintien d'une concentration effective de désinfectant

Premièrement, la plage optimale de pH rapportée pour la croissance de *L. pneumophila* se situe entre 5,5 et 9,2 (Wadowsky, Wolford, McNamara, & Yee, 1985). En accord, Al-Bana conclut à une importance mineure de ce facteur dans la prolifération de *L. pneumophila* (Al-Bana et al., 2014).

Dans une étude comparative entre 40 milieux naturels et 40 TAR, un pH entre 8 et 9 a été observé comme un facteur de prolifération de *Legionella*, en comparaison des milieux naturels ayant majoritairement des pH sous 8 (Berk et al., 2006). Toutefois, ses conclusions semblent faire abstraction du fait que le pH de l'eau des réseaux de refroidissement est volontairement maintenu entre 8 et 9 pour prévenir la corrosion et que malgré cela, plusieurs TAR ne présentent pas de problème de prolifération de *Legionella*.

Finalement, le pH influencera la forme du désinfectant tel que le chlore qui se dissocie dans l'eau ($pK_a = 7,5$ acide hypochloreux – hypochlorite) ou encore les désinfectants bromés se présentent sous forme d'ions hypobromeux à des pH de 8,7 ou plus basique (Nalepa, 2004). Il est important de souligner que le pH influence la formation de corrosion dont les implications dans le contrôle de *Legionella* sont présentées à la section suivante.

1.2.5 Matériaux et corrosion

Certains matériaux ont un impact direct sur *Legionella*. Les conduites en cuivre dans les réseaux d'eau chaude sanitaire peuvent relarguer des concentrations de cuivre dissous supérieures à 50 µg/L. Ces concentrations auraient un impact positif sur le contrôle de *Legionella*, contrairement à la présence de manganèse supérieure à 6 µg/L qui favorise la colonisation (Bargellini et al., 2011). Dans les mêmes conditions, *L. pneumophila* préfère le PVC, le polyéthylène, et le plastique au verre et à l'acier inoxydable (van der Kooij & van der Wielen, 2014).

L'impact des matériaux est toutefois souvent indirect. En effet, certains matériaux rugueux, poreux ou corrodés tels que la fonte favorisent le développement de biofilm qui représente un paramètre important dans la lutte à *Legionella*. De plus, l'acier de carbone, dont sont constitués certains réseaux de refroidissement, entraîne la dégradation rapide des biocides utilisés dans ces réseaux comparativement à l'acier inoxydable (Tanji, Nishihara, & Miyanaga, 2007).

Les matériaux susceptibles à la corrosion, tels que l'acier, doivent faire part d'un entretien particulier. Certains types d'entretien anodique et cathodique sont décrits dans divers guides (Health and Safety Executive (HSE), 2000).

1.3 Désinfection

La désinfection par définition vise à éliminer les organismes pathogènes de l'eau, non pas à éliminer l'ensemble des bactéries sessiles ou planctoniques dans un réseau d'eau. La cible de désinfection pour le contrôle de la légionelle est d'abord *L. pneumophila*, responsable de la majorité des cas de légionellose, mais aussi le genre *Legionella*, car certaines espèces autres que *L. pneumophila* peuvent causer de légionellose chez des sujets vulnérables. Dans les réseaux d'eau chaude et les TAR, il est aussi nécessaire de cibler les hôtes protozoaires de *Legionella* qui

permettent la réplication de *L. pneumophila* et augmentent son pouvoir infectieux et sa résistance aux désinfectants.

Une désinfection des réseaux d'eau peut se faire à l'aide de biocides oxydants ou non oxydants en traitement préventif ou curatif, de manière ponctuelle ou en traitement continu avec maintien d'une concentration rémanente. L'efficacité des désinfectants peut être évaluée au niveau du biofilm ou des bactéries en suspension, en utilisant des méthodes de détection plus ou moins sensibles aux effets des désinfectants sur la culturabilité des bactéries. La comparaison de l'efficacité de différents désinfectants est souvent effectuée de façon ponctuelle et il est difficile de tirer des conclusions fiables sur l'efficacité relative des désinfectants considérés en raison de la disparité dans les dosages appliqués.

Aux fins de ce mémoire, seuls les aspects de désinfection applicables aux TAR seront considérés. La section sur le traitement thermique couvre les informations pertinentes aux réseaux d'eau chaude. Les oxydants pouvant être utilisés et les dosages acceptables seraient très différents dans le cas d'eau potable.

Deux principaux désinfectants oxydants sont utilisés pour la désinfection des TAR : le chlore (Rangel, K., 2010) et le brome. Le chlore appliqué en continu de manière à maintenir une concentration résiduelle libre élevée est considéré comme le biocide plus efficace pour le contrôle de la légionelle dans le biofilm et l'eau de TAR, en comparaison contrôlée avec l'acide hypobromeux et plusieurs autres désinfectants non oxydants (Thomas, Eccles, & Fricker, 1999). Son efficacité dépend de l'ajustement des dosages assurant le maintien des concentrations résiduelles efficaces, souvent de plus de 2 mg/L Cl_2 . Toutefois, un traitement adéquat pour le contrôle de légionelle n'est pas suffisant pour éviter une recroissance de légionelle une fois le traitement interrompu (Thomas et al., 1999).

Les traitements-chocs au chlore sont fréquemment utilisés par les gestionnaires de TAR, particulièrement des TAR industrielles. Cette approche est utilisée généralement de façon curative plutôt qu'en traitement continu. Il est important de préciser que l'eau des réseaux de refroidissement peut être en contact avec différents produits dans le procédé. En regard de la taille et la complexité de ces réseaux, il s'est avéré qu'un seul point d'injection du chlore est inefficace; des points d'injections multiples sont nécessaires pour que les doses appliquées durant les traitements-chocs soient présentes dans l'ensemble des réseaux (Carducci, Verani, & Battistini,

2010). Si le traitement s'avère efficace pour les BHA et *L.spp.*, tous les auteurs s'accordent pour dire que l'effet des traitements-chocs est de courte durée (inférieure à 15 jours) (Buse et al., 2012; Kusnetsov, J. M. et al., 1997; Saby et al., 2005). Les travaux à l'échelle-pilote de Saby et al (2005) sur les traitements-chocs au chlore démontrent leur inefficacité dans l'eau, mais confirment un certain impact dans le biofilm (Figure 1-10). Bien que plusieurs gestionnaires aux prises avec un réseau contaminé de *L. pneumophila* privilégient une désinfection-choc au chlore, il est clair que l'application de ces traitements est souvent mal effectuée (un seul point d'injection), que les dosages sont souvent mal connus et que la durée de maintien des conditions de traitement optimales n'est pas documentée. Le dosage-choc appliqué dans les TAR est souvent insuffisant.

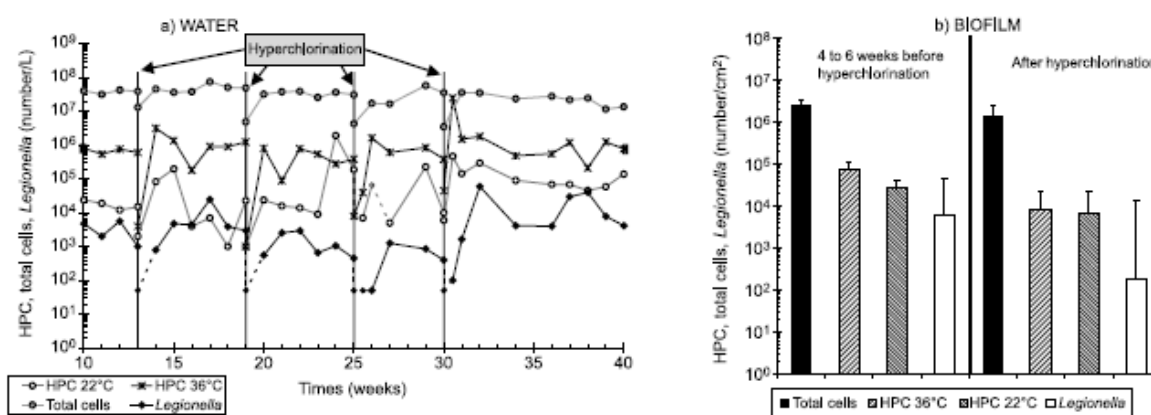


Figure 1-10 Impact de quatre traitements-chocs au chlore (50 mg/L, 12 heures) sur la flore bactérienne et *Legionella* dans l'eau et le biofilm (Saby et al., 2005)

Il est important de souligner qu'une chloration efficace, même si elle diminue les concentrations de *L. pneumophila*, peut entraîner le développement d'une certaine résistance au chlore (Bodet, Sahr, Dupuy, Buchrieser, & Héchard, 2012). Il est toutefois important de préciser que les traitements chimiques au chlore et à la monochloramine peuvent générer des cellules viables, mais non cultivables de *L. pneumophila* dans une proportion de 0,6 à 2,0 log plus élevés que la concentration détectée en culture (Alleron et al., 2008; Giau et al., 2008). Cet aspect est aussi abordé dans la section 1.4, mais il est intéressant de se questionner sur l'application de ce concept à d'autres types de traitement puisqu'il est aussi vrai pour les traitements thermiques tels qu'il a été discuté à la section 1.2.1.

Une revue de littérature sur les produits bromés dans le traitement des eaux (Nalepa, 2004) rapporte leur utilisation dans les tours de refroidissement depuis 1948. Plusieurs des données référées dans

cette publication n'ont pas été publiées et certaines sont même contradictoires. Ils ont été privilégiés dans les TAR en raison de leur efficacité à des pH plus élevés que le chlore, c'est-à-dire jusqu'à pH 8,7 comparativement à 7,5, qui correspond mieux aux pH d'opération des TAR. Les biocides bromés présentent un intérêt particulier pour leur capacité de pénétration dans le biofilm qui est présent sur les surfaces du réseau d'une TAR, et qui représente plus de 99 % des bactéries présentes dans un réseau. En effet, une dose de 3 mg/L de brome appliquée sur un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* a causé une diminution de 1,32 log comparativement à 0,72 pour une dose de 50 mg/L de chlore. Toutefois, l'acide hypobromeux est plus coûteux que le chlore (2,5X) et son efficacité est plus grande sur le compte de bactérie dans les réseaux de TAR à condition d'être utilisé en continu et en combinaison avec le chlore. Il est important de mentionner qu'il s'agit d'un produit avec une toxicité importante, dans l'environnement les concentrations typiquement utilisées sont létales pour la faune aquatique.

Un grand nombre de biocides non oxydants sont aussi disponibles commercialement et sont souvent utilisés par les compagnies de service d'entretien des TAR. Parmi les biocides couramment utilisés dans le traitement préventif des TAR, les isothiazolones sont des composés hétérocycliques assez stables dans l'environnement. Deux composés de cette famille sont fréquemment utilisés le méthylisothiazolinone (MIT, MI) et le chlorométhylisothiazolinone (CMIT, CMI, MCI). Certains produits combinent le 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (CMI) et le 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (MI). L'efficacité de ces composés pour la désinfection est relativement peu documentée et les résultats contradictoires (Rangel, K., 2010). Thomas et al. (1999) rapporte que l'isothiazoline est peu efficace pour contrôler les populations de bactéries hétérotrophes sessiles ou en suspension même en présence d'un résiduel de plus de 7 mg/L, et que son action est relativement plus lente que celle des autres désinfectants. Toutefois, une décroissance rapide du CMI dans l'eau causée par la réaction avec le fer élémentaire (et non pas les dépôts de corrosion) est prévisible en présence d'acier, ce qui peut mener à l'absence de résiduel après deux jours malgré l'application de concentrations recommandées par les manufacturiers (Tanji et al., 2007). De plus, il est recommandé d'utiliser toujours deux biocides non oxydants en combinaison ou en séquence pour éviter l'émergence de résistance aux biocides non oxydants (Health and Safety Executive (HSE), 2013a).

En résumé, peu importe le biocide utilisé, lorsqu'on veut mesurer son efficacité il est important d'identifier la cible, et de distinguer son action sur les différentes formes de *Legionella*

pneumophila (particulièrement le biofilm) et les protozoaires. De plus, aucun désinfectant ou combinaison de désinfectant ne parvient à éradiquer *Legionella*. Finalement, l'application d'un biocide en continu apparaît grandement préférable et les oxydants (chlore ou brome) sont encore d'excellents choix au niveau rendement et coûts.

D'autres types de procédés de désinfection ont été proposés dans le but de diminuer l'utilisation de produits chimiques pour la désinfection des TAR. Plusieurs types de procédés sont disponibles sur le marché dont des procédés magnétiques, électrostatiques, à champs pulsés, à cavitation ultrasonique et à cavitation hydrodynamique (Duda, Stout, & Vidic, 2011). Plusieurs de ces procédés, dont les modes d'action sont différents, sont utilisés avec succès dans d'autres champs d'application que le traitement des eaux de TAR, comme le contrôle de l'entartrage, la perméabilisation cellulaire en biologie moléculaire expérimentale, la désinfection alimentaire. Les procédés magnétiques sont surtout utilisés pour prévenir la formation de dépôts de tartre adhérents en favorisant la formation d'aragonite plutôt que calcite. Les procédés électromagnétiques sont efficaces pour prévenir les accumulations de tartre et pour diminuer la corrosion si certains paramètres de conception et d'exploitation sont respectés (Quinn, Molden, & Sanderson, 1997). Il existe très peu d'études sérieuses et révisées par des pairs indépendants qui permettent d'établir l'efficacité de ces procédés physiques pour le contrôle des biofilms et des bactéries en suspensions. Certaines études de laboratoires montrent un certain potentiel, mais dans des conditions précises et généralement après des expositions beaucoup plus intenses que celles utilisées dans des systèmes destinés au traitement de l'eau (Duda et al., 2011). Duda et al. (2011) ont complété une comparaison rigoureuse de cinq types de systèmes de désinfection physique (magnétique, champs pulsés électriques, champs statiques électriques, ultrasons, cavitation hydrodynamique) pour le compte de l'Association ASHRAE. Les conclusions de cette étude suggèrent qu'il n'y a pas d'effet mesurable de ces dispositifs en contraste avec une désinfection classique au chlore.

1.4 Approche de contrôle de la légionelle dans les TAR

Les réglementations et directives internationales s'accordent pour avancer que la prévention de la prolifération de *Lp* dans les TAR n'est possible qu'avec une approche de gestion du risque. Une approche de la gestion du risque doit mener à l'identification des sources de risques, l'établissement d'un plan de contrôle du risque et à son implantation. Une méta-analyse a récemment mis en évidence que la présence et l'application de procédures d'exploitation et de maintenance sont un

élément déterminant de la prolifération de la légionelle dans les TAR et de la prévention des éclosions (Rangel, K. M., Delclos, Emery, & Symanski, 2011).

Des études suggèrent que la détermination du risque de *Legionella* dans les TAR ne peut pas être fondée sur une analyse unique ou peu fréquente des concentrations de *Legionella* ou de *L. pneumophila* (Bentham, 2000). La compréhension des facteurs de risque est donc essentielle dans la lutte à *Legionella*.

Buse (Buse et al., 2012) proposent d'utiliser une méthode de gestion du risque de légionelle plus complète grâce à l'analyse quantitative du risque microbien – QMRA (Quantitative Microbial Risk Assessment) qui consiste à :

- 1) l'identification des risques;
- 2) l'évaluation de l'exposition au risque;
- 3) l'évaluation de la relation dose-réponse;
- 4) la caractérisation du risque.

De plus, l'absence de formation sur la légionelle du personnel d'entretien dans une étude sur 96 TAR a été identifiée comme un facteur significatif de présence de *L. pneumophila* (Mouchtouri, V. A. et al., 2010).

1.5 Méthodes de détection

Bien que le sujet des travaux décrits dans ce mémoire ne soit pas spécifique aux méthodes de détection de légionelle, celles-ci restent un enjeu majeur dans l'interprétation des résultats de suivi des systèmes étudiés. Les principales limites des méthodes les plus couramment utilisées sont présentées brièvement dans cette section de manière à soutenir la discussion de l'efficacité relative des différents traitements étudiés.

1.5.1 Culture

La méthode par culture sur gélose est la plus communément utilisée, mais il s'agit d'une procédure coûteuse et longue qui sous-estime la concentration, puisqu'il s'agit d'une bactérie qui se cultive difficilement (Lee & Surman, 2002). Deux méthodes sont certifiées pour le dénombrement de Légionelle par culture : norme NF T90-431 (Association Française de Normalisation (AFNOR),

2006) et NF en ISO 11731-2 (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2008). Les échantillons peuvent être prétraités (à la chaleur ou à l'acide) si le contrôle de la flore bactérienne interférente est nécessaire et un repiquage est nécessaire pour effectuer une confirmation exigeant un temps d'incubation entre 4 et 10 jours. De plus, la méthode par culture ne mesure pas les formes de légionelle viables, mais non cultivables qui peuvent être présentes dans les systèmes soumis à des stress environnementaux ou à des désinfectants (Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail (ANSES), 2011; Buse et al., 2012).

1.5.2 qPCR

La quantification par réaction d'amplification en chaîne par polymérase est l'amplification de l'ADN des bactéries. Cette méthode demande un certain calibrage au niveau des amorces et peut être parfois difficile en raison de la présence d'inhibiteurs de la réaction dans l'eau, tels que des métaux (Mérault et al., 2011). De plus, l'interprétation des résultats peut être difficile étant donné que l'ADN des bactéries mortes est aussi amplifié ce qui est peu représentatif du potentiel infectieux. Il est important de préciser que la qPCR est toujours spécifique à une espèce de *Legionella*, comparativement à la culture qui permet de déterminer toute présence de *Legionella* avant la confirmation de *L. pneumophila*. Actuellement une seule méthode par qPCR est certifiée, il s'agit de la norme NF T90-471 (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2010). Le dénombrement, en unités génomes (UG), par cette méthode est difficilement comparable aux résultats en unités formatrices de colonie (UFC) par culture (Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail (ANSES), 2011). Les valeurs observées en qPCR sont généralement plus élevées qu'en culture. À cet effet, l'étude réalisée par Lee et al. (2011) présente une différence de 0,62 log pour *Legionella pneumophila* et de 1,05 log pour *Legionella* spp entre les résultats observés par qPCR et par culture pour les eaux chaudes et froides domestiques.

1.5.3 vPCR

Pour remédier aux limites du qPCR et de la culture, le vPCR, soit la « viable polymerase chain reaction » est actuellement en développement. En effet, cette méthode permettrait de quantifier le nombre de bactéries viables, et non seulement cultivables, tout en ne considérant pas les bactéries mortes (Fittipaldi, Codony, Adrados, Camper, & Morató, 2011). Toutefois, cette méthode n'est actuellement pas commercialisée et nécessite une validation plus large et, à moins d'amélioration

dans les protocoles proposés, son coût la rendrait marginale dans le suivi régulier de *Legionella* (Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail (ANSES), 2011). Néanmoins, des développements récents montrent sa grande utilité et une variante de la méthode est déjà utilisée pour le suivi des réseaux d'eau chaude en milieu hospitalier en Italie (Mansi et al., 2014).

1.5.4 Flore bactérienne

Les concentrations en *L. pneumophila* sont souvent sous la limite de détection des méthodes et la variabilité est très grande, particulièrement dans le cas des TAR mal contrôlées comme l'a schématisé Merchat:



Figure 1-11 Variation dans la concentration de *L. pneumophila* dans un réseau mal contrôlé
(adapté de Merchat, 2013)

Il est donc intéressant de considérer d'autres indicateurs de suivi des réseaux. Le suivi des BHA, des bactéries viables et totales permettent d'évaluer les impacts des traitements sur la flore bactérienne générale. La réglementation australienne/néo-zélandaise norme en ce sens la concentration de BHA à 10^5 UFC/mL dans les TAR (Australian/New Zealand Standard (AS/NZS), 2011). Il est toutefois important de préciser qu'aucune corrélation claire n'a été établie entre les BHA et *L. pneumophila*, mais quelques études ont démontré un compte de BHA plus élevé dans les TAR avec présence et prolifération de *Legionella* (Bargellini et al., 2011; Mouchtouri, V. A. et al., 2010).

Finalement, dans le suivi de la flore bactérienne des réseaux d'eau la méthode LIVE/DEAD® BacLight™ permet de donner davantage d'information que la culture sur la présence de bactéries en permettant de dénombrer le nombre de bactéries vivantes et mortes (Boulos, Prévost, Barbeau, Coallier, & Desjardins, 1999). Cette méthode permet d'estimer les bactéries totales et les bactéries

viables, y compris les bactéries viables cultivables ou non. Ce type d'analyse peut être particulièrement intéressant pour mesurer l'efficacité d'un traitement curatif.

1.6 Règlementations québécoises et directives pour le contrôle de *Legionella*

1.6.1 Réseau d'eau chaude sanitaire

Le récent décret 1202-2012 de la RBQ, entré en vigueur le 11 février 2013, vise le contrôle de *Legionella* et modifie les chapitres de plomberie du code de sécurité et du code de construction pour les réseaux d'eau chaude sanitaire. Premièrement, tous les chauffe-eau de tous les bâtiments doivent assurer une température minimale de 60°C en tout temps. Cette mesure s'adresse spécifiquement à la prévention du développement de bactéries potentiellement mortelles, mais ne prévoit pas de moyen de contrôle ou de suivi. Ce même décret oblige à installer des dispositifs thermostatés sur les douches et baignoires ou encore à les régler manuellement en tenant un registre des mesures des températures à jour sous les 49°C ou 43°C pour les points d'usages des soins aux aînés (Gouvernement du Québec, 2012). Cette recommandation a été émise par le coroner, pour diminuer l'incidence de brûlures et prévenir des décès. Comme l'installation de robinets thermostatés augmente le risque de croissance de légionelle et d'autres bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa*, cette obligation a une influence directe sur le contrôle de la légionelle. En effet, de tels dispositifs créent des zones d'eau stagnante dans la gamme des températures favorisant la prolifération de légionelle.

Le code du bâtiment du Québec s'applique aux constructions neuves ou aux rénovations majeures et prévoit depuis 2008 des mesures de conception de l'architecture hydraulique touchant le contrôle de *Legionella*. Le chapitre de plomberie prévoit qu'une bouche de recirculation est obligatoire pour tout bâtiment de plus de quatre étages ou pour toute conduite de plus de 30 mètres. De plus, la température mesurée en retour de boucle, juste avant le retour au chauffe-eau, doit être supérieure à 55°C ainsi qu'en tout point du réseau (Gouvernement du Québec, 2002). La figure 1-12 présente un schéma du réseau d'eau chaude sanitaire d'un grand bâtiment.

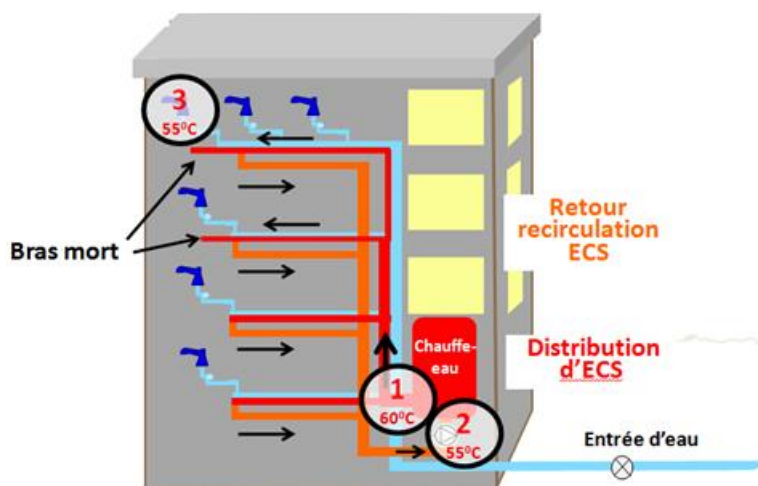


Figure 1-12 Schéma du réseau d'eau chaude sanitaire d'un grand bâtiment

Il est important de noter que les fiches d'interprétation du code mentionnent la possibilité d'arrêter la recirculation, c'est-à-dire la pompe de la boucle de recirculation, la nuit à des fins d'économie d'énergie (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013) (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b).

1.6.2 Tours aérorefroidissantes

Aucune réglementation canadienne visant le contrôle de *Legionella* ne s'appliquait aux tours de refroidissement jusqu'en 2013. Depuis le 12 mai 2013, tous les propriétaires québécois de tour de refroidissement à l'eau qu'elles soient commerciales, industrielles ou institutionnelles et de type ouvert ou fermé, sont soumis au décret n°232-2013 de la RBQ (Gouvernement du Québec, 2013). Il est tout d'abord intéressant de définir les types de tour. La figure 1-13 présente en parallèle une tour de type « ouvert » et « fermé ».

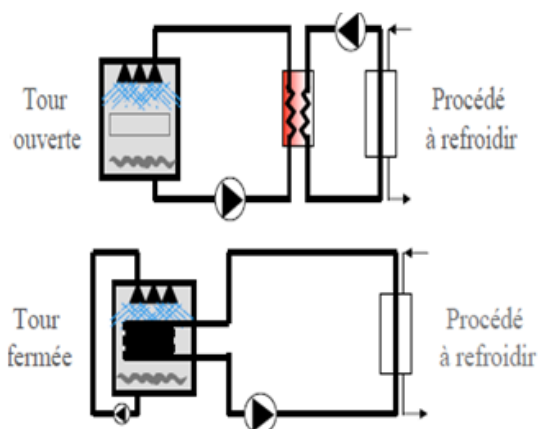


Figure 1-13 Schéma tour de refroidissement de type ouvert et fermé (Merchat, 2013b)

Contrairement à une tour à l'air où l'échange thermique s'effectue uniquement avec de l'air sur un serpentin à refroidir les deux types de tour à l'eau impliquent de l'eau pouvant être aérosolisée sous forme de gouttelettes. Dans une tour « fermée », un serpentin contenant un liquide réfrigérant, tel le glycol, passe dans une tour de refroidissement où un petit volume d'eau ruisselle sur les serpentins en même temps que de l'air y est entraîné dans le but de maximiser l'échange thermique. Dans le cas d'une tour de type ouvert, un grand volume d'eau une fois réchauffée par le condenseur est recirculé vers la tour. Là, les gicleurs la dispersent sur un média d'échange en compagnie d'air entraîné pour maximiser l'échange thermique. Il existe d'autres types de systèmes, ainsi que des systèmes hybrides de ces deux procédés, mais il s'agit des plus couramment rencontrés.

La réglementation actuellement en vigueur exige de la part des propriétaires de TAR :

- la transmission d'un formulaire à la RBQ pour l'inscription sur le registre des TAR;
- un programme d'entretien complet, de remise en route et d'hivernage signé par un membre d'un ordre professionnel;
- la tenue d'un registre d'entretien;
- la révision du programme d'entretien tous les cinq ans ou dès qu'une modification majeure est apportée.

Une plus récente modification, sous forme du décret 454-2014 (Gouvernement du Québec, 2014) vient modifier le code de sécurité en obligeant les propriétaires de TAR depuis le 12 juillet 2014 à effectuer un prélèvement mensuel de l'eau afin compléter une analyse de la concentration de

Legionella pneumophila effectuée par un laboratoire agréé selon une méthode par culture. Cette modification donne suite aux recommandations de la coroner Rudel-Tessier spécifiquement de fixer des seuils sanitaires tolérables de légionelle dans les TAR et des obligations de suivi de légionelle (Rudel-Tessier, 2012). En cas de contamination, la RBQ propose ainsi des stratégies de contrôle en fonction de seuil, ceux-ci sont présentés au tableau 1.2. Il est important de souligner que les propriétaires devront transmettre tous les 30 jours ces informations à la RBQ. Dès qu'un dépassement du seuil de 10^6 UFC/L est observé, les résultats doivent être transmis le jour même à la RBQ et au directeur de la santé publique en plus de procéder à une décontamination immédiate.

Tableau 1.2 Stratégie de contrôle de *Legionella pneumophila* (Régie du bâtiment du Québec (RBQ), 2013)

Niveau d'action	Résultats du suivi	Stratégie de contrôle
Normal	< 10 000 UFC/L	• Maintenir le traitement et le programme d'entretien.
Seuil d'intervention	$\geq 10\,000$ UFC/L	• Identifier les causes de l'augmentation et appliquer des mesures correctives.
	< 1 000 000 UFC/L	• Vérifier l'efficacité des mesures correctives.
Seuil de risque sanitaire qui justifie une action immédiate	$\geq 1\,000\,000$ UFC/L	• Appliquer immédiatement la procédure de décontamination. • Identifier les causes du problème et ajuster le programme d'entretien en conséquence. • Vérifier l'efficacité des mesures correctives. • Effectuer une nouvelle analyse de <i>Legionella pneumophila</i> par culture.

CHAPITRE 2 DÉMARCHE DE L'ENSEMBLE DU TRAVAIL DE RECHERCHE

La démarche expérimentale du travail de recherche se construit en trois grandes parties correspondant à l'étude de trois réservoirs supportant la croissance de *Legionella*. Ensemble, ces parties contribueront à l'élaboration de recommandations générales visant à limiter la prolifération de *Legionella* dans les grands bâtiments.

2.1 Établissement d'un protocole d'analyse et d'identification des bonnes pratiques hydraulique dans les réseaux d'eau chaude sanitaire

La première partie du mémoire est le fruit de deux campagnes d'échantillonnage complétées par des mesures de température supplémentaires et la réalisation d'un pilote au laboratoire sur les pertes thermiques dans les réseaux d'eau chaude sanitaire.

2.2 Campagne d'échantillonnage et d'évaluation en milieu hospitalier

L'étude de l'architecture hydraulique et des résultats historiques des chauffe-eau permettent de caractériser les différents réseaux et de sélectionner des points représentatifs des réseaux d'un établissement hospitalier. Par la suite, une campagne d'échantillonnage microbiologique et physico-chimique est accompagnée de l'établissement des profils de température aux mêmes points de consommation sélectionnés. De cette campagne d'échantillonnage, il a été possible de produire un rapport et des recommandations au centre de santé et de services sociaux concernant le risque de prolifération de *Legionella*.

2.2.1 Mesures supplémentaires de la température

Afin de compléter l'évaluation des réseaux, l'installation d'équipements de lectures et d'enregistrement de la température en continu a été nécessaire pour compléter l'acquisition de données.

2.2.2 Validation du protocole et des conclusions dans un 2e établissement hospitalier

Le même protocole est appliqué dans un 2e établissement hospitalier afin de valider les résultats et conclusions. Ces résultats ont mené à la soumission d'un article pour publication scientifique pour l'utilisation du profil de température comme outil innovateur pour identifier les zones à risques de prolifération de *legionella* et à une proposition de classement du risque d'amplification des légionelles en fonction de divers critères de température.

2.2.3 Vérification du bilan thermique par un pilote

Afin d'améliorer la compréhension des profils de température aux points de consommation, un pilote a été réalisé pour mesurer la température de l'eau pendant une période de stagnation après une période d'utilisation. Grâce à un pilote à deux trains parallèles, deux matériaux d'isolation ont été comparés successivement avec aucune isolation sur des conduites en cuivre.

2.3 Validation de l'efficacité de différents plans de suivi, d'entretien et d'exploitation des tours de refroidissement

La validation de l'efficacité de différents plans de suivi, d'entretien et d'exploitation des TAR est traitée dans la deuxième partie de ce mémoire lors d'une campagne d'échantillonnage saisonnière et du suivi de trois sites de la société des infrastructures du Québec. L'efficacité de l'entretien au moyen de désinfectants a nécessité des expériences supplémentaires au laboratoire.

2.3.1 Campagne d'échantillonnage et de suivi de trois sites

Cinq réseaux de refroidissement sur trois sites ont été sélectionnés, suivis et échantillonnés au cours de la saison d'opération 2013 afin d'évaluer l'efficacité de leurs plans de suivi, d'entretien et d'exploitation de leurs systèmes.

2.3.2 Décroissance et efficacité des désinfectants au laboratoire

Deux désinfectants dans les traitements préventifs des différents réseaux suivis ont fait l'objet d'analyses au laboratoire afin de déterminer leur décroissance et leur efficacité dans l'eau des réseaux des TAR.

2.4 Analyse critique du suivi de *Legionella* en contexte industriel par la création d'une base de données

Essentiellement, l'étude du contexte industriel en situation non réglementée se fait à partir d'une base de données construite à l'aide des analyses des concentrations de *L. pneumophila* effectuées par l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité au travail au cours des dernières années. L'analyse réalisée touche le type de suivi effectué par les industries et la prévalence de *L. pneumophila* dans les TAR industrielles et l'eau de consommation.

CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE

3.1 Essais de perte thermique des conduites en stagnation en laboratoire

L'expérimentation de la perte thermique de l'eau en stagnation sur un pilote simulant une partie d'un réseau d'eau chaude sanitaire est présentée dans cette section.

3.1.1 Matériel

La liste du matériel décrit les composantes du pilote, les matériaux isolants utilisés et l'instrumentation de contrôle pour cette expérience.

- Un pilote comprenant deux trains parallèles avec des conduites en cuivre d'un diamètre de ½ pouce;
- Deux vannes à l'extrémité des deux trains parallèles du pilote et une à l'entrée;
- Un tuyau en plastique flexible de raccordement entre le pilote et un robinet;
- Deux thermocouples;
- Matériau isolant en mousse grise commerciale (polyéthylène) de marque Tundra de 3/8'' d'épaisseur (9,53 mm) présentant une résistivité thermique de 30,3 m°C/W ;
- Matériel isolant en fibre verre d'épaisseur de 1'' avec finition PVC présentant une résistivité thermique entre 28 et 32 m°C/W ;
- Logiciel THR central;

3.1.2 Méthode

Le pilote illustré à la figure 3-1 est alimenté par le réseau d'eau chaude sanitaire d'un grand bâtiment et équipé de thermocouples permettant l'enregistrement à périodes déterminées (5 secondes d'intervalle) de la température sur le logiciel TRH central. Le pilote, doté de deux trains parallèles avec des vannes à ses extrémités, permet de comparer les pertes thermiques de l'eau en stagnation dans des conduites en cuivre isolées de deux matériaux d'isolation différents. Dans le présent cas, une isolation en mousse grise commerciale (polyéthylène), en fibre de verre d'épaisseur de 1" avec finition PVC (conformément au règlement sur l'économie de l'énergie dans les nouveaux bâtiments) et aucune isolation seront comparées pour des conduites en cuivre de ½'' de diamètre.

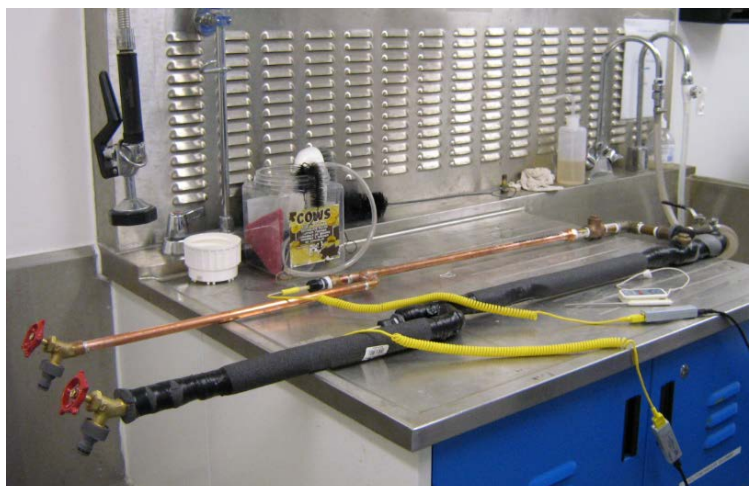


Figure 3-1 Montage du pilote à deux trains parallèles

Une fois l'enregistrement des données démarré, l'alimentation en eau chaude débute en gardant toutes les vannes ouvertes. Lorsque la température maximale à l'intérieur des conduites est atteinte et stabilisée, il faut fermer les vannes de sortie et celle d'alimentation. Ensuite, débute la période de stagnation de l'eau dans les conduites de cuivre après cette simulation d'une consommation d'eau. La période d'acquisition des données se poursuit sur une période de 200 minutes.

3.2 Procédures d'échantillonnages

La section 3.2 décrira toutes les procédures d'échantillonnages utilisées dans les différentes phases du projet, c'est-à-dire en milieu hospitalier et dans les tours aérorefroidissantes.

3.2.1 Milieu hospitalier

3.2.1.1 Identification des réseaux d'eau chaude

Les différentes ailes de l'Hôpital Régional du CSSS d'un territoire sont alimentées par quatre réseaux d'eau chaude sanitaire distincts. L'identification des chauffe-eau est présentée au tableau 3.1.

Tableau 3.1 Réseaux des chauffe-eau de l'Hôpital Régional du CSSS d'un territoire

Nom du réseau	Secteur alimenté	Nb chauffe-eau
Bloc A	Bloc A	2
Nouveau B (3, 4, 5 et 6e étage)	Nouveau B (3, 4, 5 et 6e étage)	1
Bloc G, H	Nouveau B (S, RDC, 1 ^{er} et 2e étage), Bloc G et H	2
Chaufferie	Vieux B, Bloc C, D, E et F	2 + réserves thermiques

3.2.1.2 Équipements de mesure en place

Les équipements de mesure de la température des réseaux d'eau chaude sanitaire déjà en place sont présentés au tableau 3.2.

Les lectures des températures des chauffe-eau et de certains retours de boucles de recirculation sont relevées manuellement tous les samedis par le personnel d'entretien. De plus, les thermomètres à lecture automatique enregistrent les données en mode data à certaines fréquences préétablies. La chaufferie est équipée de thermomètres Winters supplémentaires, ne faisant pas l'objet de lectures systématiques, situés après les réserves thermiques, après le suramplificateur de la buanderie et sur la boucle de recirculation en provenance de la buanderie. Il est important de préciser que deux boucles de recirculation distinctes retournent la chaufferie : le bloc sanitaire et le bloc C, D, E et F, le thermomètre est situé après la jonction de ces deux conduites.

Dans le cadre de l'étude des réseaux d'eau chaude sanitaire de l'Hôpital Régional CSSS, des multimètres ont été installés sur les boucles de recirculation n'étant pas déjà équipées de thermomètres. Les relevés ont été effectués uniquement pendant la période de l'étude. De plus, certains équipements à enregistrement continu ont été installés à différents endroits de la chaufferie pendant la période du 8 au 15 février 2013.

Tableau 3.2 Instruments de lecture de la température installés sur les différents réseaux de chauffe-eau

Nom du réseau	Type de thermomètre au chauffe-eau	Type de lecture	Fréquence	Type de thermomètre au retour de boucle	Type de lecture	Fréquence
Bloc A	Coley Brentford (Fahrenheit)	Automatique	15 minutes	n. a	n. a	n. a
Nouveau B 3, 4, 5 et 6^{ième} étages	Pitanco (double graduation)	Automatique	30 minutes	Weiss instrument Thermomètre à alcool (double graduation)	Visuelle	Aucune
Bloc G, H	Pitanco (double graduation)	Automatique	À toutes les variations de 1°C	n. a	n. a	n. a
Chaufferie	Winters Thermomètre à alcool (double graduation)	Visuelle	1/semaine	Winters Thermomètre à alcool (double graduation)	Visuelle	1/semaine

3.2.1.3 Identification et caractérisation des points d'échantillonnage

Les contraintes économiques et temporelles limitaient le projet à l'étude de 25 points dont le positionnement était déterminant pour assurer la représentativité du bilan. Les facteurs considérés dans le choix des points sont : la représentativité de tous les systèmes de chauffe-eau, l'étage, les bouts de réseau. La représentativité des réseaux d'eau chaude doit, en plus de prendre en compte les facteurs hydrauliques, considérer les secteurs sensibles en regard de la présence de patients immunodéprimés ou vulnérables étant donné le risque plus élevé en présence d'une même concentration de contaminant.

Une autre dimension de l'étude considèrerait le type de robinet, c'est-à-dire conventionnel, donc à contrôle manuel comparativement à électronique avec mitigeurs démontrés comme augmentant le risque de prolifération. Certains points choisis en regard des facteurs énumérés précédemment ont été dupliqués avec un robinet électronique à proximité.

Finalement, le dernier aspect considéré dans le choix des points est la fréquence d'utilisation. Celle-ci doit être fréquente pour assurer la représentativité du risque dans le secteur, mais le point choisi doit pouvoir être délaissé une heure et demie par le personnel hospitalier pour l'échantillonnage.

La liste des points d'échantillonnage sélectionnée est présentée au tableau 3.3 en fonction du réseau auquel ils appartiennent en précisant le critère du choix du point.

Tableau 3.3 Caractéristiques des points d'échantillonnage retenus

Nom du réseau	# Point	Type de point	Critères de choix du point
NA*	1	Soupape de vanne	Entrée d'eau municipale
Bloc A	6	Robinet mitigeur	Sensibilité de la clientèle sur l'étage (cardiologie) en bout de réseau
	15	Robinet mélangeur	Robinet d'évier secondaire du bloc opératoire en bout de réseau au dernier étage
	16	Robinet électronique mitigeur	Robinet électronique au bloc opératoire en duplicata du point #15
	24	Soupape de vanne	Retour de la boucle de recirculation
	27	Soupape de vanne	Sortie du chauffe-eau
Nouveau B (3, 4, 5 et 6e étage)	10	Bain-tourbillon avec robinet mélangeur	Équipement à risque
	13	Robinet mélangeur	Sensibilité de l'étage (hémodialyse)
	14	Robinet électronique	Robinet électronique en duplicata du point #13
	17	Robinet mélangeur	Sensibilité de la clientèle sur l'étage (soins intensifs), en bout de réseau
	18	Robinet électronique	Robinet électronique en duplicata du point #17
	20	Soupape de vanne	Retour de la boucle de recirculation
	28	Soupape de vanne	Sortie du chauffe-eau

Tableau 3.4 Caractéristiques des points d'échantillonnage retenus

Nom du réseau	# Point	Type de point	Critères de choix du point
	29	Robinet électronique mitigeur	Point additionnel échantillonné pour analyse microbiologique en plus du point #18
Bloc G, H	2	Robinet mélangeur	Physiothérapie, utilisation fréquente de l'eau
	4	Robinet électronique	Point représentatif pour l'hémo-oncologie
	5	Robinet mélangeur	Point représentatif pour l'urgence
	25	Soupape de vanne	Retour de la boucle de recirculation
	30	Soupape de vanne	Sortie des chauffe-eau
Chaufferie	3	Robinet mélangeur	Point représentatif de la buanderie
	7	Robinet mitigeur	Chambre en gériatrie
	8	Robinet mitigeur pédale à pieds	Sensibilité de la clientèle sur l'étage (oncologie)
	9	Robinet mitigeur pédale à genoux	Sensibilité de la clientèle sur l'étage (néonatal)
	11	Robinet mélangeur	Chirurgie, point de lavage souillé
	12	Robinet mélangeur	Bout de réseau
	19	Robinet mitigeur	Bout de réseau
	21	Soupape de vanne	Sortie des réserves thermiques
	22	Soupape de vanne	Retour de la boucle de recirculation du bloc sanitaire
	23	Soupape de vanne	Retour de la boucle de recirculation du bloc B, C, D, E et F
	26	Soupape de vanne	Sortie des chauffe-eau

3.2.1.4 Protocole de caractérisation des points

Le protocole de caractérisation des points échantillonnés est disponible en annexe 1. Le protocole comprend un relevé photographique incluant le numéro du local, l'environnement du robinet, les détails du robinet. De plus, la tuyauterie de raccord, le drain ainsi que son angle avec le robinet doivent être photographiés. Simultanément, une grille de caractérisation est complétée relevant : le diamètre des conduites d'alimentation et de raccord, le matériau de la conduite de raccord, la vitesse de drainage, le potentiel d'éclaboussure et l'état de l'aérateur.

3.2.1.5 Protocole d'échantillonnage des points de consommation et des chauffe-eau

Tout d'abord, un seul échantillon d'eau mélangée des trois entrées de service municipal est prélevé par une soupape de purge en un point représentatif.

Des points d'échantillonnages sur les conduites de distributions justes après les chauffe-eau ont été sélectionnés pour représenter ceux-ci. Les points d'échantillonnage des retours de boucle sont situés une fois toutes les boucles sectorielles jumelées immédiatement avant le retour au chauffe-eau. Toutes les soupapes de purges pour échantillonnage sont clairement identifiées et nettoyées avec une lingette d'alcool et d'eau milli-Q. Environ 1 litre d'eau est purgé avant le prélèvement du litre suivant dans une bouteille stérile pour les analyses microbiologiques. Un dernier échantillon est prélevé dans une bouteille de 250 mL pour mesurer sur place la température et les caractéristiques physico-chimiques de l'eau, c'est-à-dire : le chlore libre et total, le pH et la conductivité. Le protocole d'échantillonnage est présenté à l'annexe 1.

Pour ce qui est des d'échantillons pour analyse microbiologique et physico-chimique aux points de consommation, ils sont prélevés immédiatement à l'ouverture du robinet après une période de stagnation inconnue.

3.2.1.6 Profils de qualité physico-chimique de l'eau aux points de consommation

Pour 18 points de consommation du réseau, un profil de la qualité physico-chimique de l'eau a été réalisé en eau froide et en eau chaude grâce à une série d'échantillonnage. Tout d'abord la température et le résiduel de chlore ont été mesurés à l'ouverture du robinet en eau froide. Par la suite, sept autres échantillons sont prélevés sur une période de 20 minutes selon un laps de temps établie. Le pH, la conductivité et la concentration en chlore total sont mesurés après 10 dernières minutes d'écoulement. Le même profil est effectué en eau chaude, mais sur une période continue d'une heure totalisant 11 échantillons. Les points de consommation équipés d'un robinet thermostaté n'étaient évalués que selon un profil de qualité selon le réglage déjà en place sur une période d'une heure.

3.2.2 Protocole d'échantillonnage des tours aérorefroidissantes

Dans un premier temps, les réseaux de refroidissement des trois sites à l'étude seront caractérisés, les schémas hydrauliques des réseaux seront présentés ainsi que le principal attrait du choix de ces systèmes pour l'étude. Par la suite, les différents protocoles d'échantillonnages seront détaillés.

3.2.2.1 Identification des réseaux

3.2.2.1.1 Fiche descriptive

Un questionnaire a été rempli par le chef d'exploitation ou l'ingénieur pour décrire le site de l'étude. Le tableau 3.4 présente les caractéristiques des sites, des tours de refroidissement et du mode d'exploitation.

Tableau 3.5 Caractéristiques des TAR, réseaux et mode d'exploitation des différents sites

Identification du bâtiment	Unité	Site 1	Site 2
Nombre d'étages du bâtiment	étage	15	6
Superficie du bâtiment	m ²	68000	12576
Nombre de tours de refroidissement	unité	2	1
Nombre de systèmes distinct	unité	2	1
Sous-traitant de l'entretien des tours	-	Non	Oui
Plan d'évaluation des risques de la légionelle	-	Oui	Non
Formation du personnel sur la légionelle	-	Oui (50 %)	Non
Emplacement de(s) la (les) tour(s)	-	Toit	Toit
Caractéristiques générales des TAR		tour #1 et tour #2	tour #1
Type de TAR	-	Tour ouverte	Tour ouverte
Fonctionnement	-	Saisonnier	Toute l'année
Arrêt de fin de semaine	-	Possible	Oui
Âge de la tour	année	2005	2009
Âge du réseau	année	1966	1986
Distance entre le condenseur et la TAR	étages	7	6
Diamètre de la tuyauterie du réseau	pouce	12	8
Superficie d'échange thermique du condenseur	m ²	79,17	n.d.
Volume d'eau dans le réseau	m ³	20	10
Entretien et maintenance		tour #1 et tour #2	tour #1
Type de traitement préventif		Chimique	Champs électromagnétiques
Mode injection produit chimique		périodique & automatique	n.a.
Fréquence d'injection		2 injections/ semaine (jour 1 & 4)	n.a.
Produit(s) chimique(s) préventif		jour 1: Biosperse™ 250 MICROBIOCIDE (Magnesium nitrate, 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one, 2-methyl-2H-isothiazol-3-one) jour 4 : Biosperse™ 295 MICROBIOCIDE (2-BROMO-2-NITRO-1,3-PROPANEDIOL)	n.a.
Dosage régulier	Litre	entre 6 et 10	n.a.
Durée d'injection	minutes	20	n.a.
Produit(s) chimique(s) curatif (choc)		CSW 20 (sodium hypochlorite, sodium hydroxide)	n.a.
Température extérieure contrôlant le démarrage du condenseur	Celsius	13	n.d.
Température de l'eau contrôlant le démarrage des ventilateurs	Celsius	28	26
Température de contrôle démarrant le 2e réseau	Celsius	boucle d'eau glacée à 45 F	n.a.
Recirculation		Recirculation forcée tous les jours. Alternance priorité des réseaux Enviroplus™ 2503 (tripotassium phosphate, 4(ou 5)-méthyl-1H-benzotriazolide de sodium & tetrapotassium pyrophosphate)	toutes les 6 heures recirculation pendant 20 minutes
Type d'agent anticorrosion		Oui (partagé réseau 2) Non	n.a.
Débitmètre sur l'eau d'appoint			Oui
Présence visible de corrosion		Léger dépôt à certains endroits	
Présence visible de calcaire/tartre			
Système de filtration de l'eau		Tamis	Sable
Spécifications tour		tour #1 et tour #2	tour #1
Temps de parcours de l'eau dans l'immeuble	minutes	2	n.d.
Surface de ruissellement	m ²	39	n.d.
Drainage par gravité (en arrêt du système)	-	Oui	Oui

Tableau 3.6 Caractéristiques des TAR, réseaux et mode d'exploitation des différents sites

Identification du bâtiment	Unité	Site C	
Nombre d'étages du bâtiment	étage	20	
Superficie du bâtiment	m ²	146399	
Nombre de tours de refroidissement	unité	6	
Nombre de systèmes distinct	unité	5	
Sous-traitant de l'entretien des tours	-	Non	
Plan d'évaluation des risques de la légionelle	-	Non	
Formation du personnel sur la légionelle	-	Oui (66 %)	
Emplacement de(s) la (les) tour(s)	-	Toit	
Caractéristiques générales des TAR		tours 1 & 2	tour #3
Type de TAR	-	Tour ouverte	Tour fermée
Fonctionnement	-	Saisonnier	Toute l'année
Arrêt de fin de semaine	-	Dimanche seulement	Non
Âge de la tour	année	2013	2003
Âge du réseau	année	1970	2003
Distance entre le condenseur et la TAR	étages	24	24
Diamètre de la tuyauterie du réseau	pouce	15	6
Superficie d'échange thermique du condenseur	m ²	n.d.	n.d.
Volume d'eau dans le réseau	m ³	151,4	4,7
Entretien et maintenance		tours 1 & 2	tour #3
Type de traitement préventif		Chimique	Chimique
Mode injection produit chimique		périodique & automatique	périodique & automatique
Fréquence d'injection		2 injections/ semaine (jour 1 & 4)	2 injections/ semaine (jour 1 & 4)
Produit(s) chimique(s) préventif		jour 1: Biosperse™ 250 MICROBIOCIDE (Magnesium nitrate, 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one, 2-methyl-2H-isothiazol-3-one) jour 4 : Biosperse™ 295 MICROBIOCIDE (2-BROMO-2-NITRO-1,3-PROPANEDIOL)	jour 1: Biosperse™ 250 MICROBIOCIDE (Magnesium nitrate, 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one, 2-methyl-2H-isothiazol-3-one) jour 4 : Biosperse™ 295 MICROBIOCIDE (2-BROMO-2-NITRO-1,3-PROPANEDIOL)
Dosage régulier	Litre	15	1/2 (gallons)
Durée d'injection	minutes	10	60
Produit(s) chimique(s) curatif (choc)		CSW 20 (sodium hypochlorite, sodium hydroxide)	CSW 20 (sodium hypochlorite, sodium hydroxide)
Température extérieure contrôlant le démarrage du condenseur	Celsius	n.d.	n.d.
Température de l'eau contrôlant le démarrage des ventilateurs	Celsius	21	quand le glycol atteint 70 F
Température de contrôle démarrant le 2e réseau	Celsius	21 - tours 1 et 2 simultanées	n.a.
Recirculation		Non	pompe de recirculation brisée
Type d'agent anticorrosion		Enviroplus™ 2503 (tripotassium phosphate, 4(ou 5)-méthyl-1H-benzotriazole de sodium & tetrapotassium pyrophosphate)	Enviroplus™ 2503 (tripotassium phosphate, 4(ou 5)-méthyl-1H-benzotriazole de sodium & tetrapotassium pyrophosphate)
Débitmètre sur l'eau d'appoint		Oui (partagé)	Oui (partagé)
Présence visible de corrosion			
Présence visible de calcaire/tarte			
Système de filtration de l'eau		Sable	Tamis
Spécifications tour		tours 1 & 2	tour #3
Temps de parcours de l'eau dans l'immeuble	minutes	n.d.	n.a.
Surface de ruissellement	m ²	12 x 12 pieds	10 x 10 pieds
Drainage par gravité (en arrêt du système)	-	Non	n.a.

3.2.2.1.2 Caractérisation des réseaux du site 1

Le site 1 présente deux réseaux de refroidissement identiques en parallèle. Chacun de ses réseaux de 20 000 L comporte deux tours de refroidissement sur le toit de type « ouvert ». Le détail des éléments des réseaux est situé sur la figure 3-2. Il est important de souligner qu'un by-pass d'une longueur de deux mètres munie d'une vanne relie les deux réseaux entre eux, mais n'a jamais été mis en fonction durant la période de l'étude.

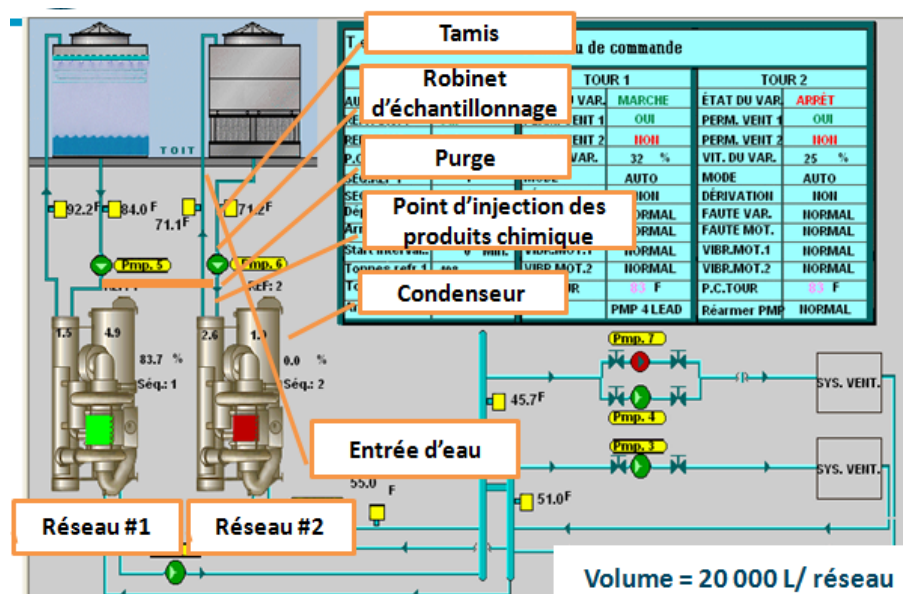


Figure 3-2 Schéma hydraulique des réseaux de TAR 1 et 2 du site 1

3.2.2.1.3 Caractérisation d'un réseau du site 2

Le choix du 2e site s'est porté sur ce réseau unique de 10 000L d'un petit bâtiment de 6 étages en raison des résultats historiques élevés en *L. pneumophila* rapportés et que la stratégie de traitement ne comporte aucun produit chimique, mais plutôt un système électromagnétique *Pulse~Pure*TM. Les éléments hydrauliques importants du réseau sont présentés à la figure 3-3. Il est intéressant de noter que lorsque le réseau n'est pas en fonction l'eau du bassin de la tour est drainée gravitairement vers un bassin intérieur et qu'un 2e condenseur peut être mis en route lorsqu'il y a un besoin d'échange thermique plus grand, mais que cette section du réseau représente sinon un bras mort.

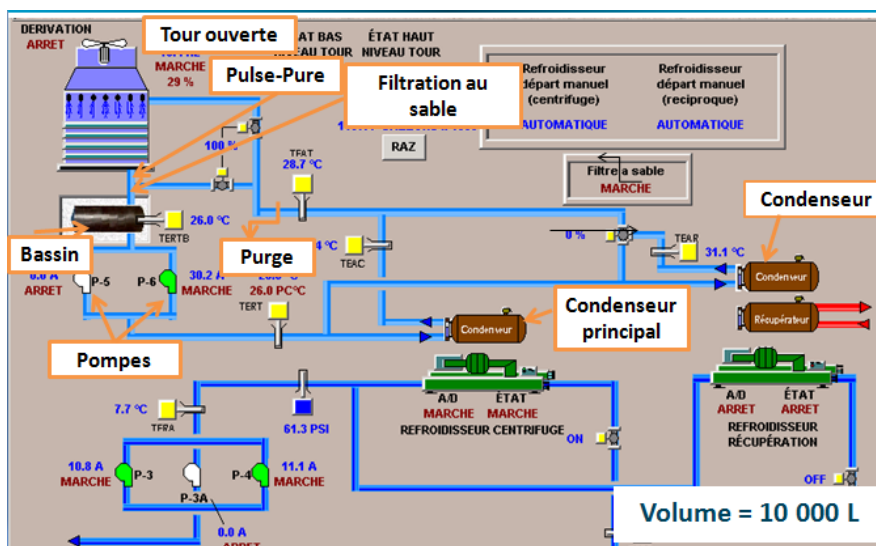


Figure 3-3 Schéma hydraulique du réseau du site 2

3.2.2.1.4 Caractérisation du réseau de site 3

Le site 3 a suscité un intérêt par le remplacement de deux tours du réseau principal de 40 000 L de l'immeuble au cours de l'hiver 2013. Ce réseau s'est avéré positif en *L. pneumophila* au démarrage de celles-ci. De plus, le réseau compte quatre autres réseaux, dont celui de la tour 3 qui était aussi suivi dans le cadre de l'étude, car il s'agissait d'un réseau d'appoint au réseau principal. Le détail de ces deux réseaux est présenté à la figure 3-4. Les trois autres réseaux, comptant chacun une tour, n'ont pas été suivis et servaient spécifiquement au refroidissement du matériel informatique.

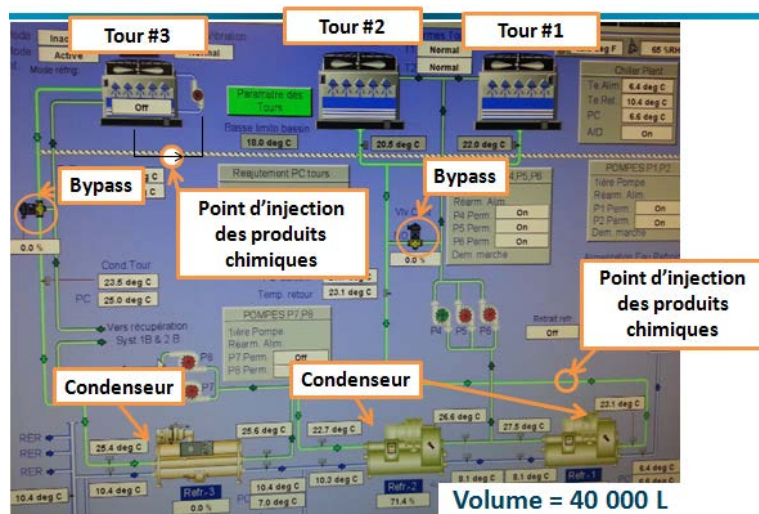


Figure 3-4 Schéma hydraulique du réseau des TAR 1 et 2 et du réseau 3 du site 3

3.2.2.2 Protocole d'échantillonnage

3.2.2.2.1 Échantillonnage pour analyse microbiologique

Le protocole d'échantillonnage pour les analyses microbiologiques des TAR employé est calqué sur le protocole d'échantillonnage de l'eau du circuit des tours de refroidissement pour la recherche des légionelles (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ), 2013). Une bouteille plastique stérile d'un litre doit être additionnée de 1 mL de thiosulfate de sodium à une concentration de 1 % pour inactiver tout résiduel de désinfectant. Le choix du site doit être représentatif pour chaque réseau. Si un robinet d'échantillonnage n'est pas disponible, il est possible d'échantillonner directement dans le bassin de la tour. Dans ce cas, la bouteille doit être immergée avec un angle de 45° sans perdre le thiosulfate, mais en prélevant l'eau à plus de 2,5 cm sous la surface. Si une soupape de purge permet de prélever un échantillon représentatif du réseau, il faut procéder à un rinçage d'environ 1 L avant de prélever immédiatement l'échantillon microbiologique. Le transport doit s'effectuer rapidement et à température ambiante dans les plus brefs délais. Si toutefois l'échantillon n'est pas apporté au laboratoire immédiatement après l'échantillonnage il est conservé au réfrigérateur à 4°C.

3.2.2.2.2 Suivi de routine

Le suivi de routine comporte le suivi cinq jours consécutif (du lundi au vendredi) du réseau d'une TAR opérée et traitée préventivement selon la stratégie régulière.

Le suivi de routine inclut des analyses physico-chimiques, les relevés des températures (ambiante, après le condenseur et de l'échantillon pour analyse physico-chimique) ainsi que les relevés des débitmètres d'eau d'appoint et de purge des TAR. L'échantillonnage pour les analyses physico-chimiques est fait dans une bouteille de plastique propre de 250 mL selon la même procédure que l'échantillonnage microbiologique. Si cet échantillonnage est effectué le même jour qu'un échantillonnage microbiologique, il est réalisé immédiatement après. Les analyses physico-chimiques effectuées sont : le pH, la conductivité, la turbidité et le chlore résiduel et total.

Pour les TAR utilisant une stratégie préventive de traitement par l'utilisation de biocide, un échantillonnage pour analyses microbiologiques est effectué juste avant l'injection de biocide et 1 heure après. Pour les TAR n'employant pas de biocide dans leur traitement préventif, deux échantillons pour analyses microbiologiques au cours d'une semaine de suivi de routine. Les

analyses microbiologiques effectuées lors d'un suivi de routine sont : les bactéries hétérotrophes aérobies (BHA), les bactéries viables et totales.

3.2.2.2.3 Suivi d'un traitement correctif ou curatif

Le traitement correctif ou curatif du réseau d'une TAR peut être chimique (traitement avec une concentration élevée de biocide) ou mécanique (vidange du réseau, nettoyage physique de la tour, etc.). Dans ce type de traitement, un échantillonnage est effectué immédiatement avant le traitement. Des analyses physico-chimiques sont réalisées: le pH, la conductivité, la turbidité et le chlore résiduel et total et microbiologique : les BHA, les bactéries viables et totales. Le traitement curatif ou correctif est alors documenté au niveau des produits, des concentrations, des durées et des manipulations effectuées. Quatre échantillons pour analyses physico-chimiques et microbiologiques sont ensuite réalisés dans les 7 jours suivant la fin du traitement.

3.2.2.2.4 Suivi d'un arrêt prolongé

Un arrêt prolongé est défini comme un arrêt du système, donc de la circulation de l'eau dans le réseau de la TAR, pendant une période consécutive d'au moins trois jours. Dans ce type de suivi, un échantillon est prélevé juste avant l'arrêt pour analyses physico-chimiques et microbiologiques. Puis un échantillon est prélevé entre 30 minutes et 6 heures après la remise en circulation de l'eau dans le réseau et les mêmes analyses physico-chimiques et microbiologiques sont réalisées.

3.3 Méthodes analytiques

3.3.1 Paramètres physico-chimiques

Le tableau 3.6 présente l'ensemble des méthodes d'analyses ainsi que leur référence pour les paramètres physico-chimiques mesurés lors du projet.

Tableau 3.7 Méthodes et références des paramètres physico-chimiques

Paramètre	Appareil	Méthode et référence
Bronopol	UAPLC-MS-Qexactive Source ESI Colonne HypersilGold	Chimie analytique environnementale, Université de Montréal. Développé par S. VoDuy et S.Sauvé
Conductivité	Oaklon	Mesure de la conductivité électrique dans la plage 0 à 1999 μS à l'aide d'un conductivimètre portable adapté de la méthode n°2510 (American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), & Water Environment Federation (WEF), 2005).
Chlore total et résiduel	Hach Pocket Colorimeter™ II	Méthode Hach DPD 8169
CMI + MI	UHPLC-MS/MS Source APCI Colonne HypersilGold	Chimie analytique environnementale, Université de Montréal. Développé par S. VoDuy et S.Sauvé
Débit	Réseau d'eau chaude sanitaire : bouteille de 250 mL + chronomètre TAR : débitmètre disponible sur l'eau d'appoint ou la purge	n.a.
pH	Accumet pH Meter	4500-H ⁺ B (American Public Health Association (APHA) et al., 2005).
Température	Thermomètre analytique	n.a.
Turbidité	Hach 2100N Turbidimeter	Nephelometric 2130 B (American Public Health Association (APHA) et al., 2005)

3.3.2 Paramètres microbiologiques

3.3.2.1 Bactéries hétérotrophes aérobies (BHA)

Les microorganismes cultivables sont dénombrés par le nombre de colonies formées après sept jours d'incubation à température pièce sur un milieu de culture R2A adapté n°9215 de la méthode standard (American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), & Water Environment Federation (WEF), 2012).

3.3.2.2 Bactéries viables et totales

Les bactéries viables et mortes sont dénombrées par épifluorescence en utilisant la méthode LIVE/DEAD® BacLight™ tel que décrit dans la littérature (Boulos et al., 1999).

3.3.2.3 *Legionella*

Les analyses légionelles comprennent des analyses de *L. pneumophila* et *L. spp.* par culture et des analyses de *L. pneumophila* par qPCR. Cette section présente les méthodes d'analyse par culture et qPCR pour cette bactérie.

3.3.2.3.1 Méthode par culture

Pour les REC, la méthode semi-quantitative retenue pour la détection de *Legionella pneumophila* et *spp.* est adaptée de celle utilisée par l'Hôpital Sainte-Justine. Dans le but de limiter la croissance de la flore microbienne interférente, un prétraitement thermique à $50 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 30 ± 2 minutes a été ajouté au protocole (Organisation Internationale de normalisation (ISO), 1998). La culture est effectuée sur un milieu BCYE et la confirmation est effectuée sur le milieu sélectif MWY. Le protocole détaillé comprenant les modifications est présenté à l'annexe 2. La limite de détection varie en fonction des volumes utilisés et se situe entre de 50 et 100 UFC/L. La confirmation des colonies de *Legionella* est effectuée par différents tests biochimiques : coloration de Gram, test de la catalase, croissance sur milieu gélosé au sang strié (incubé à 37°C à 5% CO_2), coloration de confirmation par immunofluorescence directe de la compagnie Biorad et vérification à la lampe de Wood (UV) si fluorescence.

Les analyses *L. pneumophila* réalisées pour les TAR ont été effectuées mensuellement au centre d'expertise en analyse environnementale du Québec selon la méthode de culture AFNOR NF T90-

431 (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2006). Cette méthode comprend un prétraitement thermique et à l'acide (pH = 2 ; 5minutes).

La détection de *Legionella* dans l'eau des milieux industriels à l'IRSST est réalisée selon un protocole qui leur est propre : la méthode analytique 370 (Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST), 2013). Le principe repose aussi sur la croissance sur une gélose BCYE d'un échantillon après dilution ou concentration par filtration. Afin de réduire la flore interférente, l'échantillon peut être prétraité à la chaleur. La valeur minimale rapportée selon le protocole employé est de 10 UFC/L pour l'eau de consommation et 3 000 pour l'eau de procédé.

3.3.2.3.2 Méthode qPCR

La détection et la quantification de *L. pneumophila* par qPCR dans les réseaux d'eau chaude sanitaire comprend tout d'abord une étape de filtration de 0,9 à 1 L d'échantillon sur un filtre de 0,45 µm de porosité en esters de cellulose. L'extraction de l'ADN est effectuée directement à partir du filtre à l'aide de billes d'agitation en céramique (MPBio) selon une adaptation de (Maynard et al., 2005). Un mL de tampon de lyse était ajouté dans les tubes d'extraction au moyen du FastPrep-24 de MPBio suivi d'une précipitation à l'acétate d'ammonium et de lavages successifs à l'éthanol. La quantification de *L. pneumophila* a pu être réalisée à l'aide du kit iQ-check quanti *L. pneumophila* de BioRad. Cet ensemble a l'avantage d'être certifié ISO 12869 par l'AFNOR. Pour les analyses effectuées, la limite de détection est de 80 UG/L et la limite de quantification de 240 UG/L.

Les analyses de concentration de *L. pneumophila* dans l'eau des TAR sont réalisées par le centre d'expertise en analyse environnementale du Québec qui exploite le GeneDisc® de Pall corporation selon la norme NF T90-471 (Association Française de Normalisation (AFNOR), 2010). Il est important de préciser que la limite de quantification est alors de 3800 UG/L et que la limite de détection de *L. pneumophila* est de 760 UG/L.

3.4 Mesure de la décroissance et de l'efficacité de désinfectants utilisés dans le programme d'entretien des TAR

L'objectif est de mesurer en laboratoire la concentration des produits actifs dans les biocides commerciaux. Par la suite, déterminer les courbes de décroissance de divers désinfectant dans l'eau ultra pure et de TAR. Dans des conditions de température similaire aux TAR (entre 20 et 35°C) et

aux conditions limites d'entreposage des produits chimiques (entre 4 et 29°C), les biocides Biosperse 250 et 295 seront appliqués puis le résiduel du biocide sera mesuré à différents temps de contact. Finalement, ces courbes permettront aussi de déterminer la demande immédiate en biocides par l'eau de TAR.

3.4.1 Mesure de la concentration des produits actifs dans les biocides commerciaux

En considérant les limites des méthodes d'analyses par chromatographie gazeuse développées par le laboratoire de chimie analytique environnementale de l'Université de Montréal, une dilution de 1/50 des biocides commerciaux dans l'eau ultra-pure est nécessaire. Pour le Biosperse 250 de Ashland les concentrations des molécules de 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et de 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one seront mesurées selon la méthode décrite à la section 3.3.1. Dans les Biosperse 295, c'est la concentration du Bronopol qui sera mesurée selon la méthode décrite à la section 3.3.1.

3.4.2 Décroissance des désinfectants dans l'eau ultra-pure

L'eau mili-Q est tamponnée par l'ajout d'une solution tampon à pH 8. Tout d'abord, 250 mL d'eau tamponnée à température ambiante est additionné de 125 µg/L de biocide 250 ou biocide 295. L'échantillon homogénéisé est séparé en deux échantillons de 125 mL dont un est incubé à 4°C et l'autre à 29°C pour 72 heures. Un duplicata est effectué pour chaque temps de contact. Les concentrations résiduelles des duplicatas aux deux températures sont mesurées lors d'une même série d'analyse pour trois temps de contact : 72, 24 et 1 heure.

3.4.3 Décroissance et efficacité des désinfectants dans l'eau de TAR

L'eau de TAR des réseaux n°1 et n°2 du site 1, après hivernage et conservé à température ambiante dans le noir dans une bouteille de 1L stérile, est tout d'abord agitée. La turbidité est ensuite mesurée. Pour chaque biocide 2 conditions seront testées en duplicata:

- a. L'eau de TAR à forte turbidité (réseau n°1) et faible turbidité (n°2)
- b. La température (20 et 35°C)

Sur chaque échantillon de 50 mL prélevé de l'eau de TAR, le pH et la conductivité sont mesurés. Puis, y est injecté 25 µg/L du biocide à tester (Biosperse 250 ou 295) et les mesures de pH et conductivité sont répétées. L'échantillon homogénéisé est séparé en deux échantillons de 25 mL dont un est incubé à 20°C et l'autre à 35°C pour 72 heures. Un duplicata est effectué pour chaque temps de contact et chaque type d'eau de TAR. Les concentrations résiduelles de tous les échantillons sont mesurées lors d'une même série d'analyse pour quatre temps de contact : 72, 48, 24 et 1 heure. Les bouteilles pour les échantillons de temps de contact 72 et 1 heure étaient stériles et les mesures physico-chimiques pour un des duplicatas n'étaient pas effectuées afin de ne pas influencer la concentration de la flore bactérienne. Des analyses microbiologiques de BHA, bactéries viables et totales sont réalisées sur ces échantillons afin de mesurer l'efficacité des biocides.

3.5 Analyse du suivi de *Legionella* par des industries pour la protection des travailleurs en contexte non réglementaire

3.5.1 Création d'une base de données

Une revue systématique des analyses microbiologiques effectuées par l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité au travail a été effectuée du 12 mai 2013, veille de la mise en vigueur de la première réglementation sur les légionelles, jusqu'en 2006. Dans la base de données informatisée des analyses réalisées à l'IRSST, pour chaque échantillon de type « eau » où une analyse *L. pneumophila* était demandée, le dossier papier était consulté et les informations pertinentes extraites.

Le numéro de dossier, la date d'échantillonnage, la date de réception de l'échantillon et la date d'analyse étaient tout d'abord consignés. Afin de préserver la confidentialité de ces compagnies seule la ville était consignée au registre et une lettre d'identification unique afin de suivre dans le temps l'évolution des analyses d'un même bâtiment. Le type d'eau, c'est-à-dire de procédé ou de consommation était consigné et toute remarque précisant la nature du lieu d'échantillonnage si l'information était disponible sur le formulaire. Puis, les résultats des analyses microbiologiques étaient compilés pour chaque numéro d'échantillon : le traitement ou non à la chaleur de l'échantillon, la limite de détection, la concentration de *L. pneumophila* et *L.spp*.

CHAPITRE 4 RÉSEAU D'EAU CHAUDE SANITAIRE

Ce chapitre présente les résultats d'une campagne d'échantillonnage et de profils de température pour identifier les zones à risque de prolifération de *Legionella* du CSSS d'un territoire au Québec. Une partie de ces résultats, c'est-à-dire l'analyse des profils au point d'usage, le maintien des températures aux chauffe-eau et les résultats du suivi de *Legionella* a été intégrée à une publication intitulée « Temperature diagnostic to identify high risk areas and optimize *Legionella pneumophila* surveillance in hot water distribution systems » par Émilie Bédard, Stéphanie Fey, Dominique Charron, Cindy Lalancette, Philippe Cantin, Patrick Dolcé, Céline Laferrière, Eric Déziel, Michèle Prévost. Cet article est soumis à la revue *Water Research* et présenté en annexe 5. La nature de ma contribution à l'article est essentiellement au niveau des expérimentations et de l'analyse des résultats. Dans le premier établissement hospitalier, j'ai effectué l'analyse de l'architecture hydraulique, la compilation et l'analyse des données de températures aux chauffe-eau et retours de boucle ainsi que leur échantillonnage microbiologique. Pour ce qui est du deuxième établissement hospitalier, j'ai participé à l'analyse de l'architecture hydraulique et organisé et réalisé la 3e campagne de profil de température aux points de consommation.

La première section du chapitre présente un essai pilote quantifiant les pertes thermiques dans les conduites de petits diamètres typiques aux réseaux d'eau chaude sanitaire. Différents matériaux d'isolation ont été comparés à aucune isolation dans un contexte de stagnation.

La deuxième partie présente l'ensemble des résultats détaillés du CSSS d'un territoire du Québec. Ceux-ci ont déjà été présentés dans un rapport interne déposé en 2014 (Diagnostic du réseau d'eau chaude de l'hôpital régional, 2014). Les résultats ont été dénominalisés afin de préserver l'anonymat de l'établissement hospitalier.

La troisième et dernière section du chapitre sur les réseaux d'eau chaude sanitaire constitue en une comparaison de la méthode diagnostic employée lors du travail de recherche et deux guides européens incontournables dans le domaine pour aboutir à des recommandations sur l'adoption d'une telle démarche au Québec.

4.1 Pertes thermiques de conduites en période de stagnation

Le nouveau chapitre modifié en 2014 sur la plomberie du code de la construction du Québec fixe les températures obligatoires d'exploitation dans un réseau d'eau chaude pour de nouveaux bâtiments ou des réfections majeures (Gouvernement du Québec, 2002; Régie du bâtiment du Québec (RBQ), 2014) :

Chauffe-eau

1) Le dispositif de contrôle de la température des chauffe-eau doit être réglé de façon à ce que la température de l'eau stockée ne soit pas inférieure à 60 °C.

Conception des réseaux

3) Dans un réseau de distribution d'eau chaude avec boucle de recirculation, l'eau dans la boucle ne doit pas avoir une température inférieure à 55 °C lorsqu'elle est en circulation.

4) La boucle de recirculation visée au paragraphe 3) peut fonctionner de façon intermittente.

5) La boucle de recirculation visée au paragraphe 3) peut être remplacée par un système de réchauffage autorégulateur par fil chauffant.

Par ailleurs, le Règlement sur l'économie d'énergie relevant de la loi sur l'économie de l'énergie sur le bâtiment précise les obligations de calorifugeage pour les réseaux où circulent des fluides dont la température est de 5-13°C ou de 50-95°C, dans les bâtiments et les agrandissements dont la construction a débuté après le 1 août 1983 (Gouvernement du Québec, 1983). Plus précisément, la résistance thermique de la gaine calorifuge doit être entre 28 et 32m°C/W et l'épaisseur de la gaine calorifuge est fonction du diamètre de la conduite et de la température du fluide. Avec ces pertes thermiques, il est possible de prévoir les débits de recirculation permettant d'atteindre les cibles de pertes thermiques acceptables dans l'ensemble du réseau (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013; Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b).

Tous les réseaux d'eau chaude sanitaire sont soumis à l'obligation de maintenir 60°C en sortie de chauffe-eau selon le décret 1202-2012 (Gouvernement du Québec, 2012).

Les réseaux d'eau chaude sanitaire sont aussi soumis aux obligations d'économie d'énergie et de température minimale de 55°C dans le réseau dans les nouveaux bâtiments, mais ceux dans des bâtiments existants ne sont ni soumis aux obligations de calorifugeage ni au maintien d'une température minimale dans l'ensemble du réseau.

Compte tenu du fait que l'arrêt de la recirculation est malheureusement toléré dans le nouveau code de la plomberie et en raison de la présence de nombreuses zones de stagnation dans les réseaux complexes existants, des essais ont été effectués au laboratoire pour documenter les pertes thermiques durant la stagnation. L'évolution de la température pendant la période de stagnation selon le type d'isolation est présentée à la figure 4-1. Les profils de décroissance de la température révèlent une conservation accrue de la température en stagnation en présence d'isolant conforme aux exigences de calorifugeage spécifiées dans le Règlement sur l'économie de l'énergie dans les nouveaux bâtiments (Gouvernement du Québec, 1983). La figure 4-1 montre la décroissance de la température dans une section de conduite de cuivre (12,7 mm 1/2") sans écoulement avec une gaine de fibre de verre d'une épaisseur de 2,5cm (1") avec un fini en PVC, un revêtement de mousse grise commerciale de 9,53mm (3/8") ou aucune isolation. La zone ombrée représente la zone de température optimale de croissance de *L. pneumophila*. Après une période de stagnation de 200 minutes, une température d'environ 20°C est atteinte, quelles que soient les isolations.

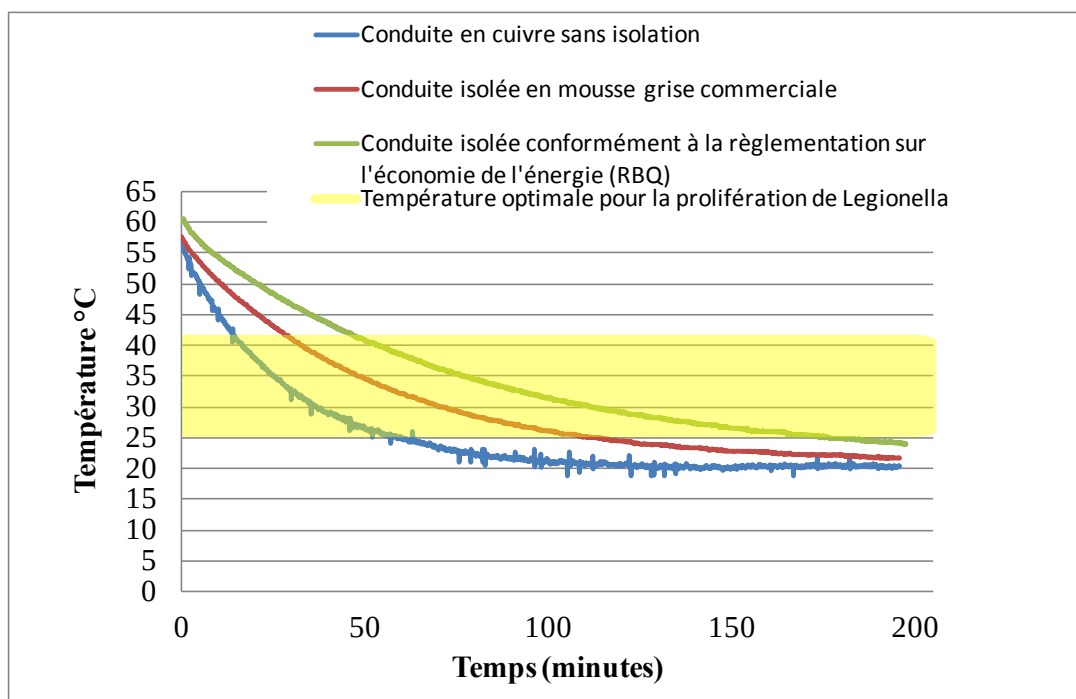


Figure 4-1 Évolution de la température de l'eau dans une conduite de cuivre (12,7mm 1/2'') pendant la période de stagnation en fonction de deux types de calorifugeage et sans calorifugeage exposés à l'air.

Le temps de stagnation minimum entraînant une baisse de la température de l'eau plomberie dans la gamme optimale des températures favorisant la prolifération de la légionelle a été reporté au tableau 4.1 en fonction du type d'isolation. Dans tous les cas, il est possible d'observer qu'un court temps de stagnation ramène la température de 60°C vers les températures optimales pour la prolifération de la légionelle.

Tableau 4.1 Temps de stagnation nécessaire pour atteindre la température optimale de prolifération de la légionelle en fonction du type d'isolation

Type d'isolation	Temps de stagnation pour atteindre 42°C (minutes)
Conduite en cuivre sans isolation	12,8
Conduite isolée en mousse grise commerciale	25,4
Conduite isolée conformément aux normes RBQ	41,7

L'importance des résultats de cette courte étude pilote est grande. Les normes de construction sur les pertes thermiques dans les réseaux d'eau sanitaire ne s'appliquent vraiment que pour des réseaux avec une boucle de recirculation ou encore avec un dispositif de fil chauffant. Le calorifugeage sert à minimiser les pertes thermiques, mais ne permet pas de les éliminer. C'est pourquoi le calcul des pertes thermiques sert essentiellement à déterminer les besoins des pompes de recirculation (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b, 2013c). Nos résultats montrent clairement que l'arrêt de la recirculation d'un réseau isolé conformément aux normes de la RBQ devient un réservoir favorisant la prolifération de *Legionella* en moins de 42 minutes s'il n'y a pas d'écoulement de l'eau. L'importance de la circulation constante de l'eau et l'élimination des zones de stagnation sont soulignées comme des actions prioritaires dans toutes les réglementations visant le contrôle de la légionelle dans les réseaux d'eau (Australian/New Zealand Standard (AS/NZS), 2011); Department of Health (DH) and Estates & Facilities 2006; Deutsche Regierung 2001; Dutch Working Party Infection Prevention 2007; République Française 2010a, 2005, 2010b; World Health Organization (WHO) 2011). De plus, deux réglementations interdisent spécifiquement l'arrêt de la recirculation (Austrian Standards Institute, 2007; Health and Safety Executive (HSE), 2013b). Certaines organisations vont même jusqu'à recommander des vitesses minimales d'écoulement ($>0,2$ m/s) dans les conduites pour assurer une homogénéité (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Ce critère, s'il est étié mis en application, afin d'atteindre les bénéfices thermiques démontrés précédemment, nécessite l'installation de pompes et de boucles de recirculation forcée, c'est-à-dire en continu et ne dépendant pas de la consommation en un point du réseau.

4.2 Diagnostic du réseau d'eau chaude sanitaire d'un hôpital régional

En plus du profil de température présenté dans la version préliminaire de l'article « Trends in temperature monitoring to identify high risk areas and optimize *Legionella pneumophila* surveillance in hot water distribution systems » comme un outil innovateur pour identifier les zones à risque de prolifération de *Legionella*, d'autres éléments du réseau d'eau chaude ont fait l'objet d'une analyse détaillée. En effet, afin d'élaborer la proposition de classement du risque d'amplification des légionelles en fonction de divers critères de température, une étude approfondie de l'architecture hydraulique du CSSS a dû être effectuée, ainsi qu'un suivi et une évaluation du

fonctionnement des chauffe-eau pour chacun des quatre réseaux d'eau chaude sanitaire distincts. Cette section présente les résultats supplémentaires en parallèle de l'article qui ont fait l'objet d'un rapport adressé au CSSS étudié.

4.2.1 Source d'eau potable

L'usine de filtration de la municipalité alimentant le CSSS régional alternait la source d'eau selon la saison entre des eaux souterraines et un mélange d'eaux souterraines et d'eau de surface jusqu'en 2012. L'été, la dureté était d'environ 150 mg/L CaCO_3 comparativement à 100 ou 120 mg/L CaCO_3 en hiver. La municipalité est dorénavant alimentée uniquement en eau souterraine grâce à de nouveaux puits modifiant considérablement les qualités physico-chimiques de l'eau distribuée. La dureté est d'environ 180 mg/L CaCO_3 , les concentrations de manganèse d'environ 0,01mg/L et la présence de fer a été relevé.

4.2.2 Analyse de la structure du réseau d'eau chaude

La consultation des plans disponibles, du personnel de l'hôpital ainsi que les observations réalisées ont permis de dresser un portrait général des réseaux d'eau chaude du bâtiment. Par contre, l'absence de plans tel que construit et de certains instruments de mesure engendrent des limitations au niveau du bilan, principalement en ce qui a trait à l'efficacité quotidienne de la chaufferie et de l'état du réseau du vieux bloc B, et des blocs D, E, F, G et H.

La majorité du CSSS est constitué d'une architecture hydraulique classique, c'est-à-dire de multiples colonnes de distribution en cuivre de petits diamètres décroissants et généralement isolées. Chaque conduite alimente deux ou trois points à chaque étage et une conduite de recirculation retourne l'eau près du point le plus éloigné vers le chauffe-eau. Le nouveau bloc B est construit selon une architecture plus récente. Une seule colonne de distribution verticale simplifie le réseau constitué d'une conduite secondaire par étage y alimentant tous les points. Cette configuration permet un équilibrage plus facile des températures. Les principales caractéristiques des différents réseaux sont résumées au tableau 4.2.

Tableau 4.2 Description des quatre réseaux d'eau chaude de l'hôpital régional

Réseau	Description
Bloc A	12 colonnes de distribution - Conduites en cuivre isolées - En moyenne 2 ou 3 points d'utilisation connectés par étage à chaque colonne de distribution - La recirculation est assurée par la collecte de la recirculation de chaque colonne dans conduite principale retournée au chauffe-eau - Conduite de recirculation située entre le 5^{ième} et le 6^{ième} étage (point le plus haut) - Le diamètre de la conduite principale de distribution est de 2" et celui des colonnes de distribution varie entre 1" et 1½" au rez-de-chaussée pour se terminer à ¾" au 6^{ième} étage
Nouveau Bloc B 3, 4, 5 et 6 ^{ième}	- Une seule colonne de distribution pour tout le bloc - Conduites en cuivre isolées - Sur chaque étage, il y a une conduite principale de distribution à laquelle tous les points d'utilisation sont connectés - Au point le plus éloigné sur chaque étage, il y a une conduite de recirculation - Conduite isolée + diamètre de la colonne de distribution de 2" - Recirculation sur 1"
Bloc G, H	- Réseau mixte plus classique colonne dans secteur B – conduite horizontale dans G et H - Une conduite de distribution principale couvre chaque étage du bloc G, H et les étages 1 et 2 du nouveau B. - Sur 2 ou 3 points les plus éloignés de chaque étage, la boucle de recirculation est connectée - La recirculation est assurée par la collecte de la colonne de recirculation dans une conduite principale de retour au chauffe-eau - Les conduites sont en cuivre et isolées - Sortie chauffe-eau 2,5" dia vers BGH - Les conduites sont en cuivre et isolées
Chaufferie Blocs B-vieux, C et D	- Bloc Vieux B : environ 7 colonnes de distribution - Bloc C : 21 colonnes de distribution - Bloc D : environ 9 colonnes de distribution - Il y a en moyenne 2 ou 3 points d'utilisation qui sont connectés à chaque colonne de distribution par étage - La recirculation est assurée par la collecte de la recirculation de chaque colonne dans conduite principale retournée au chauffe-eau - Les conduites sont en cuivre, les conduites horizontales d'approvisionnement des colonnes sont isolées, mais les colonnes verticales de distribution ne le sont pas

4.2.3 Températures des chauffe-eau

Le tableau 4.3 présente les données de température des chauffe-eau de chaque réseau. Deux types de données y figurent : les relevés hebdomadaires à la sortie des chauffe-eau relevés en 2010-2011 et des mesures en continu (enregistrement aux 3 minutes) enregistrées le 12 janvier lors de l'échantillonnage ou le 11 février 2013 par le personnel de l'hôpital. Les données hebdomadaires

sur deux ans montrent les variations à long terme des températures observées le samedi matin. Les données de température en continu montrent les variations quotidiennes de températures en réponse aux différentes pointes de consommation lors d'une journée de semaine type, mais ne représentent que deux journées.

Tableau 4.3 Résumé des données de température des différents chauffe-eau (°C)

Réseau	Chauffe-eau	Données hebdomadaires de température (° C) en sortie de chauffe-eau 2011-2012				Temp (° C) en sortie Chauffe-eau 17-01-2013	Variations intra-journalières de température (° C) 11-01-2013			
		Min	Max	Moyenne	Médiane	Moyenne	Min	Max	Moyenne	Médiane
Bloc A	#1	61	64	62	62	57,2	60,0	62,4	60,5	60,3
	#2	—	—	—	—		59,8	62,7	61,2	61,1
Nouveau Bloc B	#1	60*	67	65	66	58,9	55,9	61,6	59,6	59,7
Bloc G, H	#2	59	64	63	63	50,4	51,1	61,6	58,3	58,5
	#3	56	66	62	62		48,4	61,7	57,0	57,6
Chaufferie	Mesure combinée	43	61	54	54	44,8***	48,2**	58,0**	52,4**	52,9**

* Minimum excluant le 12 janvier 2013 à 54°C

** Données enregistrées en continu (aux 3 minutes) au cours de la journée du 11 février 2013 sur la conduite de distribution principale (à la sortie des chauffe-eau) pour les blocs B, C, D, E et F

*** Données enregistrées en continu (aux 3 minutes) au cours de la journée du 11 février 2013 sur la conduite de recirculation des blocs B, C, D, E et F

4.2.4 Résultats des profils de température

Les profils de température relevés aux points d'utilisation en combinaison avec la compréhension de la répartition des volumes d'eau en amont de chaque point de consommation (au niveau de la robinetterie et de la plomberie de raccordement immédiate, de la conduite de service secondaire, des colonnes de distribution intermédiaires et des conduites maitresses de distribution) permettent de préciser les zones à risque de croissance de *Legionella*. Les débits d'échantillonnage pendant l'établissement du profil de température ont varié entre 2,3 et 11,7 l/minute.

Les températures aux points d'utilisation en fonction du volume écoulé sont présentées à la figure 4-2 en eau froide. Il est possible d'observer la stabilisation rapide de la température à moins de 10°C en moyenne aux points de consommation. Une concentration résiduelle de chlore variant entre 0,24 et 0,39 mg Cl₂/L (valeur moyenne de 0,32 mg Cl₂/L) après écoulement a été mesurée (Figure 4-3). Les températures du premier jet dépassent presque toujours 20°C et un faible résiduel de désinfectant (<0,15mg/L) est présent après une stagnation de durée non déterminée.

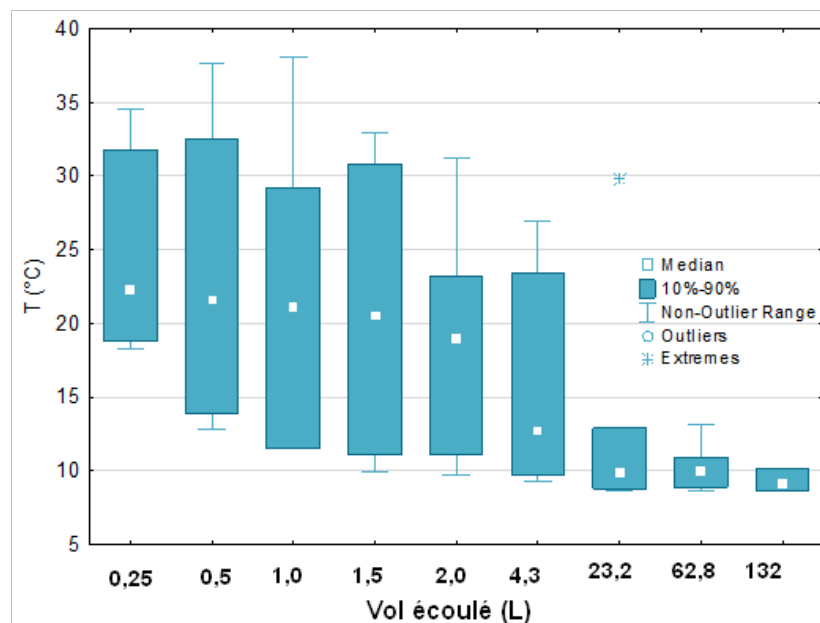


Figure 4-2 Profils de température de l'eau froide en fonction du volume écoulé pour les points de consommation échantillonnés (n = 14)

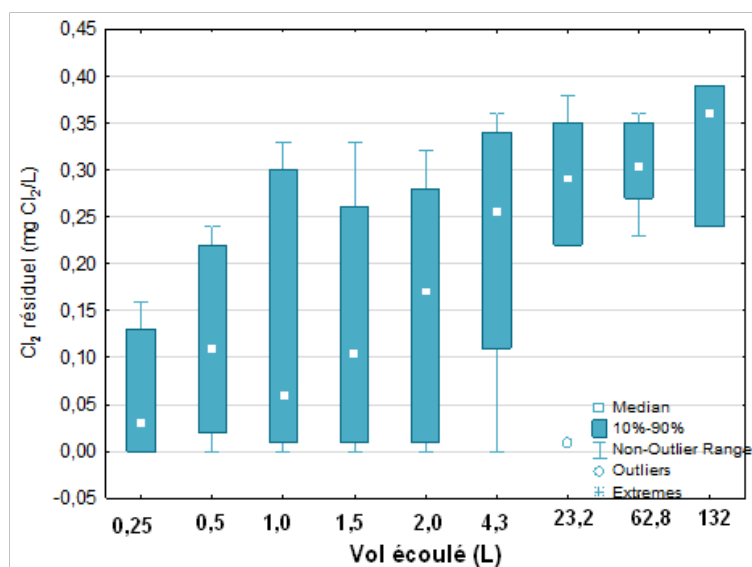


Figure 4-3 Profils de concentrations de chlore résiduel dans l'eau froide en fonction du volume écoulé pour les points de consommation échantillonnés (n = 14)

Les températures mesurées en eau chaude en fonction du volume écoulé sont présentées à la figure 4-4. En traduisant le volume écoulé en temps, c'est 47% des points échantillonnés qui rencontrent une température supérieure ou égale à 50°C en 30 secondes et après 5 minutes de rinçage cette fraction augmente à 82%.

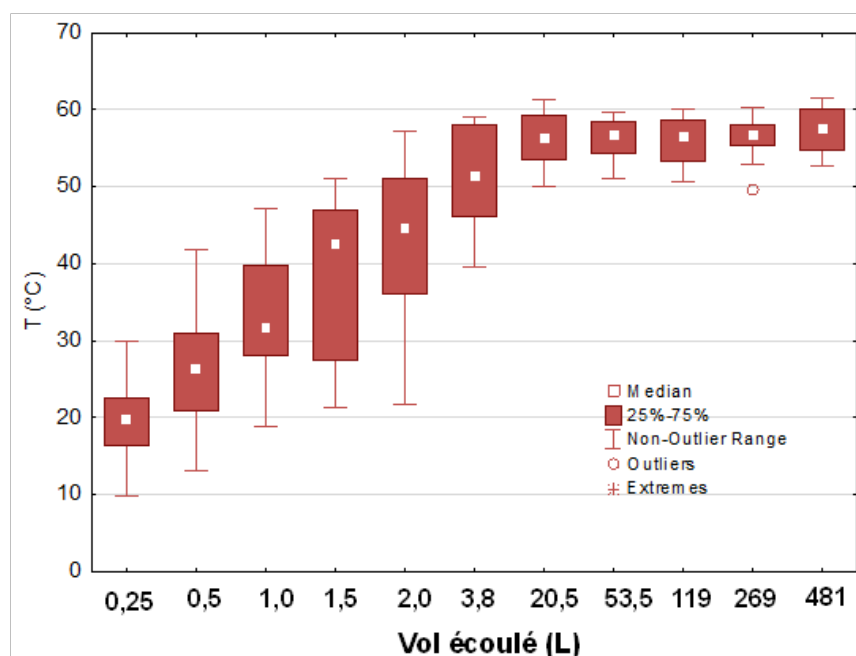


Figure 4-4 Profils de température de l'eau chaude en fonction du volume écoulé pour les points de consommation échantillonnés équipés de robinets de type séparatif (n=14)

La figure 4-5 montre les résultats des profils de température des trois robinets mitigés à température prédéterminée où l'eau chaude et froide est combinée pour atteindre une température de référence prédéterminée. Il est intéressant d'observer que la température de stagnation du 1^{er} litre est plus élevée dans les robinets mitigés (23-39°C) que dans les robinets de type séparatif. La température après un rinçage prolongé ne dépasse pas les 39°C en raison du mélange contrôlé avec de l'eau froide.

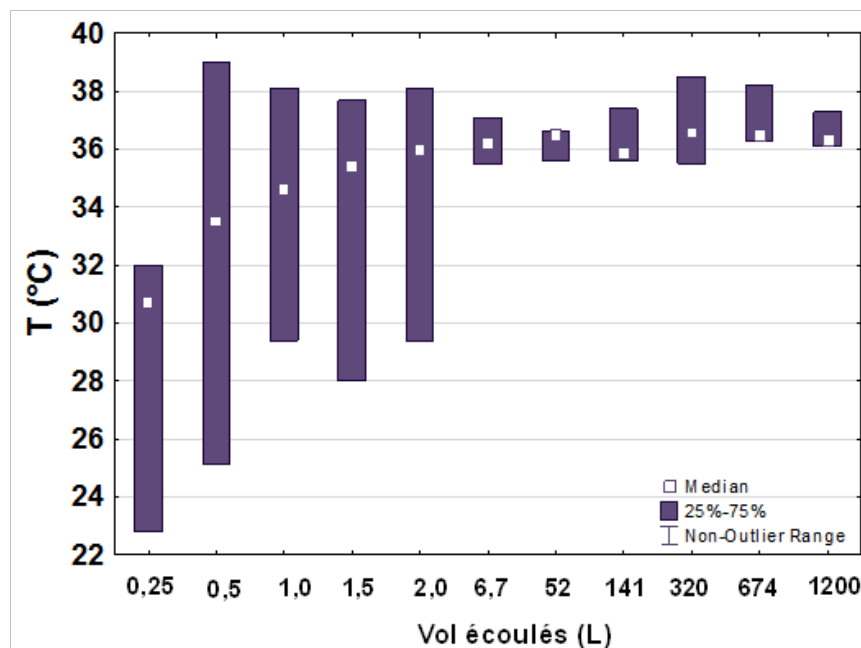


Figure 4-5 Profils de température de l'eau des robinets mitigés en fonction du volume écoulé pour les points de consommation échantillonnés (n = 3)

4.2.5 Résultats du suivi microbiologique de *Legionella* dans l'eau chaude

Les résultats d'analyse de *L. pneumophila* en culture et qPCR sont rapportés au tableau 4.4 pour les points de consommation ainsi qu'en sortie des chauffe-eau et aux retours de boucles de recirculation.

Les analyses par culture indiquent une faible contamination de l'eau aux points de consommation totalisant 3 positifs sur 19 résultats pour *L. anisa* (aucun positif pour *L. pneumophila*) et les retours des blocs CDEF et de service positifs pour *L. pneumophila* sérotype 6. Les résultats obtenus par qPCR, montrent la présence de faibles concentrations de *L. pneumophila* (dont trois échantillons sous la limite de quantification) dans 7/19 des échantillons aux robinets ainsi que les deux retours de boucle de la chaufferie. Finalement, le qPCR montre de faibles concentrations en sortie des deux

chauffe-eau de la chaufferie. Les résultats microbiologiques détaillés sont disponibles à l'annexe 3.

Tableau 4.4 Résultats des analyses *Legionella* spp. et *L. pneumophila* aux points de consommation et contrôles en réseau d'eau chaude

Réseau	# Point	# Local	<i>Legionella</i> spp. et <i>L. pneumophila</i> dans l'eau chaude			
			Au point de consommation		Sortie chauffe-eau	Boucle de recirculation
			Culture	qPCR (UG/L)		
Bloc A	6	A-2001	-	-	culture - qPCR -	culture - qPCR -
	15	A-6004	-	-		
	16	A-6004	+ <i>L. anisa</i>	-		
Nouveau B 3, 4, 5 et 6 ^{ième} étage	10	B-4027	-	-	culture - qPCR -	culture - qPCR -
	13	B-5018	-	-		
	14	B-5008	-	-		
	17	B-6022	-	73 (<LQ)		
	18	En face B-6016	+ <i>L. anisa</i>	-		
	29	B-6016	+ <i>L. anisa</i>	-		
Bloc G, H	2	B-1007	-	-	culture - qPCR -	culture- qPCR -
	4	G-R031	-	-		
	5	H-R019	-	-		
Chaufferie	3	Buanderie	-	352	Sortie réserve thermique • culture - • qPCR -	Bloc de service • culture +++ <i>L.p.sg6</i> • qPCR 2 080 UG/L
	7	C-2114	-	593		
	8	C-3084	-	382		
	9	B-4039	-	-	Sortie chauffe-eau • culture - • qPCR 43 UG/L (<LD)	Retour CDEF • culture+++ <i>L.p.sg6</i> • qPCR 685 UG/L
	11	C-4075	-	76 (<LQ)		
	12	D-4133	-	987		
	19	C-6062	-	124 (<LQ)		

LD = Limite de détection; LQ = Limite de quantification.

+ < 100 UFC/L; +++>1 000 UFC/L

La possibilité de la variabilité temporelle des résultats de présence des légionelles à un point donné soulève une question importante au niveau de l'interprétation des résultats. Des échantillonnages supplémentaires ont été nécessaires pour répondre à cette question. Trois sites alimentés par la chaufferie (sortie chauffe-eau, retour de boucle de recirculation et point de consommation), positifs lors de l'échantillonnage de janvier 2013, ont été échantillonnés le 17 septembre et le 7 octobre 2013 à deux reprises. Les résultats obtenus par qPCR sont présentés à la figure 4-6 et démontrent une grande cohérence.

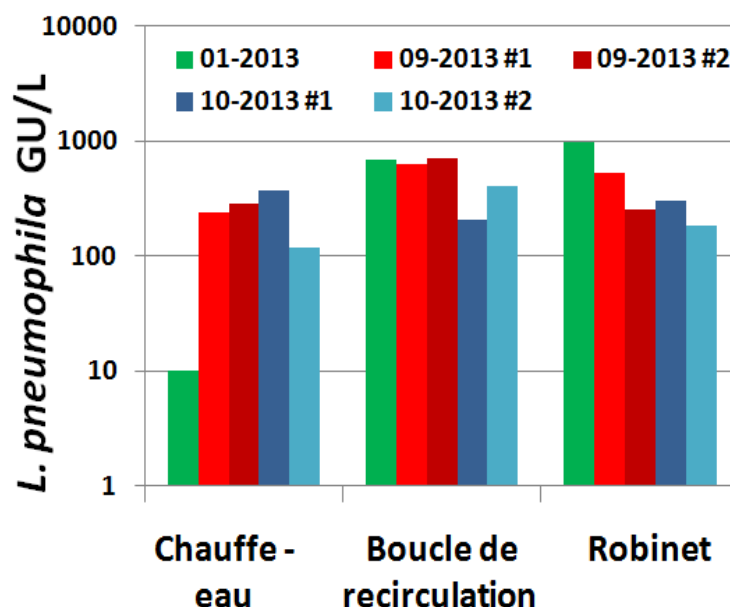


Figure 4-6 Répétition des échantillonnages pour *L. pneumophila* par qPCR en septembre et octobre 2013

4.2.6 Variations des températures de l'eau dans les réseaux d'eau chaude sanitaire

Maintenir une température élevée en sortie de chauffe-eau (>60°C) et en retour de boucle de recirculation (>50°C) a été présenté à la section 1.2.2 comme la première barrière de contrôle de prolifération de *Legionella* dans les REC. La diminution de température entre la sortie d'un chauffe-eau et un point éloigné peut être le résultat de pertes thermiques pendant la circulation ou en raison d'une période de stagnation.

Les conduites de certains vieux bâtiments ne sont parfois pas isolées. Lorsque les conduites sont bien isolées, ce type de perte thermique est minimisé en circulation. Pour illustrer l'importance de l'isolation dans le maintien de la température, une conduite en cuivre de diamètre de 15 mm et de 1 m de long sans isolation équivaut à une perte de l'ordre de 90 Watts. Les pertes thermiques singulières aussi significatives : une bride équivaut à une perte de chaleur du fluide de 0,6 m de tuyauterie du même diamètre tandis que les pertes liées aux vannes sont comparables à 2 m de tuyauterie (Chambre Régionale de Commerce et de l'Industrie de Bourgogne (CRCI), 2009). Il est donc tout aussi important de calorifuger les brides et vannes. Dans le cas de réseaux correctement

conçus et utilisés, les pertes par la distribution se chiffrent aux environs de 5 à 15% de la consommation de la chaufferie. Le calorifugeage permet de réduire les pertes d'environ 85%.

Bien que le calorifugeage des conduites est exigé dans le règlement sur l'économie d'énergie (Gouvernement du Québec, 1983) pour limiter les pertes thermiques de l'eau est en écoulement, les recommandations ne précisent pas les pertes en stagnation. Aucune information n'a été trouvée sur l'ordre de grandeur des pertes thermiques avec ou sans isolation en période de stagnation. L'essai réalisé au laboratoire de l'École Polytechnique voulait répondre à cette lacune et les résultats présentés à la section 4.1 ont permis de conclure que la stagnation est un facteur déterminant au niveau des pertes de chaleur et en conséquence du maintien des températures permettant le contrôle de *Legionella* dans le système d'eau chaude. Empêcher la stagnation dans un réseau étendu et complexe apparaît comme un défi important, mais une action indispensable.

Pour revenir au risque de prolifération de *Legionella* dans un réseau d'eau chaude, deux séries d'observations ont été faites selon le secteur :

- le réseau principal qui représente le risque associé au chauffe-eau et à son réseau de distribution primaire, et,
- le réseau distal, c'est-à-dire les antennes, les robinets et leurs conduites de raccords secondaires, les culs-de-sac, etc.

Dans le cas du réseau principal, trois séries de mesures sont disponibles permettant de qualifier le niveau de risque légionelle, soit les températures :

- 1) en sortie du chauffe-eau qui doivent dépasser 60°C en tout temps
- 2) aux points distaux du réseau après rinçage qui permet de qualifier la répartition et les pertes thermiques dans le réseau principal jusqu'aux colonnes de distribution
- 3) dans chaque boucle de retour qui doit dépasser 50°C en tout temps et qui représente les pertes thermiques dans l'ensemble du réseau.

Dans le cas du réseau distal, la température des premiers litres d'eau ainsi que le temps de rinçage permettant d'atteindre la température d'équilibre représentent les conditions locales de pertes de température. L'étude de l'architecture hydraulique permet de mieux comprendre ces notions.

4.2.7 Architecture hydraulique

À partir de plans tels que construits, le calcul du volume d'eau a été effectué pour une colonne de distribution verticale typique en considérant les changements de diamètre sur les 6 étages. Les volumes calculés sont schématisés à la figure 4-7.

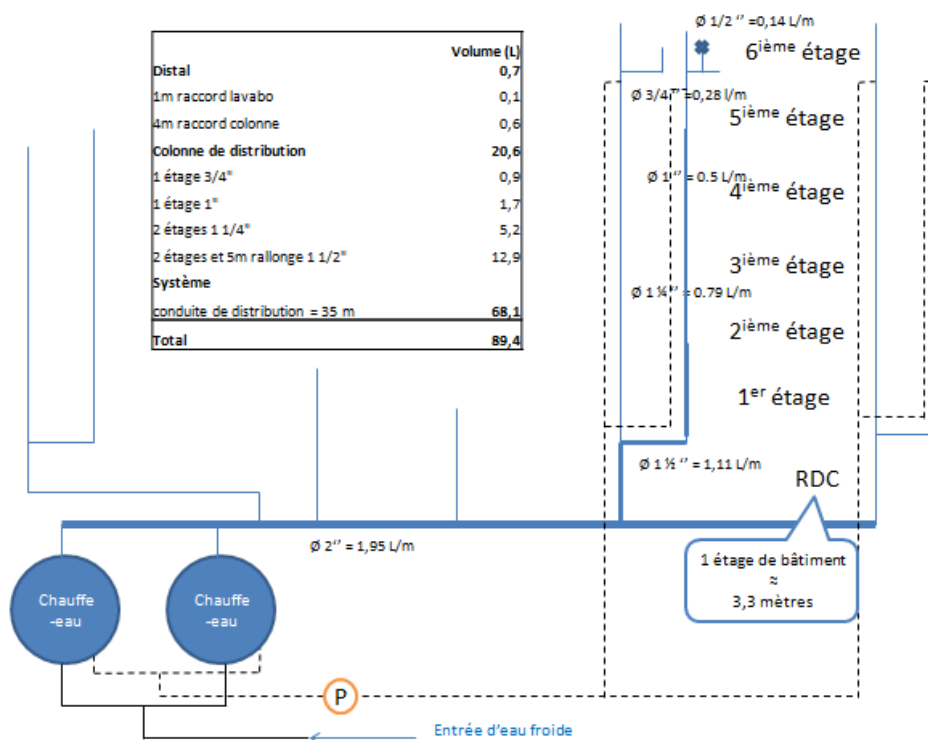


Figure 4-7 Volume d'eau contenu dans une colonne de distribution typique de 6 étages

Il est intéressant d'observer que le volume d'eau au niveau distal, c'est-à-dire la plomberie directe de raccord jusqu'à la colonne de distribution, représente un petit volume soit 0,7 L. Le rinçage de ce volume d'eau à un débit moyen d'utilisation (de 2 à 4 L/min) ne représente que 20 à 30 secondes. Une colonne de distribution verticale de 6 étages représente toutefois un volume de plus de 20 L.

4.2.8 Bilan des différents réseaux d'eau chaude du CSSS

Le bilan est présenté de manière à tirer des conclusions sur la distribution des températures et le niveau de contamination par les légionelles pour apprécier les niveaux de risques de prolifération de chacun des quatre réseaux d'eau chaude du CSSS.

4.2.8.1 Bloc A

Deux chauffe-eau en parallèle alimentent le réseau du bloc A. L'architecture hydraulique de ce bloc est caractérisée par une conduite de distributions horizontales alimentant plusieurs colonnes de distributions verticales telles qu'il est présenté à la figure 4-8. Les points échantillonnés et les secteurs présentant des patients vulnérables sont indiqués à la figure 4-9.

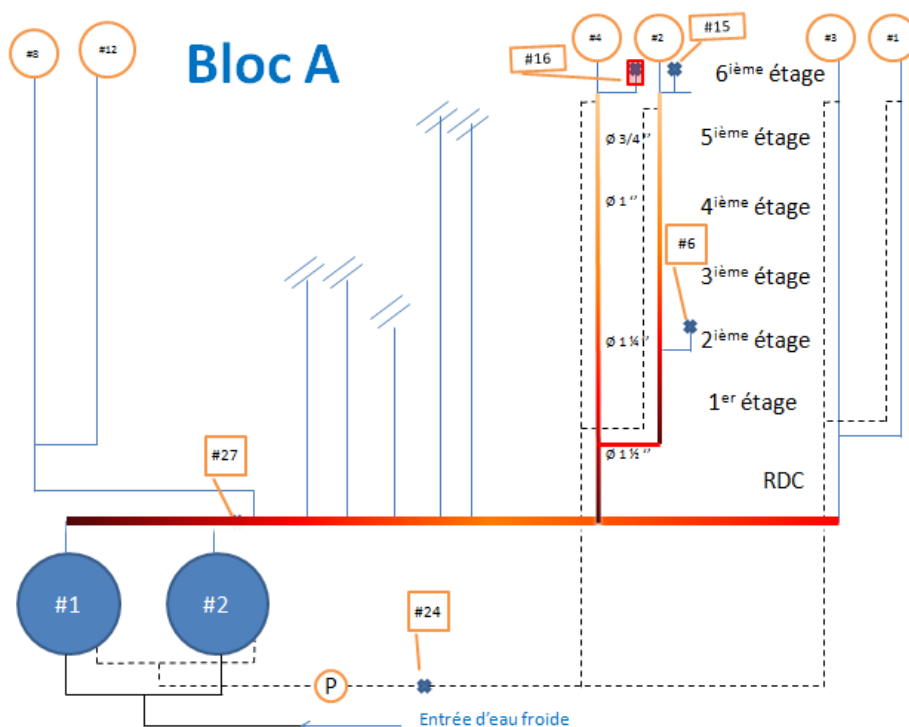


Figure 4-8 Schéma des chauffe-eau et du réseau Bloc A.

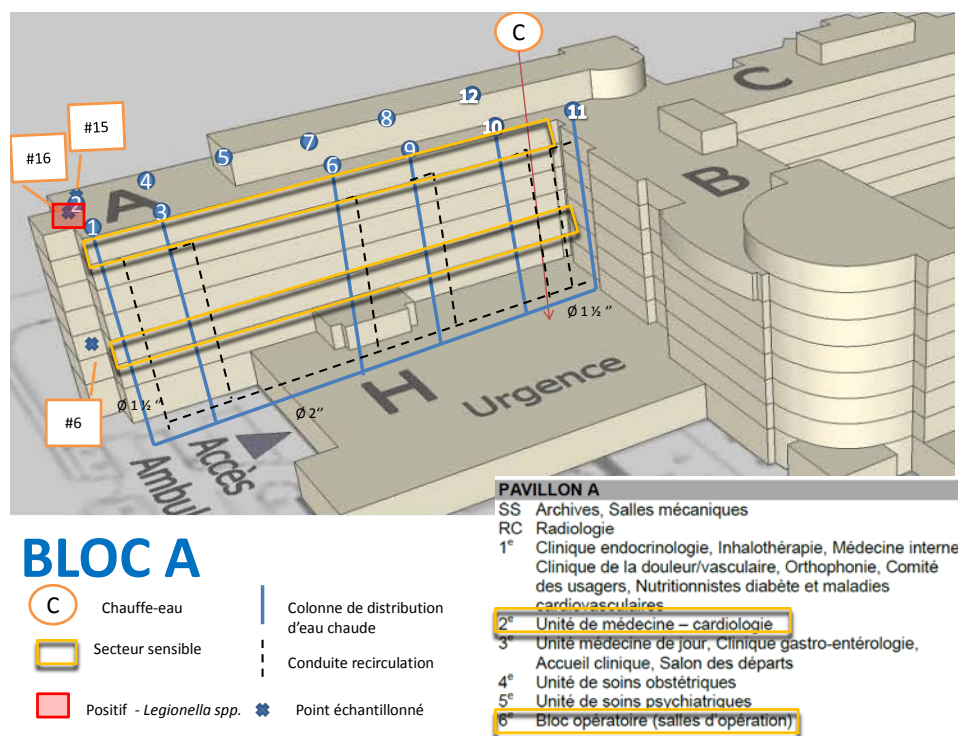


Figure 4-9 Localisation des points d'échantillonnage et des points positifs pour *Legionella* par culture ou qPCR dans le réseau du Bloc A

Les températures des relevés hebdomadaires par le personnel de l'hôpital montrent une grande stabilité dans le temps (moyenne de 62°C, min 61°C - max de 64°C) (Tableau 4.3). Par contre, des variations ont lieu au quotidien pour les deux chauffe-eau tel que présenté à la figure 4-10. Ces variations sont faibles, mais la température en sortie du chauffe-eau #2 baisse parfois légèrement sous 60°C. Les températures constatées le 17 janvier 2013 dans la boucle de recirculation étaient presque constantes avec une moyenne 57,2°C $\pm$ 1% (n=9). Ces constatations, limitées sur une journée, suggèrent un réseau principal bien isolé. Les températures élevées mesurées sont quant à elles adéquates pour le contrôle de *Legionella* dans le réseau durant la période de mesure.

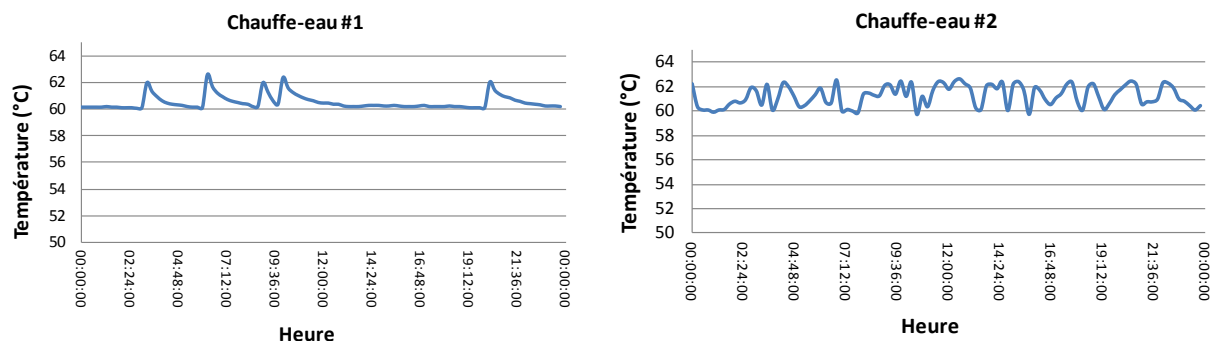


Figure 4-10 Variation de la température en fonction de l'heure de la journée (10-01-2013) pour le chauffe-eau #1 et #2 du réseau Bloc A

Les profils de température aux points alimentés par ce réseau sont représentés à la figure 4-11. Les points de ce réseau atteignent tous une température près de la température de retour de boucle, mais après des volumes d'écoulement variables.

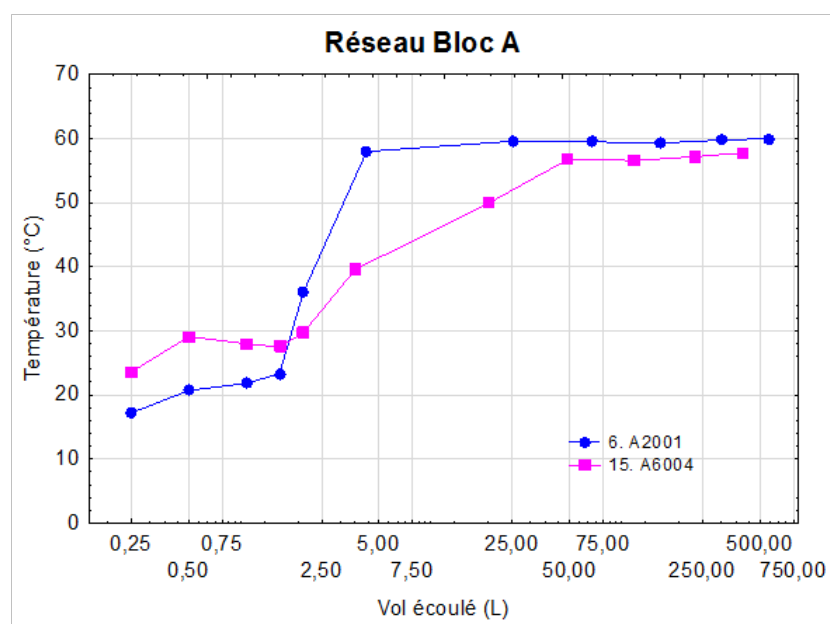


Figure 4-11 Profils de température des points de consommation desservis par le réseau du Bloc A

L'architecture du réseau doit être considérée pour l'interprétation des différences entre ces profils. Le point no 6, éloigné du chauffe-eau et positionné au bout de la conduite de distribution principale, atteint rapidement une température de 58°C. Étant localisé au 2^e étage, un écoulement de seulement

30 secondes permet de retirer un volume de 4,3 L suffisant pour que l'eau chaude de la colonne de distribution soit entièrement remplacée à partir de la conduite principale d'alimentation.

Le point situé au bloc opératoire du 6^e étage, atteint une température de 50°C qu'après 5 min d'écoulement (19L) pour plafonner à 57°C après 10 min (49L). Bien que ces points soient situés sur des colonnes de distribution interconnectées, seul le point au 6^e étage présente un positif en légionelle et une problématique au niveau du profil de température. L'explication provient d'une différence du volume d'eau de 21,5 L les reliant à la conduite principale.

En effet, la température maximale étant pratiquement la même aux deux points et comparable à celle observée en retour de boucle l'isolation du réseau n'est pas en cause puisqu'il y a peu de perte thermique en écoulement. Toutefois, tel qu'il a été prouvé précédemment, l'isolation en situation de stagnation ne prévient les pertes thermiques que pour une courte période. La colonne de distribution verticale peut rejoindre entièrement une température favorable à la prolifération de la *Legionella* en moins de 40 minutes si aucun des deux ou trois points de consommation par étage n'est employé. Tel qu'il a été montré lors de la réalisation du profil de température au 6^e étage, 10 minutes d'utilisation sont nécessaires pour atteindre une température de contrôle. Il est possible de poser l'hypothèse que la plupart des usages sont de courtes durées et que les points de consommations du 6^{ième} étage, peu importe la colonne de distribution, dépassent rarement une température de 55°C.

Ces conclusions permettent de cerner le 6^e étage comme une zone plus à risque pour la croissance de *Legionella* à moins que la circulation ne soit améliorée.

4.2.8.2 Réseau Nouveau B (3, 4, 5 et 6^e étage)

Le plus récent réseau, nouveau bloc B, est relativement de petite taille. La principale différence du « Nouveau B » par rapport aux autres réseaux de l'hôpital est la colonne de distribution unique qui dessert tous les étages (Figure 4-12). Ce type de conception assure un bouclage plus efficace. On y montre aussi la localisation des points d'échantillonnage.

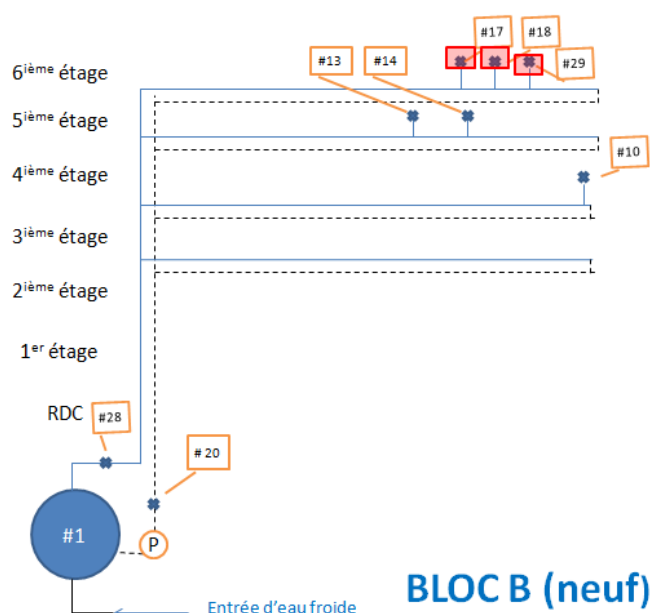


Figure 4-12 Représentation du réseau du Nouveau Bloc B

Les mesures hebdomadaires de température du chauffe-eau #1 du nouveau B (résumées au Tableau 4.3) sont les plus chaudes des quatre systèmes avec une valeur moyenne de 65°C (min 60°C - max 67°C). Par contre, il est important de préciser que la température relevée le 12 janvier 2013 n'était que de 54°C. Les températures de sortie de ce chauffe-eau, bien que stables durant les années 2011-2012, montrent depuis janvier 2013 des diminutions sérieuses, telles que des températures de 54°C mesurées à plusieurs reprises.

Le suivi continu en sortie de chauffe-eau des températures réalisé le 11 janvier 2013 démontre clairement que des variations importantes et fréquentes de la température surviennent au cours d'une journée (Figure 4-13). Les variations de température de l'eau au chauffe-eau #1 établissent que le chauffe-eau ne maintient pas sa température au-dessus des 60°C au cours de la journée. Sans des mesures de débit, il n'est pas possible de confirmer si les périodes de températures <60°C concordent à des pointes de consommation en eau chaude. Il demeure probable que la capacité du chauffe-eau soit dépassée à certaines périodes de l'année.

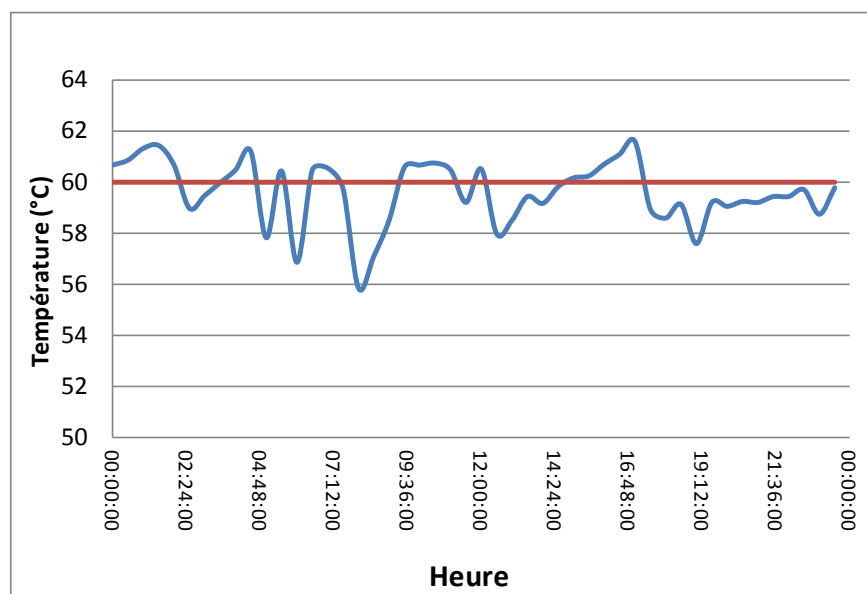


Figure 4-13 Variations de la température de l'eau en sortie de chauffe-eau en fonction de l'heure de la journée (11-01-2013) pour le chauffe-eau #1 du réseau Nouveau B

La figure 4-14 présente un patron de variation thermique, observé lors d'une journée d'échantillon, similaire à celui de la figure 4-13. Il est intéressant d'observer que lors de la réalisation du profil de température au point no 13 vers 15h00, le chauffe-eau n'arrive plus à rencontrer la production d'eau chaude supérieure à 60°C pour les 600 L requis lors de l'échantillonnage. Il est probable que les diminutions récentes de températures à la sortie du chauffe-eau soient en partie expliquées par le changement de source d'eau potable entraînant l'entartrage des éléments chauffants et donc une diminution de l'efficacité.

La température observée en retour de boucle de recirculation lors l'échantillonnage est en moyenne de $58,9 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ($n=10$). Cette observation confirme une recirculation efficace dans le réseau et une isolation adéquate. Il serait toutefois intéressant d'obtenir des données supplémentaires pour commenter la stabilité dans le temps.

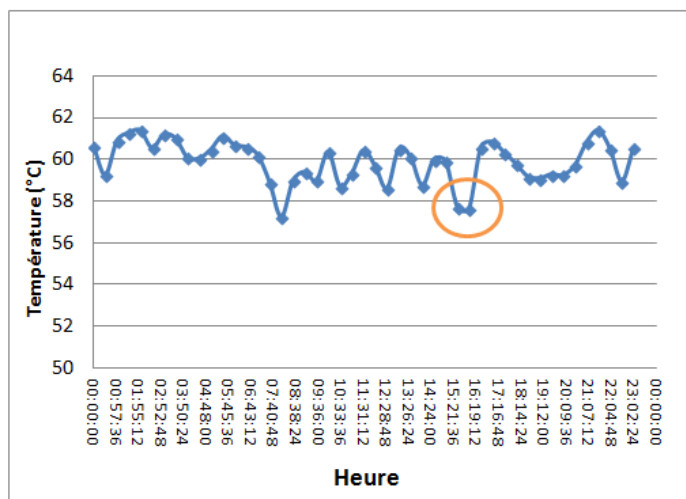


Figure 4-14 Variation de la température en sortie de chauffe-eau en fonction de l'heure de la journée (16-01-2013) pour le chauffe-eau #1 du réseau Nouveau B

Les profils de température aux points d'utilisation d'eau chaude sont illustrés à la figure 4-15. Les résultats démontrent une hausse rapide de la température pour atteindre la température observée à la sortie du chauffe-eau.

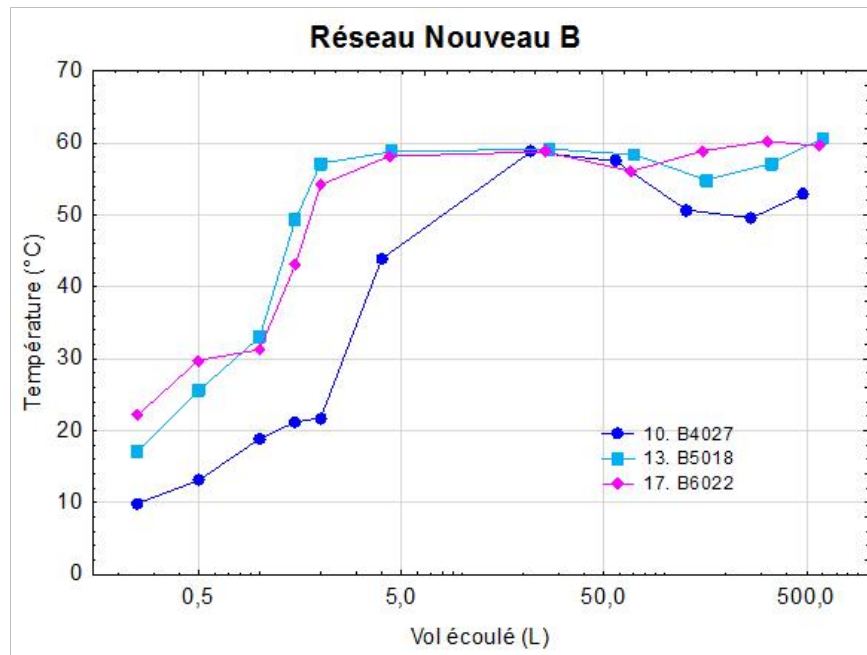


Figure 4-15 Profils de température des points de consommation desservis par le réseau du réseau Nouveau B

Les profils de température tendent à confirmer l'efficacité thermique de ce type d'architecture hydraulique qui minimise le nombre de colonnes de distributions verticales au profit d'une meilleure recirculation. Le niveau de calorifugeage général y est fort probablement supérieur puisque pour la plupart des points échantillonnés (no 13 au 5^{ième} étage et no 17 au 6^{ième} étage) une température de 58°C est observable en 30 secondes soit un écoulement de moins de 4,5 L.

Ces résultats optimaux n'ont pu être observés avec le bain-tourbillon (point no 10). Il est possible que l'essai ait été réalisé lors d'une période d'insuffisance du chauffe-eau (température de sortie de 54°C). Il est aussi probable que ce bain-tourbillon ne soit pas réellement alimenté par le réseau du nouveau B. La cause de cette exception mérite d'être éclaircie et l'alimentation en eau chaude rectifiée.

Toutefois, il est possible de conclure que cette conception maintient une circulation rapide et continue de l'eau à tous les étages ainsi qu'une température de contrôle dans le réseau.

4.2.8.3 Réseau blocs G et H

Les relevés hebdomadaires en 2011-2012 de la température de l'eau en sortie des chauffe-eau alimentant les blocs G, F et les étages du bas du nouveau bâtiment B sont stables avec une moyenne de 63°C (min 59°C-max 64°C). Par contre, le suivi continu des températures de l'eau en sortie de chauffe-eau démontre des variations importantes de températures qui ne coïncident pas avec des pointes journalières de consommation. La figure 4-16 illustre l'ampleur et la régularité de ces variations qui varient entre 52°C et 62°C pour le chauffe-eau no 3 et entre 54°C et 62°C dans le cas du chauffe-eau no2 (Figure 4-17). Les valeurs minimales ainsi que leur fréquence suffiraient sans doute à permettre la percée de *Legionella* au travers du chauffe-eau en plus de d'engendrer des conditions propices au développement de légionelle dans le réseau principal et distal.

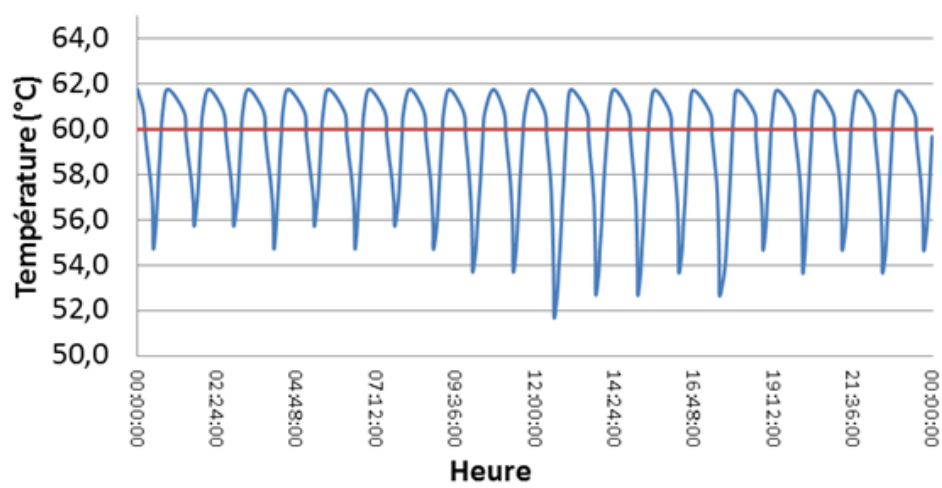


Figure 4-16 Variation de la température en fonction de l'heure de la journée (10-01-2013) pour le chauffe-eau #3 du réseau Bloc G, H

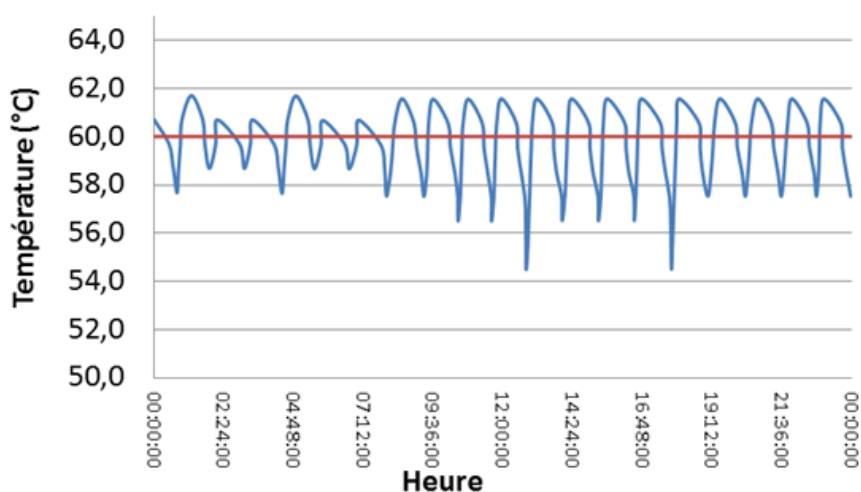


Figure 4-17 Variation de la température en fonction de l'heure de la journée (10-01-2013) pour le chauffe-eau #2 du réseau Bloc G, H

Aucune information sur les températures de boucles de recirculation n'était disponible. Quelques relevés ont pu être effectués lors de la campagne d'échantillonnage présentant une moyenne de $50,4^{\circ}\text{C} \pm 1\%$ ($n=3$), ce qui est à la limite des recommandations de $>50^{\circ}\text{C}$. Considérant le peu de constance de la température de l'eau refoulée, il est difficile de conclure sur ces trois mesures. En l'absence d'un diagnostic complet le réseau principal d'eau chaude du bloc B, H est classé à risque de prolifération de légionelle jusqu'à démonstration du contraire.

La figure 4-18 localise les trois points d'échantillonnage et les services présents. Les profils de température du réseau des blocs G et H indiquent des températures de 58 et 59°C atteintes en 30 secondes respectivement au 1^{er} étage du nouveau B et au bloc H (urgence). Ce réseau présente une conception particulière, comprenant une grande conduite de distribution qui alimente tous les points de consommation. Les profils de températures suggèrent une bonne circulation, mais les températures mesurées en retour de boucle sont faibles. Une meilleure compréhension de ce réseau est requise.

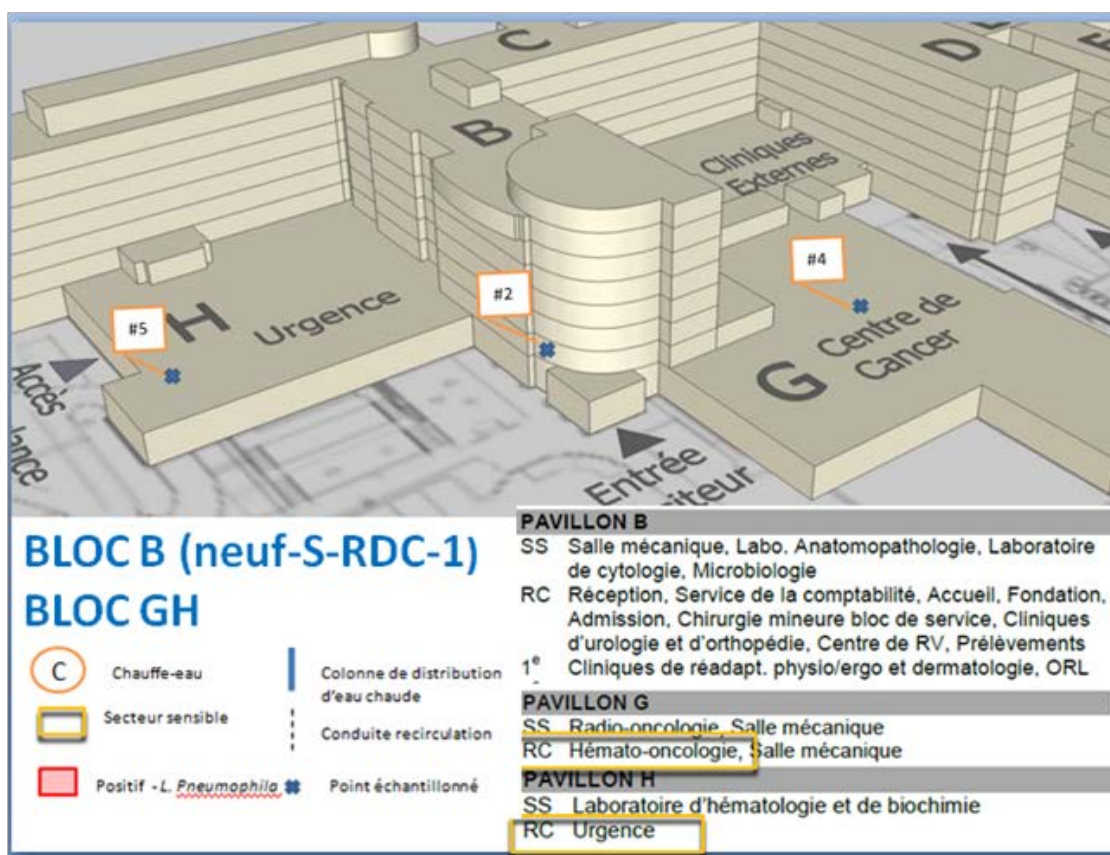


Figure 4-18 Localisation des points d'échantillonnage et des points positifs pour *Legionella* par culture ou qPCR dans le réseau Bloc G, H et des étages du bas du B

4.2.8.4 Réseau de la chaufferie

Les relevés hebdomadaires de température en sortie des deux chauffe-eau de la chaufferie présentés à la figure 4-19 sont en moyenne de 54°C (min 43°C - max 61°C). Ce réseau présente une défaillance évidente pour assurer des températures de contrôle de la prolifération de *Legionella*. Ces tendances ont été validées par les mesures supplémentaires enregistrées en continu au début

du mois de février démontrant une température moyenne de 52°C. Ces températures ne respectent pas le récent décret du RBQ exigeant un minimum 60°C en sortie des chauffe-eau (Gouvernement du Québec, 2012).

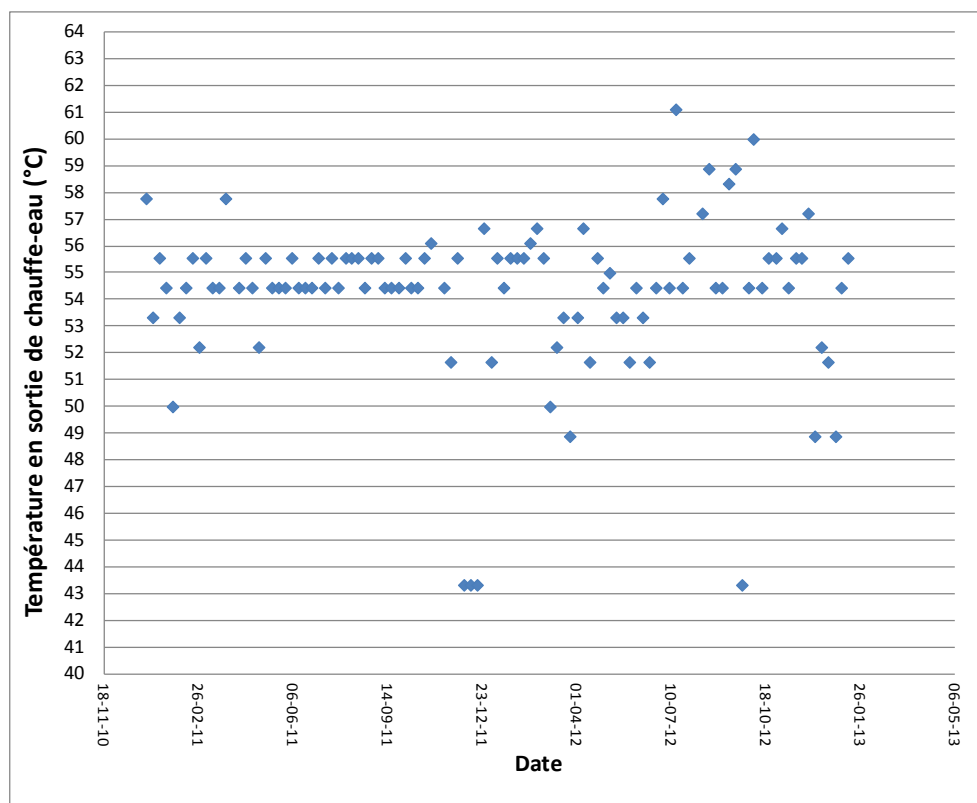


Figure 4-19 Températures mesurées hebdomadairement à la sortie combinée des deux chauffe-eau d'appoint de la chaufferie en 2011 et 2012

Les figures 4-20 et 4-21 montrent clairement les variations quotidiennes des températures qui concordent aux variations de pointe de consommation. Il est intéressant de noter que la hausse des températures l'augmentation supposée de la demande en eau pour les soins et qu'elles sont plus faibles le samedi et le dimanche. De plus, entre 19h00 et 7h00, les températures sont très faibles bien au-dessous de 50°C et elles perdurent pendant une dizaine d'heures.

Les températures de l'eau au retour de la boucle de recirculation représentent directement celles à la sortie des chauffe-eau avec une perte thermique de l'ordre de 8,5°C pour le bloc sanitaire et 7,4°C pour le bloc B,C,D,E,F (Figures 4-20 et 4-21). Ces pertes thermiques dépassent les recommandations françaises d'un maximum de pertes thermiques acceptable de 5°C. À plus de 7°C, on suggère de modifier le réseau pour limiter ces pertes. Considérant l'ampleur des variations

horaires constatées et du nombre limité de suivis en continu réalisés, la fiabilité des données est rejetée.

Les faibles températures mesurées ne sont pas seulement causées par l'efficacité des chauffe-eau, mais aussi par un calorifugeage insuffisant du réseau. En effet, seules les conduites de distribution principales sont calorifugées dans ce réseau, aucune colonne verticale ou de retour ne l'était. De plus, la longueur du réseau est sans doute un facteur à prendre en compte.

Il est important de souligner qu'aucun suivi des réservoirs de chauffage de ce réseau n'a été effectué lors de la campagne d'échantillonnage et ceux-ci présentent sans doute un site de risque élevé de prolifération de légionelles. Dans ce cas, il serait essentiel de maintenir une température suffisante et d'assurer l'homogénéité des températures dans l'ensemble des réservoirs.

En bref, les conditions de température relevées en sortie de chauffe-eau sont propices pour la croissance de *L. pneumophila* dans le chauffe-eau, le réseau principal et les points distaux.

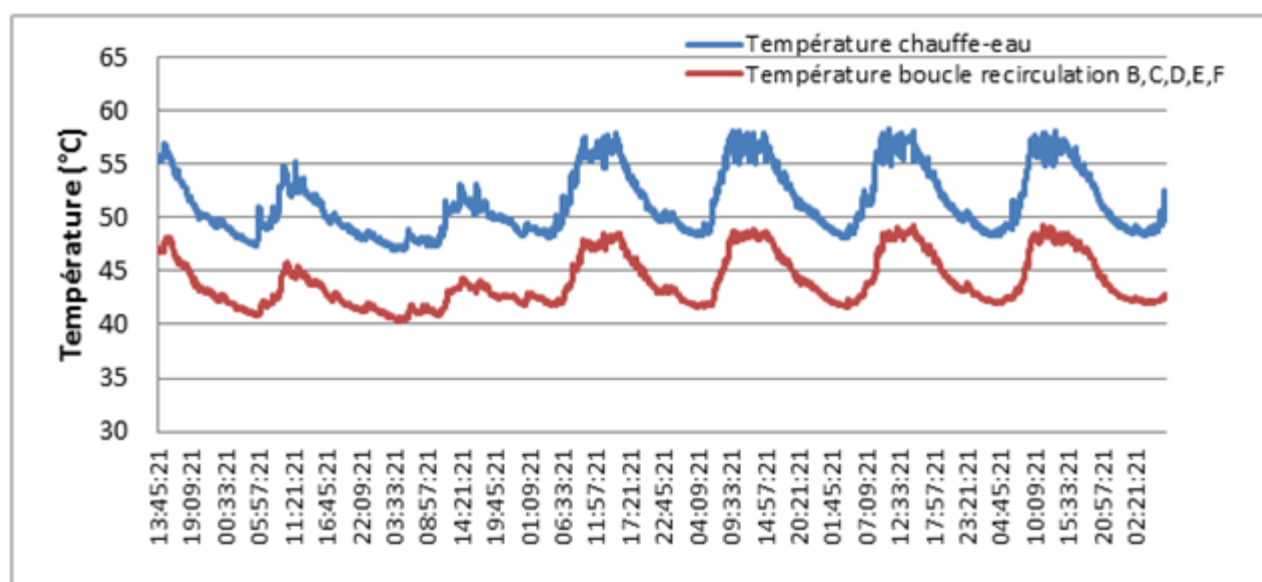


Figure 4-20 Différences de températures en sortie de chauffe-eau et en retour de boucle de recirculation pour le bloc B, C, D, E et F en fonction de l'heure du jour – 9 au 15 février 2013

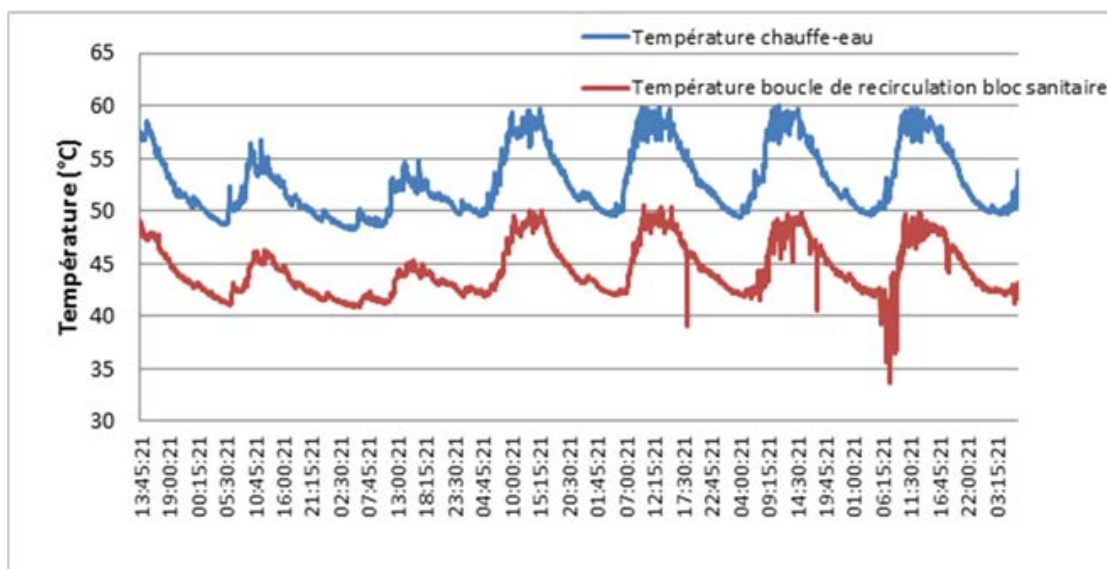


Figure 4-21 Différences de température en sortie de chauffe-eau et en retour de boucle de recirculation pour le bloc de service en fonction de l'heure et du jour – 9 au 15 février 2013

La figure 4-22 illustre un schéma du système de chauffe-eau du bloc BCDEF ainsi que la localisation des points d'échantillonnage du système de la chaufferie.

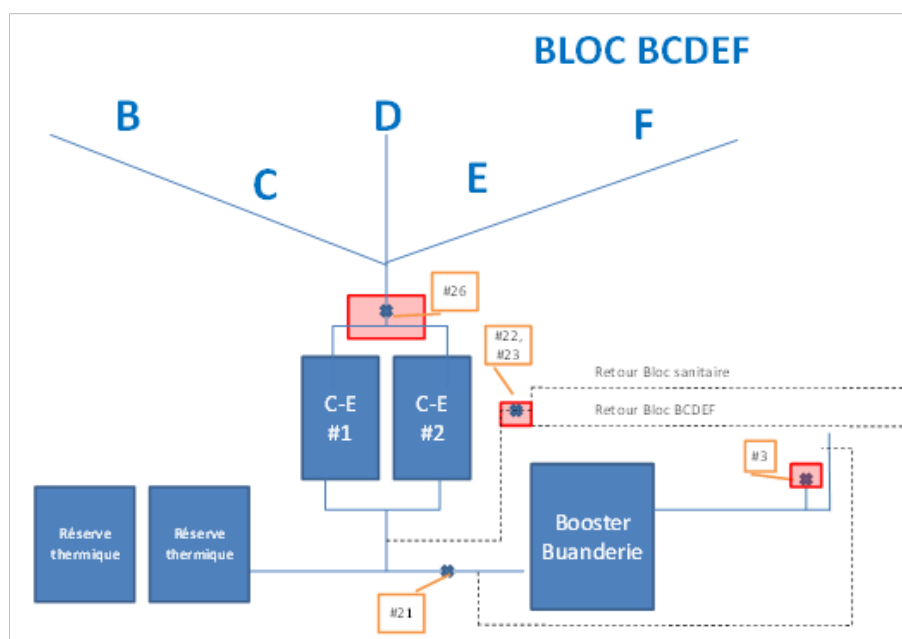


Figure 4-22 Schéma du réseau du Bloc BCDEF

Les profils de températures aux points de consommation des différents bâtiments alimentés par la chaufferie sont similaires et présentés à la figure 4-23. Ces profils indiquent une architecture

similaire des différents secteurs alimentés par la chaufferie. Une conduite principale dessert une multitude de colonnes avec 2 ou 3 points de consommation par étage. En considérant la taille du réseau et le fait que les colonnes verticales ne sont pas isolées, la température d'équilibre n'est atteinte qu'après un écoulement prolongé.

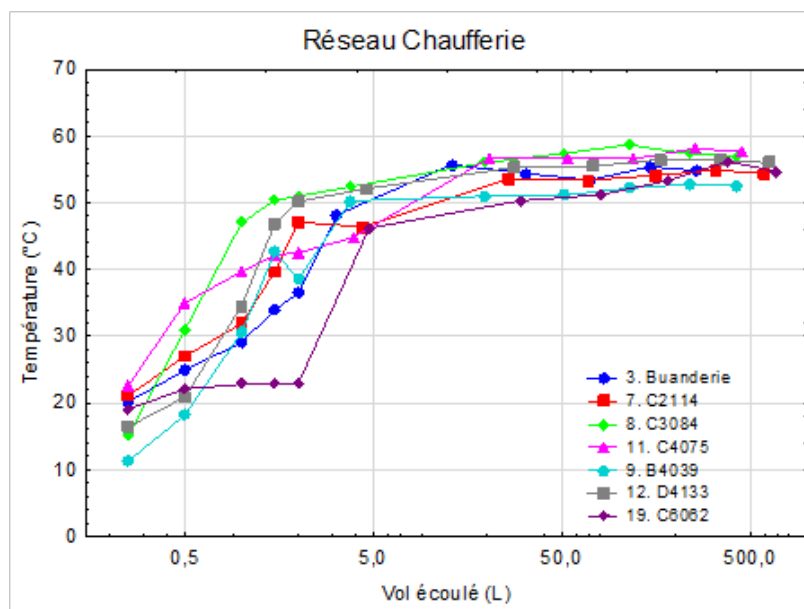


Figure 4-23 Profils de température aux points d'utilisation desservis par le réseau de la chaufferie

Tous les points échantillonnés (no 7, 8, 11, et 12) aux blocs C et D ont rejoint une température d'environ 55°C après 5 minutes d'écoulement, sauf le point no 19 au 6^{ième} étage avec une température de 50°C. Les températures relevées après 30 secondes d'écoulement permettent de vérifier s'il s'agit d'une conduite fréquemment utilisée (température au-dessus de 50°C) ou d'une colonne peu utilisée (température d'environ 40°C). Étant donné la taille du réseau, il serait important de compléter le calorifugeage des conduites et de diminuer la stagnation et les pertes thermiques en forçant la circulation dans plusieurs conduites du réseau. Ces observations et recommandations sont d'autant plus pertinentes qu'il s'agit d'un réseau problématique au niveau des températures en sortie de chauffe-eau, qui soit dit en passant, étaient exceptionnellement élevées lors de la campagne échantillonnage.

Le profil de température observé à la buanderie (point no 3) est difficilement explicable. Les températures à la sortie du rehausseur de température et au retour de boucle ont toujours dépassé les 70°C lors de nos observations. Toutefois, 55,7°C est le maximum atteint à ce point après 5

minutes et puis la température a diminué et s'est stabilisée autour de 54°C. Il est important de rechercher à quel réseau est réellement branché ce point puisque l'hypothèse de simples pertes de chaleur ne peut être valide avec un volume d'utilisation de 260 L.

La localisation des points d'échantillonnage, les services présents et les nombreux points positifs pour *Legionella* en culture ou en qPCR sont présentés à la figure 4-24.

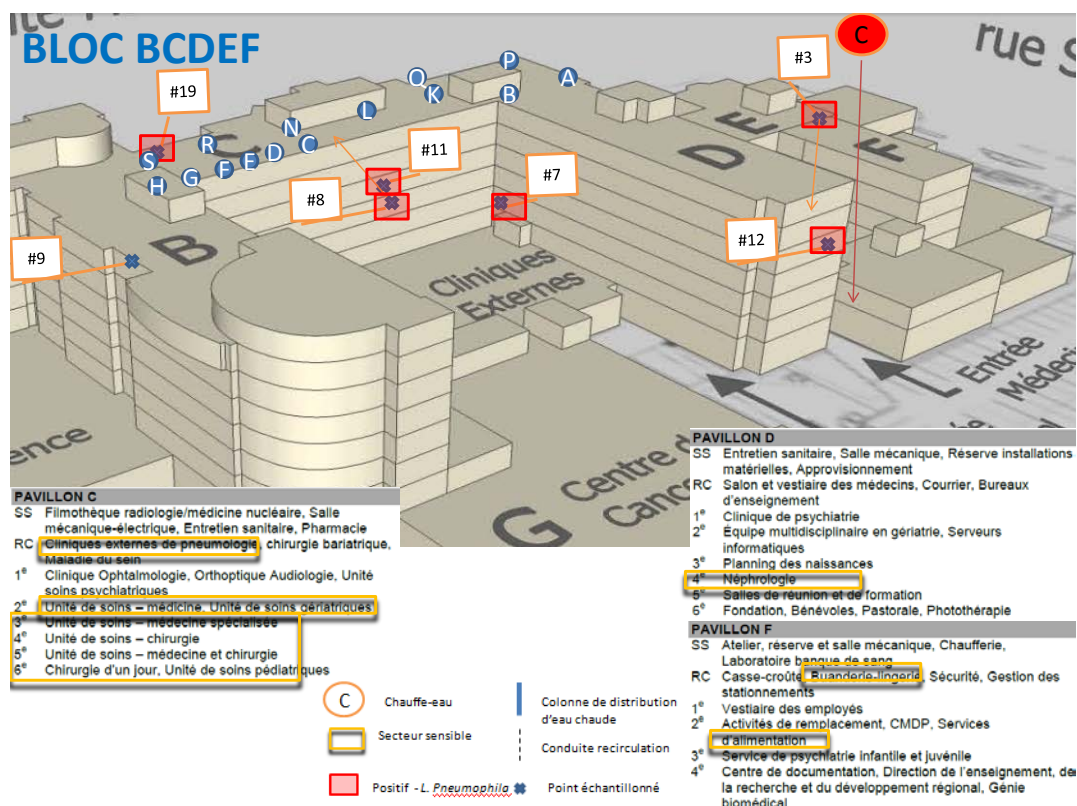


Figure 4-24 Localisation des points d'échantillonnage et des points positifs pour *Legionella* par culture ou qPCR dans le réseau Bloc BCDEF

En bref, le réseau de la chaufferie démontre plusieurs facteurs de risque supportant la croissance de *L. pneumophila*: des températures en eau chaude au point de consommation inférieures à 55°C, une circulation faible dans les conduites et des températures en retour de boucle toujours inférieures à 50°C. Les chauffe-eau sont sans doute l'aspect de ce réseau le plus faible et à risque dans le contrôle de la prolifération de *Legionella*. Des correctifs immédiats doivent être faits sur la plupart des éléments de ce réseau en commençant par les chauffe-eau.

4.2.9 Classement des réseaux d'eau chaude

Le premier critère dans le contrôle de *Legionella* est d'assurer une température supérieure à 60°C en sortie de chauffe-eau en tout temps tel que l'a rendu obligatoire la Régie du Bâtiment du Québec depuis février 2012 par l'émission d'un décret (Gouvernement du Québec, 2012). L'expérience européenne abonde en ce sens, mais souligne aussi l'importance de considérer les températures de recirculation et distales aux points d'utilisation.

Se doter d'un système de classement rigoureux permettra de classer les quatre systèmes et préciser le risque de prolifération de légionelle en fonction des critères bien établis et présentés au tableau 4.5 tout en s'assurant de la conformité au nouveau décret du RBQ (Gouvernement du Québec, 2012). Le système de classement proposé est toujours en développement, car l'équipe de la Chaire CRSNG collabore avec plusieurs chercheurs internationaux pour améliorer ce classement.

Le tableau 4.5 synthétise les conditions observées pour ces critères de température.

Il apparaît évident que certains des réseaux diagnostiqués sont à risque de développement de légionelle selon les critères internationaux et le nouveau décret du RBQ. Par contre, la RBQ n'a pas précisé les modalités de contrôle de la température en sortie de chauffe-eau pour être conforme à la réglementation. L'application du seul de 60°C pourrait se faire selon un percentile de valeurs ou encore en moyenne. La fréquence de mesures sera aussi décisive.

Le réseau de la chaufferie est clairement le réseau le plus à risque au niveau du potentiel de prolifération de légionelle. L'absence de contamination sévère par *Legionella* de ces réseaux est une bonne nouvelle. Soulignons qu'en termes de gestion du risque, il serait plus que souhaitable de diminuer ce risque de façon préventive.

Tableau 4.5 Classement proposé des systèmes d'eau chaude à partir des profils de températures

Niveau de risque	Critères	Réseau de l'hôpital
Très faible risque excellent état système conforme au RBQ	- Assure en tout temps la production d'eau chaude $> 60^{\circ}\text{C}$, - température de retour dans la boucle de recirculation $> 55^{\circ}\text{C}$, - température en antenne éloignée de $> 55^{\circ}\text{C}$ après écoulement d'une minute et - Perte thermique $< 5^{\circ}\text{C}$.	
Faible risque système conforme RBQ?	- Assure presque toujours ($> 90\%$) la production d'eau chaude égale ou supérieure à 60°C, - température de retour dans la boucle de recirculation $> 50^{\circ}\text{C}$, - température en antenne éloignée de $> 50^{\circ}\text{C}$ après écoulement de 5 minutes et - Perte thermique $< 5^{\circ}\text{C}$.	Nouveau B Bloc A sauf étage 6*
À risque système conforme RBQ?	- N'assure pas de façon fiable ($< 90\%$) la production d'eau chaude à plus de 60°C, - température de retour dans la boucle de recirculation $> 50^{\circ}\text{C}$, - température en antenne éloignée de $> 50^{\circ}\text{C}$ après écoulement de 5 minutes et - Perte thermique $> 5^{\circ}\text{C}$.	Bloc G et H
A risque élevé système non conforme au RBQ	- N'assure pas de façon fiable ($< 50\%$) la production d'eau chaude à plus de 60°C et la température de retour dans la boucle de recirculation $> 50^{\circ}\text{C}$, - température en antenne éloignée de $< 50^{\circ}\text{C}$ après écoulement de 5 minutes et - Perte thermique $> 7^{\circ}\text{C}$.	Chaufferie

* données incomplètes pour conclure

Tableau 4.6 Sommaire des résultats de qualité physico-chimique utilisés pour les critères de vulnérabilité et des observations microbiologiques (*Legionella* spp. et *L. pneumophila*)

Réseau	# Point	Eau froide		Eau chaude Température (°C)			<i>Legionella</i> spp. et <i>L. pneumophila</i> dans l'eau chaude			
		Cl ₂ résiduel mg Cl ₂ /L	Température (°C)	0,5 min	5 min	60 min	Au point de consommation		Sortie chauffe-eau	Boucle de recirculation
							Culture	qPCR* (GU/L)		
Bloc A	6	0,36	9,0	58,0	59,6	60,0	-	-	culture - qPCR -	culture - qPCR -
	15	0,29	8,9	39,6	50,0	57,8	-	-		
	16	n. a	n. a	n. a	n. a	n. a	+ <i>L. anisa</i>	-		
Nouveau B 3, 4, 5 et 6 ^{ème} étage	10	0,28	10,3	43,9	58,8	52,9	-	-	culture - qPCR -	culture - qPCR -
	13	0,39	8,8	58,8	59,2	60,7	-	-		
	14	n. a	n. a	35,5	35,6	36,1	-	-		
	17	0,39	8,6	58,2	58,8	59,6	-	73 (<LD)		
	18	n. a	n. a	36,2	36,6	36,3	+ <i>L. anisa</i>	-		
	29						+ <i>L. anisa</i>	8 (<LD)		
Bloc G, H	2	0,31	8,9	58,0	59,2	61,4	-	-	culture - qPCR -	culture- qPCR -
	4	n. a	na	37,1	36,5	37,3	-	-		
	5	0,32	8,7	59,0	61,3	60,3	-	-		
Chaufferie	3	0,24	9,3	48,2	55,7	54,8	-	352	Sortie réserve thermique • culture - • qPCR - Sortie chauffe-eau • culture - • qPCR 43 UG/L (<LD)	Bloc de service • +++ Lp sg6 • qPCR 2 080 UG/L Retour CDEF • culture +++ • +++ Lp sg6 • qPCR 685 UG/L
	7	0,29	9,9	46,4	53,6	54,4	-	593		
	8	0,36	9,3	52,4	56,0	57,0	-	382		
	9	0,36	9,3	50,3	51,0	52,6	-	-		
	11	0,29	10,1	44,8	56,7	57,7	-	76 (<LD)		
	12	0,27	9,0	52,1	55,3	56,0	-	987		
	19	0,30	10,1	46,2	50,3	54,7	-	124 (<LQ)		

*LD = Limite de détection; LQ= Limite de quantification.

+ < 100 UFC/L; +++>1 000 UFC/L

Une autre façon d'étudier les tendances globales de profils de température est représentée à la figure 4-25. La distribution de la température de l'eau chaude aux points d'utilisation après 5 et 60 minutes d'écoulement est disponible selon le réseau d'alimentation. On observe que les blocs G, H et le nouveau B obtiennent une température stable après 5 minutes d'écoulement. Pour ce qui est de la chaufferie, en plus de noter une température de stabilisation plus basse que les autres réseaux après 60 min d'écoulement, c'est l'étendue de la plage des données qui retient l'attention (celle du nouveau B l'est seulement à cause d'une donnée éloignée la médiane elle se situe près du 60°C). Cette analyse plus globale des températures aux points d'utilisation va dans la même direction que les tendances relevées au niveau de la prévalence de *Legionella*.

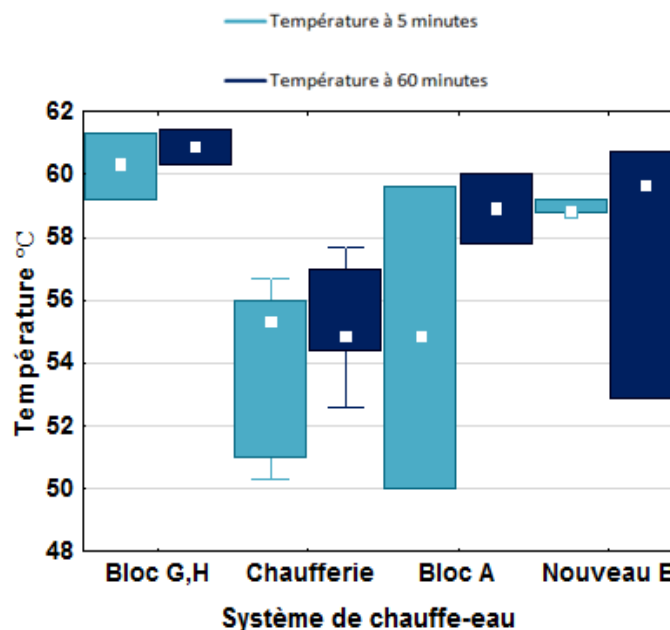


Figure 4-25 Température à 5 minutes et à 60 minutes selon les différents réseaux.

4.2.10 Importance de la prévalence observée de *L. pneumophila* dans l'eau aux points d'usage

Les profils de température aux points de consommation avaient pour objectif de cerner les secteurs des réseaux les plus à risque de prolifération de *Legionella*. L'analyse de *Legionella* et *L. pneumophila* est un moyen de confirmer ce risque afin de prioriser les actions à entreprendre.

Le tableau 4.6 compile les résultats de suivi de *Legionella* et *L. pneumophila* en fonction des valeurs de températures et de chlore résiduel mesurées. La première constatation est qu'un plus grand nombre de points sont positifs pour *L. pneumophila* en qPCR (13/29) qu'en culture (5/29). Ces résultats correspondent aux observations de différentes études qui ont mis en parallèle les méthodes de culture et de PCR où un plus grand nombre de résultats positifs a été observé avec les méthodes PCR qu'avec les méthodes de culture (Behets, Declerck, Delaedt, Creemers, & Ollevier, 2007; Buchbinder, Trebesius, & Heesemann, 2002; Joly et al., 2006; Levi, Smedley, & Towner, 2003; Wellinghausen, Frost, & Marre, 2001; Yaradou et al., 2007).

Il faut rappeler que la qPCR est spécifique pour *L. pneumophila* alors que la méthode par culture peut isoler *Legionella spp.* et *L. pneumophila*. Un résultat de culture était réputé positif si tous les tests de confirmation sont concluants.

Le nombre d'échantillons positifs en culture et en PCR est plus grand dans le réseau de la chaufferie, c'est-à-dire le réseau présentant les conditions de température les plus favorable à la prolifération des légionelles. Contre toute attente, les points de consommation ne sont pas positifs en culture et une faible présence est observée en qPCR à la sortie des chauffe-eau et en boucle de recirculation. Les neuf valeurs positives en qPCR de *L. pneumophila* (9/11), sont relativement faibles et près de la limite de détection de la méthode de culture utilisée. Toutefois, les deux résultats les plus élevés en dénombrement de *Legionella pneumophila* sg.6, ont été observés dans les boucles de recirculation symptôme d'un problème systémique du réseau d'eau chaude selon (Lecointe et al., 2010).

En comparant la prévalence entre les points échantillonnés et la littérature, il est possible de constater que ceux de l'hôpital régional restent relativement faibles en concentration et en % de prévalence pour tous les réseaux confondus. En effet, la majorité des hôpitaux italiens (79,1%) sont colonisés et 33,9% des échantillons étaient positifs pour *L. pneumophila*. L'implantation d'une réglementation a diminué d'environ 10% la prévalence entre 2000 et 2009. Aux États-Unis, présenter 30 % des points positifs pour *Legionella spp* est considéré comme un niveau maximal acceptable de contamination, quoique ce seuil fasse l'objet de critiques importantes. Ce seuil est remis en question en raison du meilleur dépistage clinique et de la mise en évidence des sources environnementales. Pour bien situer l'hôpital régional selon ces valeurs de référence, le nombre de positifs mesurés en culture est de 17% (5/29 échantillons), c'est-à-dire inférieur à 30%. Toutefois, les valeurs observées dans le réseau de la chaufferie, mais surtout la prévalence systématique dans les boucles de recirculation sont un indicateur d'une colonisation importante de ce réseau. Bien que les valeurs positives en culture n'aient été mesurées que dans les boucles de retour (2/11), 89% des points échantillonnés sont positifs pour *L. pneumophila* en qPCR.

Dans la réglementation française, les dénombrements en *L. pneumophila* en milieu hospitalier doivent être inférieurs à 1 000 UFC/L pour tous les points d'usage à risque (République Française, 2010a). La réglementation italienne est plus stricte en fixant l'objectif à < 100 UFC/L en milieu hospitalier. Lorsque la concentration est >100 et <1 000 UFC/L, une surveillance clinique doit être mise en place. Des traitements correctifs immédiats sont requis à plus de 10 000 UFC/L. Dans le cas présent, tous les résultats de culture présentaient des concentrations inférieures à 1 000 UFC/L, répondant ainsi à ces cibles.

Aucune norme ou réglementation sur les valeurs cibles ou seuils d'action pour les concentrations mesurées en qPCR n'est actuellement disponible. Les valeurs observées en qPCR sont généralement supérieures qu'à ceux en culture. En effet, l'étude réalisée par Lee et al. (2011) rapporte une différence de 0,62 log pour *Legionella pneumophila* et de 1,05 log pour *Legionella* spp entre les résultats observés par qPCR et par culture pour les eaux chaudes et froides domestiques. Or, en appliquant ces observations aux objectifs cibles en culture, on peut extrapoler un objectif conservateur de < 5 000 GU/L pour *L. pneumophila*. Même en considérant cette adaptation du seuil, aucune des concentrations obtenues en qPCR lors de l'échantillonnage ne le dépasse, confirmant ainsi les résultats obtenus en culture.

Il est plus raisonnable de nuancer l'analyse des résultats dans les secteurs où il y a des patients à haut risque (immunodéprimés après transplantation ou greffe d'organe et immunodéprimés par corticothérapie). En effet, selon le guide de l'eau français, l'eau provenant des points d'usage dans ces secteurs ne doit pas confirmer la présence de *L. pneumophila* (<250 UFC/L selon la méthode NF T90-431) (République Française, 2005c). La considération de cet objectif concernerait, dans le cas présent, deux points identifiés positifs en qPCR pour *L. pneumophila* se trouvant dans l'unité de soins gériatriques et l'oncologie. Ils nécessiteraient, selon le Guide technique de l'eau dans les établissements de santé, d'entreprendre des actions correctives immédiates.

Il est particulièrement important de souligner qu'une analyse ponctuelle de *L. pneumophila* à un point du réseau ne représente pas une évaluation fiable de la contamination à ce point dans le temps, ou de la contamination des points d'usage à proximité ou dans le même secteur. Dans une étude effectuée dans huit services d'un hôpital à raison de 880 prélèvements au cours de cinq jours consécutifs, 168 robinets étaient positifs pour *L. pneumophila* (Napoli, Iatta, Fasano, Marsico, & Montagna, 2009). Les résultats de ce suivi démontrent que les concentrations observées en culture varient significativement d'un jour à l'autre, par un facteur de plus 10 fois pour un même point d'échantillonnage. C'est pourquoi toutes les directives et règlements favorisent la mesure régulière de *L. pneumophila* aux points d'usage à risque en milieu hospitalier et la mise en place de conditions pouvant minimiser le risque légionelle dans le réseau. Par contre, les résultats de répétitions d'échantillonnage dans les réseaux A et de la chaufferie démontrent une certaine constance dans les tendances de contamination.

L'incidence de légionellose nosocomiale s'accroît et ces infections sont souvent générées par des *Legionella* non *pneumophila* ou des sérogroupes de *L. pneumophila* autres que sr.1 (Lin, Stout, & Yu, 2011). Les sérotypes dominants dans l'eau des hôpitaux ne sont pas les mêmes selon les études. *L. pneumophila* sg. 1 qui est la cause de la grande majorité des cas de légionellose, est souvent dominant. Pour d'autres cas, *L. pneumophila* sg. 6 qui est le 2^{ème} séroroupe le plus virulent, ou d'autres sérogroupes sont prépondérants ou très présents (Lecointe et al., 2010; Mavridou et al., 2008; Napoli et al., 2010; Yu et al., 2002). Une éclosion de *L. pneumophila* sr.5 dans un hôpital italien a été associée à des isolats du réseau d'eau chaude par génotypage (AFLP, RADP, PFGE) (Perola et al., 2002). Il est donc important d'employer une méthode de mesure qui puisse détecter tous ces sérogroupes. Il est intéressant de rappeler que le test d'antigène urinaire le plus communément employé ne permet pas le dépistage des sérogroupes autres que *L. pneumophila* sg1.

4.2.11 Actions correctrices et préventives

La prolifération de légionelle dans les réseaux bouclés d'eau chaude sanitaire est due principalement à deux facteurs favorisant son développement dans le biofilm : la température et la stagnation de l'eau. Les zones stagnantes ou à faible circulation sont souvent le résultat d'une conception déficiente ou encore d'un régime d'exploitation qui ne permet pas de maintenir une distribution homogène et une température suffisante. D'autres facteurs ont aussi été reconnus comme importants dont l'accumulation de dépôts, la présence d'amibes et le maintien d'une concentration résiduelle insuffisante de désinfectant. De nombreux exemples démontrent que le contrôle de la légionelle est possible lorsque le contrôle de la température, la prévention de l'entartrage et la limitation de la corrosion sont réalisés.

Les légionelles dans un réseau de distribution d'eau chaude se retrouvent essentiellement dans le biofilm (>95%), c'est-à-dire sur les surfaces, les dépôts fixes et les sédiments (Flemming, H.-C. et al., 2002; Saby et al., 2005). Le biofilm a un effet protecteur majeur contre les traitements, particulièrement les désinfectants. Le contrôle de la légionelle est intimement lié au contrôle du biofilm. Dans les secteurs à faible écoulement des réseaux d'eaux chaudes sanitaires, l'augmentation de la température est une méthode intéressante, car le maintien de concentrations résiduelles de désinfectant est difficile, voire même impossible, en raison des cinétiques de réaction des oxydants.

Plusieurs hôpitaux à travers le monde ont établi des systèmes de traitement par désinfection pour le contrôle des légionelles, parfois de manière préventive, mais surtout en réponse à des résultats de concentrations élevées de légionnelle. Selon les systèmes, il est possiblement difficile ou irréalisable de maintenir les températures de contrôle. Dans ces cas, il est possible qu'un traitement à l'aide de biocide soit nécessaire. Par contre, un retour d'expérience de plus de 10 ans sur l'implantation de traitements d'oxydation dans des réseaux d'hôpitaux en France et en Italie, montre que les traitements par oxydant sont inefficaces sans la mise en place d'un plan de contrôle de température et d'un contrôle hydraulique du réseau.

Le succès rapporté par l'approche européenne démontre qu'une gestion rigoureuse de la température et du temps de séjour et la prévention de toute stagnation (élimination des culs-de-sac et antennes), jumelée ou non au maintien d'un résiduel de désinfectant, peuvent constituer une solution efficace. Néanmoins, la mise en pratique de ces principes entraîne souvent des modifications physiques du réseau, la mise en place de traitements chimiques d'adoucissement et de contrôle de la corrosion, des ressources importantes pour les activités de maintenance (purges, nettoyage, entretien préventif, etc.) et un suivi rigoureux des paramètres de température et microbiologique de l'eau dans le temps, avec des limites d'action prédéfinies. Lorsque les ressources nécessaires sont employées, le risque peut être contrôlé.

Le nouveau décret de la RBQ obligera les hôpitaux à augmenter la température en sortie des chauffe-eau. Malheureusement, le contrôle de la température à la sortie du chauffe-eau ne représente qu'un seul des points de contrôle du risque légionelle. Il est primordial d'envisager les autres points de contrôle et d'agir au niveau de tout le réseau.

L'approche favorisée par toutes les directives et réglementations consiste à mettre en place un plan de gestion de risque légionelle incluant un diagnostic du réseau, des actions correctrices adaptées et la mise en place d'un programme de suivi. Le premier diagnostic complété lors du projet de recherche a déjà pu cerner des zones à plus haut risque qu'il faut prioriser. Toutefois, ce diagnostic était limité par le niveau d'investigation du réseau et la durée restreinte du suivi de qualité.

4.2.12 Impacts anticipés du changement de source sur l'entretien du réseau d'eau chaude sanitaire

Une alcalinité de plus de 150 mg/L est une eau très minéralisée qui entraînera un entartrage important au niveau des chauffe-eau, des vannes et des robinets mitigés et thermostatés. Il est faut déminéraliser cette eau ou doser des produits anti tartre en continu pour limiter la formation de dépôts de carbonate de calcium et de magnésium. Ces dépôts représentent des niches idéales pour le développement de la légionelle dans les chauffe-eau, conduites et robinets.

Le changement récent de la source d'approvisionnement en eau de la ville impacte la dureté de l'eau alimentant réseau, qui est maintenant à 180 mg/L de CaCO_3 . Cette augmentation de la dureté impliquera un entartrage plus important et plus rapide que par le passé dans les équipements et le réseau de distribution d'eau de l'hôpital. L'importance de cet entartrage supplémentaire serait suffisante pour devoir repenser le protocole d'entretien des équipements à court terme pour éviter bris et défaillances.

Il est conseillé que l'hôpital effectue rapidement une étude des options d'adoucissement de l'eau pour protéger ses systèmes et réseaux d'eau chaude. Plusieurs options techniques éprouvées sont disponibles et il faut aussi considérer un traitement anticorrosion pour certaines de ces solutions. D'autres systèmes de traitement sans ajout de produits chimiques restent en développement. Ces systèmes, relativement peu coûteux, n'adoucissent pas l'eau, mais diminuent l'adhérence des dépôts et leur accumulation dans les composantes du réseau. Ces systèmes sont à considérer, mais seulement après une réelle validation de leur efficacité.

Tous les points échantillonnés ont indiqué un résiduel de chlore mesurable d'en moyenne 0,29 mg Cl_2/L . Ces concentrations de chlore en eaux froides correspondent aux bonnes pratiques. Donc aucune chloration supplémentaire à l'entrée de l'hôpital n'est à préconiser. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles proposées par les exploitants d'hôpitaux français qui ont réintégré par mesure préventive la chloration en entrée d'établissement à des taux de 0,1-0,3 mg/L (Hartemann communication personnelle, 2013). L'alimentation en eau souterraine par la municipalité rend peu probable des variations importantes de qualité. Toutefois, une vérification est recommandée lorsqu'en période estivale tous les puits fonctionneront pour répondre à la pointe de demande, car la qualité d'eau peut varier significativement entre les puits.

4.3 Diagnostic des réseaux d'eau chaude sanitaire

Cette section permettra de comparer la procédure de diagnostic utilisée avec celles proposées dans les guides HSE, CSTB ainsi que la réglementation québécoise afin de recommander une méthode diagnostique complète, spécifique aux établissements desservant une clientèle vulnérable, afin de contrôler le risque de prolifération de *Legionella*.

4.3.1 Comparaison et portée de divers protocoles

La section suivante présente une discussion comparant l'expérience dans l'établissement de santé étudié avec les bonnes pratiques et obligations relevées dans les recommandations et règlements sur le contrôle de la légionelle dans les réseaux d'eau chaude. Un tableau synthèse des réglementations est présenté dans la version préliminaire de l'article «Trends in temperature monitoring to identify high risk areas and optimize *Legionella pneumophila* surveillance in hot water distribution systems» placé à l'annexe 5.

4.3.1.1 Caractérisation du système et de son architecture hydraulique

Presque toutes les réglementations et guides consultés recommandent de faire un schéma hydraulique simplifié comprenant le système de chauffage (chauffe-eau et réservoirs), les boucles principales et secondaires de distribution et de recirculation (pompes secondaires) et de caractériser l'architecture et l'exploitation hydraulique (BSR/ASHRAE, 2013) (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012) (Health and Safety Executive (HSE), 2013b) (World Health Organization (WHO), 2011). Cet exercice est considéré comme essentiel pour diagnostiquer les réseaux et établir les conditions d'exploitation pour minimiser la croissance de légionelle.

La caractérisation simplifiée du REC présentée dans ce chapitre et effectuée en quelques jours n'était pas complète, mais a tout de même permis de guider l'échantillonnage de la qualité de l'eau. Une caractérisation plus complète est souhaitable, particulièrement dans le cas de vieux réseaux à raccordements multiples.

Cette recommandation apparaît aussi essentielle au Québec pour localiser les zones à risque de prolifération de légionelle dans les REC. De plus, la caractérisation du réseau permet de pallier l'absence fréquente de plans tels que construits.

4.3.1.2 Maintien de la température de l'eau chaude dans l'ensemble du réseau

En France, la température doit être supérieure à 50°C en tout point du réseau d'eau chaude. La méthode diagnostic par constat des températures prévoit de relever la température sur la conduite de chaque boucle d'un réseau (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Par la suite, un profil de température doit être réalisé sur un point représentatif de chaque réseau ainsi que dans les secteurs desservant des personnes vulnérables. Au Royaume-Uni, le point le plus éloigné de chaque boucle doit être vérifié mensuellement et la température doit être supérieure à 55°C après 1 minute d'écoulement (50°C dans les bâtiments autres qu'hospitaliers) (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). Au Québec, les nouveaux bâtiments doivent assurer une température de 55°C en tout point du réseau lorsque l'eau y est en circulation (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013) (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b). Toutefois, la température aux baignoires et douches ne doit pas dépasser 49°C (43°C dans les cas de personnes âgées) afin de limiter les risques de brûlures. Si ces points ne sont pas équipés de robinets thermostatés, la température doit y être mesurée mensuellement pour s'assurer que le mélange d'eau froide et chaude est bien réglé (Gouvernement du Québec, 2012).

Au Royaume-Uni, des mesures de température après une minute d'écoulement de température doivent être réalisées annuellement sur 20 % des points de consommation tout en procédant au roulement d'une année à l'autre. Il est important que certains points se situent près du chauffe-eau et d'autres très éloignés (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). En France, « le choix des points de surveillance relève d'une stratégie d'échantillonnage qui tient compte du nombre de points d'usage à risque » c'est-à-dire des points de consommation accessible et produisant des aérosols tels que les baignoires, douches et baignoires à remous. Les relevés de température doivent être effectués mensuellement ou hebdomadairement pour les points dans les secteurs présentant des clientèles vulnérables.

Le maintien d'une température de 55°C en tout point du réseau apparaît hautement recommandable, non seulement dans les nouveaux bâtiments ou les agrandissements, mais aussi dans les bâtiments existants. La notion de distribution des températures dans les différentes sections du réseau (conduites d'alimentation et boucles de recirculation principales et secondaires, conduites terminales et raccordements des points d'usage) doit être considérée. Des profils de

température devraient être réalisés à des points d'usage situés au bout de chaque boucle ou colonne de distribution afin de vérifier que la température est adéquate dans l'ensemble du réseau. Cette vérification peut être faite en vérifiant la température au premier jet, après 1 minute de rinçage et après un rinçage prolongé, ce qui permet de s'assurer d'une recirculation suffisante de l'eau dans le réseau principal et secondaire et d'évaluer l'importance de la zone distale de stagnation.

4.3.1.3 Contrôle de la température en sortie des chauffe-eau

La température règlementée à la sortie des chauffe-eau en France, au Royaume-Uni et au Québec est d'un minimum de 60°C qui correspond à une barrière efficace de contrôle de la légionelle. Dans le cas de la réglementation française, une température de 55°C est tolérée dans le cas de bâtiments ne desservant pas de populations vulnérables. En France, la température à la sortie des chauffe-eau d'établissement hospitalier doit être relevée minimum une fois par jour ou en continu (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Au Royaume-Uni, il n'est demandé de vérifier et d'enregistrer qu'une fois par mois la température à la sortie des chauffe-eau (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). Au Québec, le cadre réglementaire est encore plus flou, car il n'y a aucune recommandation sur la fréquence de mesure pour s'assurer du respect de la température de consigne de 60°C.

À la lumière du retour d'expérience au CSSS d'un territoire, il est recommandé de mesurer la température en continu dans les établissements de soin de santé. Ce type de suivi offre l'avantage de permettre de déceler rapidement un problème ou une perturbation dans le réseau ou l'équipement de chauffage, de connaître les limites de capacité des installations de chaufferie et de stockage en fonction des variations quotidiennes de la demande. Les chaufferies plus récentes en sont généralement dotées. Des sondes de mesure des températures en continu peu coûteuses sont maintenant disponibles et peuvent facilement être installées en sortie des chauffe-eau.

4.3.1.4 Pertes thermiques et boucles de recirculation

Les pertes thermiques admissibles dans les guides ou réglementations sont spécifiées soit sous forme d'une valeur maximale (par exemple 5°C en Allemagne (Deutsche Regierung, 2001), soit en fonction du maintien des températures seuils. Dans plusieurs cas, les conditions d'écoulement (distribution et recirculation) minimales sont spécifiées en fonction de la longueur et du calorifugeage des conduites de distribution et de recirculation.

Au Royaume-Uni, il est obligatoire de mesurer mensuellement la température en retour de boucle de recirculation qui doit être supérieure à 55°C dans les établissements de soins de santé (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). En France, la température exigée est de 50°C et doit être relevée au minimum une fois par jour ou en continu (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). Au Québec, une température minimale de 55°C doit être maintenue en tout point du réseau y compris au retour de boucle de circulation. Dans le cas d'une température de 60°C en sortie du chauffe-eau, cette perte maximale correspond donc à un maximum de 5°C dans le réseau (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013) (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b).

Il apparaît donc qu'une température de 55°C devrait être maintenue en retour de chaque boucle de recirculation. Plus encore, cette obligation devrait être exigée dans tous les grands bâtiments et non pas uniquement les constructions ou les agrandissements faits depuis 1983. La température à chaque boucle de recirculation devrait respecter la consigne de température en tout temps et être suivie et enregistrée en continu, c'est-à-dire en circulation telle qu'il est présenté à la section suivante.

4.3.1.5 Stagnation et circulation

La plupart des réglementations et directives spécifient qu'il est hautement important de minimiser les volumes d'eau stagnante et précisent des actions d'exploitation visant à mitiger l'impact de la stagnation.

L'Organisation mondiale de la Santé recommande qu'aucun volume stagnant ne soit supérieur à 3 litres dans un réseau d'eau chaude (World Health Organization (WHO), 2011). Les réglementations allemande et française précisent que le volume du réseau d'eau chaude entre le chauffe-eau et le point d'usage doit être minimisé et ne pas dépasser trois litres (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004; République Française, 2005a). Ceci correspond à spécifier des longueurs de raccordement entre la conduite de distribution sans recirculation, soit des conduites terminales ou des tubes finaux d'alimentation les plus courts possible (eg : 21,4 à 6 m pour des conduites de ½ et 1'' dia). Dans le cas de l'établissement de santé étudié, les conduites de raccordement au point d'utilisation étaient généralement d'un diamètre de ½'' alors que les colonnes secondaires d'alimentation variaient de 1½'' à ¾''. Comme la recirculation était

raccordée au niveau des colonnes, le volume sans recirculation était relativement faible sauf dans le cas du dernier étage sans conduite de recirculation.

Dans les hôpitaux du Royaume-Uni, il est suggéré de procéder à des rinçages hebdomadaires de tous les points à faible usage ou dans les zones à faible circulation (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). En France, le guide des bonnes pratiques recommande de maintenir une vitesse minimum de 0,2 m/s dans les conduites d'un REC (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012). De plus, si les températures de contrôle ne sont pas atteintes lors des constats de température, il est recommandé de procéder à un équilibrage hydraulique du réseau.

Au Québec, la réglementation de la Régie du bâtiment pour les nouveaux bâtiments et les agrandissements propose un calcul de perte thermique total en BTU correspondant à 5 degrés sur l'ensemble du réseau, ce qui est une bonne approche pour calculer la vitesse minimum de recirculation lors de la conception (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013) (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013b). Il est important de souligner que les bâtiments construits avant 2008 ne sont pas soumis à cette réglementation. Il n'y a pas d'obligations de pertes thermiques maximales admissibles pour les bâtiments existants.

Le règlement sur l'économie de l'énergie du Québec ainsi que le guide des bonnes pratiques permettent l'arrêt de la circulation la nuit (Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ) & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ), 2013a; Gouvernement du Québec, 1983). Une seule autre réglementation permet cet arrêt pendant une période prolongée, mais seulement en présence de preuves irréfutables de la stabilité hygiénique du réseau (DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water, 2004). Cette ouverture est de toute évidence justifiée par des considérations d'économies d'énergie, mais elle constitue un facteur de risque majeur pour le contrôle de la légionelle. Lorsque la principale barrière contre la prolifération de légionelle est le maintien de températures élevées dans l'ensemble du réseau, il est évident que l'arrêt régulier du régime pendant des périodes de temps prolongées représente un risque important. Dans le cas d'un système avec un traitement biocide visant à contrôler la prolifération de légionelle, il est possible, mais non probable qu'un arrêt de la recirculation n'ait pas un effet aussi important sur la prolifération de la légionelle. Toutefois, l'arrêt de la recirculation sera associé à une perte du résiduel de désinfectant qui sera consommé en fonction du temps de séjour, ce qui mènera à des

conditions favorables à la prolifération bactérienne, analogues à celles dans les entrées de service et les culs-de-sac des réseaux de distribution (Laurent, Besner, et al., 2005; Prévost, Rompré, Baribeau, Coallier, & Lafrance, 1997). L'arrêt de la recirculation provoque de facto une stagnation dans l'ensemble des conduites de distribution et de recirculation du réseau ce qui augmente de façon majeure le volume d'eau exposé à des températures propices à la prolifération de légionelle. Cette ouverture va l'encontre de toutes les recommandations visant à maintenir la température élevée comme première barrière contre légionelle. Les essais pilotes de pertes thermiques en stagnation effectués dans notre étude montrent clairement que la calorifugation n'est pas efficace en situation de stagnation et que des températures optimales à la croissance de légionelle seront présentes en moins 40 minutes. Afin d'éviter qu'il y ait quotidiennement des périodes favorisant la prolifération de légionelle, une bonne circulation devrait être assurée continuellement dans l'ensemble d'un réseau tout en évitant les bras morts.

4.3.1.6 Détection des légionelles

Les différentes réglementations diffèrent dans leurs exigences de suivi de dépistage et de routine de la légionelle, particulièrement dans les établissements de santé (Tableau s.1 à l'Annexe 5). En France, des mesures de *L. pneumophila* par culture sont exigées annuellement dans les établissements de soin de santé à divers points : sortie de chauffe-eau et réservoirs, points d'usage à risque les plus représentatifs du réseau ainsi que les points les plus éloignés et retour de la boucle principale de recirculation. Au Royaume-Uni, il n'est pas obligatoire de procéder à des analyses de *Legionella* lorsque le réseau est considéré comme bien géré et répond aux exigences du plan de contrôle de risques. Il est toutefois recommandé de procéder à des analyses par culture s'il y a un doute sur l'efficacité du plan de contrôle ou si des températures non conformes ont été mesurées (Health and Safety Executive (HSE), 2013b). Au Québec, il n'existe aucune exigence de mesure de *Legionella* dans les réseaux d'eau chaude des grands bâtiments.

Les obligations de suivi environnemental de *Legionella* ou de *L. pneumophila* sont modulées en fonction du type d'établissement, des conditions prévalant dans le réseau et des exigences du plan de contrôle de légionelle (Water Safety Plan). Pourtant, la plupart des recommandations et réglementations fixent des valeurs seuils de *Legionella* ou de *L. pneumophila* dans les établissements de santé et dans tous les cas, des mesures par culture sont recommandées.

Quoique la culture soit recommandée pour l'évaluation du risque aux patients et aux usagers, nos résultats suggèrent que la qPCR est un outil intéressant pour un diagnostic de réseau, car il permet d'établir l'abondance relative *L. pneumophila* dans le réseau. Plus encore, la relative simplicité et la rapidité de réponse du qPCR sont bien adaptées à la détection de l'abondance dans différents secteurs du réseau. Dans notre cas, la mesure de qPCR a été très utile pour comparer la contamination aux sites distaux (aux points de consommation) et la contamination systémique (réseau principal de distribution et de recirculation et chauffe-eau). De plus, le qPCR permet de détecter la présence de bactéries viables et non cultivables qui sont la forme la plus abondante présente dans les gammes de température de 45°C à 60°C et il est maintenant établi que la culture sous-estime l'abondance de *L. pneumophila* environnementale dans ces conditions (Allegra et al., 2011; Mansi et al., 2014). La mesure par qPCR pourrait aussi être considérée comme une méthode de repérage des zones à risque. Dans le cas de détection positive par PCR, l'utilisation complémentaire d'une méthode par culture serait toutefois souhaitable pour procéder à l'isolation de la souche et à l'étude de la concordance avec des souches isolées de cas nosocomial.

4.3.1.7 Plan de gestion du risque

Plusieurs recommandations et réglementations exigent de compléter sous différentes formes des analyses de risque et de mettre en place un plan de gestion du risque de légionelle (Tableau s.1 à l'Annexe 5). Par exemple, le Health and Safety Executive propose un plan complet de gestion du risque pour les réseaux d'eau chaude et d'eau froide sanitaire (Water Safety Plan) pour les grands bâtiments et spécifie une liste de paramètres à vérification routinière (hebdomadaire, mensuelle et annuelle). Une telle approche apparaît souhaitable dans tous les bâtiments et est indispensable dans les établissements de soin de santé pour prévenir la prolifération de *Legionella*.

4.3.2 Définition d'une approche de diagnostic et de contrôle de la prolifération de *Legionella*

Le retour d'expérience en milieu hospitalier, la comparaison de différents guides et l'étude de la portée de la réglementation québécoise permettent de recommander les éléments souhaitables d'une approche pour effectuer un diagnostic de vulnérabilité d'un réseau et maîtriser le risque de prolifération de *Legionella* dans les grands bâtiments, particulièrement ceux desservant une clientèle vulnérable comme les centres hospitaliers et de soins de longue durée (CHSLD).

En ordre d'importance, les recommandations pour minimiser le risque de contamination par *L. pneumophila* sont :

Méthode diagnostic

- 1- Établir un groupe de travail responsable du plan de contrôle du risque légionelle, préciser ses responsabilités et assurer l'autorité et le budget nécessaires pour mener le diagnostic. L'équipe devrait comprendre des gestionnaires, ingénieurs, plombier, et représentants du contrôle des infections et des soins infirmiers. Il est possible que de l'expertise externe soit requise pour procéder au diagnostic, mais même dans ce cas l'implication active du personnel technique et médical est requise.
- 2- Compléter un audit hydraulique :
 - Schématiser le ou les réseaux (identification du/des chauffe-eau, des réservoirs, des réseaux d'eau chaude sanitaire distincts, de l'architecture hydraulique, du positionnement de la boucle de recirculation, des secteurs avec patients sensibles, etc.) à partir de plans tels que construits et des informations du personnel technique.
 - Compiler les plaintes pour des problèmes de plomberie et de température, les données historiques de températures et débits à la sortie des chauffe-eau et aux retours de boucle ainsi que les lieux suspectés responsables d'infection nosocomiale de *Legionella*.
 - Mesurer en continu les températures et les débits aux chauffe-eau et aux retours de chaque boucle. Déterminer l'état de calorifugeage des conduites et chauffe-eau. Il est possible qu'il soit nécessaire pour cette étape de procéder à l'installation d'instruments de mesure avec enregistrement de données. Ce type d'équipement est maintenant disponible à relativement faible coût et très facile à installer.
 - Établir les profils de température et hydrauliques. La mesure de profils de température aux points d'usage est peu invasive et simple. Elle ne requiert que du personnel et des sondes de température peu coûteuses. Il est aussi souhaitable de mesurer les débits soit volumétriquement ou à l'aide d'une sonde qui facilite la capture et le traitement des données. Minimale, les profils doivent être réalisés à tous les points de consommation éloignés (de chaque boucle ou chaque colonne verticale) et aux points représentatifs des

secteurs avec patients sensibles. L'utilisation de sondes à température de type multimètre à la surface des conduites pour évaluer la température peut aussi s'avérer utile.

- Interpréter les données de températures et établir le niveau de risque par réseau et par secteur en appliquant la méthode de classement proposée, et identifier les zones les plus à risque.
- 3- Réunir l'équipe de contrôle du risque légionelle pour choisir les points d'échantillonnage permettant de vérifier la présence de *Legionella* en fonction de la température, de la vulnérabilité de la clientèle desservie et de l'historique de détection ou de suspicions de présence de légionelle (cas déclarés). Effectuer une campagne d'analyses microbiologiques (qPCR) et physico-chimiques (Cl₂ résiduel et température) aux sites suivants : fond du ballon des chauffe-eau, retours de boucles, sites à risque en raison des conditions de température et de la présence de clientèle vulnérable.
 - 4- Proposer un plan d'action à court terme pour corriger les conditions de distribution de température, particulièrement l'efficacité de la recirculation et l'élimination des bras morts et zones de stagnation. Il est possible que le diagnostic révèle des problèmes nécessitant des investissements importants au niveau de la chaufferie, du calorifugeage voir même de l'architecture hydraulique. L'équilibrage hydraulique du réseau, par exemple selon la démarche proposée par la CSTB, devrait être effectué pour assurer la bonne distribution des températures durant les régimes de fonctionnement normal de l'établissement (Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 2012).
 - 5- Proposer au besoin un plan de confirmation des sites positifs par PCR par analyse par culture et considérer implanter des correctifs de prévention à court terme dans les secteurs desservant des patients vulnérables et des risques d'exposition à des aérosols.
 - 6- Vérifier l'efficacité des mesures de correction après les changements au réseau par des mesures de température et des profils de température (au minimum à tous les points non conformes) et considérer répéter les mesures par PCR aux points ayant présenté des valeurs indicatrices d'une abondance significative par exemple >500GU/mL.

Mise en place d'un plan de gestion du risque légionelle

- 1- Établir un plan de gestion du risque légionelle du type 'Water Safety Plan'. Ce plan doit être élaboré par le comité de contrôle du risque légionelle présidé par une personne détenant des responsabilités opérationnelles. Ce plan devra être périodiquement revu et systématiquement mis à jour après une modification significative du réseau. Ce plan devra couvrir différentes situations telles que : la mise en route et remise en route après arrêt prolongé du réseau, l'exploitation normale du réseau, et les plans de traitement correctifs en cas de non-conformité.
- 2- Le plan de gestion de risque légionelle devrait au minimum comprendre :
 - l'identification des secteurs desservant des clientèles à risque ou présentant des potentiels élevés de formation d'aérosols.
 - la caractérisation hydraulique du réseau de l'entrée d'eau jusqu'aux points d'utilisation.
 - un plan d'équilibrage, d'inspection et d'entretien mécanique permettant d'assurer le bon fonctionnement de la chaufferie de la distribution et de la recirculation. Il est important de procéder à l'inspection routinière prévue par le plan, c'est-à-dire des chauffe-eau, réservoirs de stockage, conduite de distribution, retour de boucle et entretien des pompes.
 - la définition des températures seuils aux points critiques de contrôle du réseau et la mise en place d'un plan de surveillance des températures contenant des actions correctrices à prendre en cas de non-conformité.
 - un plan de rinçage, d'entretien et de nettoyage préventif des pommeaux de douche et des robinets, particulièrement les robinets électroniques thermostatés, en ciblant dans les zones de faible utilisation et de clientèle vulnérable.
 - un plan de rinçage préventif aux points de faible utilisation ou à haut risque (présence de robinet à vanne thermostatée, températures suboptimales)
 - une stratégie de contrôle de la qualité de l'eau (entartrage, corrosion, etc.) et si un régime thermique efficace ne peut être maintenu, un plan de désinfection (ajout de biocides).
 - un plan d'échantillonnage de suivi annuel de *L. pneumophila* aux points critiques du réseau assorti de seuils d'intervention.

- un plan d'actions curatives dans le cas de non-conformité aux températures de contrôle ou de contamination suspectée ou confirmée par légionelle comprenant une surveillance rapprochée après décontamination.
 - un plan d'action d'investigation de la source environnementale de contamination dans le réseau dans le cas de cas cliniques suspectés ou démontrés.
 - les obligations de tenue de registre d'informations relatives au plan de gestion du risque légionelle incluant toutes les informations sur les systèmes, leur opération et les suivis de qualité.
 - un plan de communication au personnel.
- 3- Le maintien d'un régime thermique est la principale et première barrière à mettre en place pour contrôler le risque légionelle. La hausse de température dans l'ensemble du réseau à plus de 55°C et le maintien de ces températures aux points d'usage nécessite la prise en compte des risques de brûlures qui sont aussi règlementés. Compte tenu de l'importance de la susceptibilité des robinets électroniques, il est recommandé de procéder à une analyse de risque considérant les risques de brûlures avant d'installer des robinets électroniques thermostatés. Il est aussi recommandé de sélectionner des robinets ayant des spécifications minimisant le potentiel de prolifération de légionelle et d'autres pathogènes comme *Pseudomonas aeruginosa* (surfaces internes lisses, dispositif simple sans crevasses, possibilité d'être retiré et désinfecté ou autoclavé, absence d'un aérateur ou aérateur simple et facile à nettoyer) (Health and Safety Executive (HSE), 2013b; Moore, G. & Walker, 2014; Sydnor et al., 2012; Walker et al., 2014). De plus, afin diminuer le risque accru associé à l'utilisation de robinets thermostatés, il peut être nécessaire d'inclure des rinçages hebdomadaires ainsi que pour les points de consommation utilisés peu fréquemment.

Cette démarche complète, visant la prévention de *Legionella* dans les grands bâtiments de soins de santé, comporte des coûts qui pourraient être importants. Deux grands types de coûts sont à considérer : des coûts associés aux travaux correctifs aux systèmes et des coûts récurrents associés à l'exploitation optimisée et au suivi des réseaux. Certains de ces coûts sont imposés par la nouvelle réglementation, comme le décret de la RQB sur la température minimale en sortie de chauffe-eau et l'obligation d'installation de robinets thermostatés (Gouvernement du Québec, 2012).

L'implantation de multiples robinets pose un évident risque accru de légionellose qu'il est

impératif de gérer, car cette installation pourrait augmenter le risque dans les grands bâtiments, particulièrement dans les institutions québécoises desservant des clientèles vulnérables. En raison de cette nouvelle réglementation, il est urgent de mieux gérer le risque légionelle dans l'ensemble du réseau.

Dans le cas des coûts relatifs à l'exploitation du système découlant de la nouvelle réglementation, ils ne sont obligatoires que dans les nouveaux bâtiments ou pour les agrandissements. Toutefois, l'expérience et la réglementation internationale récentes montrent le bien-fondé et la nécessité d'agir même en absence de cadre réglementaire dans le cas des institutions desservant des clientèles vulnérables, comme les hôpitaux et les CHSLD.

Il serait intéressant de réaliser une étude économique afin de documenter les coûts des cas de légionellose attribuables aux réseaux d'eau chaude sanitaire au Québec. Toutefois, les estimations de prévalence de légionellose nosocomiale disponibles actuellement au Québec ont été remises en question, et il est communément admis que l'incidence est actuellement sous-estimée en raison d'un dépistage insuffisant. La revue de l'expérience internationale révèle clairement qu'un dépistage plus efficace révèle un plus grand nombre de cas nosocomiaux, la plus grande mortalité des cas nosocomiaux, et que l'importance du problème est suffisante pour justifier l'émission de directives et de règlements exigeants. De plus, l'expérience récente montre aussi que la mise en place de mesures de contrôle contre légionelle peut aussi diminuer les risques associés à d'autres pathogènes transmis par l'eau, comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycobacterium avium* en milieu hospitalier. De surcroît, avec le vieillissement de la population et les avancées médicales, la proportion de population vulnérable croît dans la société nord-américaine, ce qui accroît encore plus l'intérêt d'actions préventives pour l'ensemble de la population.

Force est de constater que la réglementation actuellement en place visant ou touchant spécifiquement le contrôle de la légionelle dans les réseaux d'eau chaude est partielle et que certains aspects du cadre réglementaire québécois pourraient mener à une augmentation du risque de légionellose, particulièrement dans les hôpitaux existants. Deux éléments manquent de façon évidente au cadre réglementaire actuel et sont des facteurs de risques démontrés :

- l'absence d'obligation de maintenir une température de 55°C en tout point des réseaux existants. Cette absence est aggravée par l'ouverture à l'arrêt de la recirculation même dans le cas de réseaux devant obligatoirement maintenir ces températures;

- le manque de directives techniques pour le choix des robinets thermostatés pour éviter l'installation de dispositifs hautement susceptibles à la contamination. La grande susceptibilité de certains types de robinets et de pratiques de connexion à la contamination est bien documentée et a mené à des éclosions documentées en milieu hospitalier.

Finalement, les objectifs d'économie d'énergie stimulent le développement de divers dispositifs de récupération d'énergie, la plupart visant le préchauffage de l'eau froide. Dans le cas de la récupération d'énergie dans l'eau d'appoint en amont d'un chauffe-eau, les obligations de maintien de températures minimales devraient prévaloir s'il y a stockage des eaux préchauffées. Certaines applications telles que le préchauffage de l'eau froide en amont des points d'utilisation (ex : douches) sont à proscrire en raison des risques évidents d'augmentation du risque de croissance de légionelle dans les sections d'eau froide dont la température est augmentée. D'ailleurs, les réglementations européennes sont très strictes au niveau des réseaux d'eau froide et prescrivent des températures maximales dans l'eau froide. La mise en place de dispositifs de récupération d'énergie devrait toujours être accompagnée d'une analyse de risque légionelle et devrait être autorisée qu'avec la démonstration de son innocuité.

CHAPITRE 5 TOURS DE REFROIDISSEMENT

5.1 Mise en contexte

À la suite de l'épidémie de légionellose à la Ville de Québec en 2012, la Chaire Industrielle CRSNG en Eau Potable a établi des liens de collaboration avec l'équipe de Société Immobilière du Québec, maintenant devenue la Société Québécoise des Infrastructures (SQI). Dans ce contexte, des questions urgentes sur l'efficacité des protocoles d'entretien et de désinfection des TAR exploitées par cette institution ont été soulevées. Pour répondre à ces questions, un partenariat a été établi pour effectuer des études ciblées sur trois sites (5 TAR), sur l'efficacité des désinfectants et l'impact de différents plans de suivi, d'entretien et d'exploitation des TAR. Ce partenariat a été possible grâce à la participation de M. Philippe Cantin du Laboratoire d'Expertise en Analyses Environnementales du Québec (CEAEQ) qui était responsable des suivis de *Legionella* et de *L. pneumophila* par culture et PCR dans ces installations. Les résultats présentés dans ce chapitre résultent donc de cette collaboration.

5.2 Stratégies de traitement des TAR

Le choix des TAR étudiées est justifié à la section 3.2.2.1 du Matériel et Méthodes

5.2.1 Procédure de mise en route

Les procédures de mise en route des TAR après hibernation comprenaient toutes une étape préliminaire de nettoyage physique du bassin de la tour, du média de ruissellement et des pare-gouttelettes au jet d'eau à pression et de la vidange de cette eau de nettoyage. Certains réseaux nettoient individuellement chaque tube du condenseur durant la période d'hivernation de manière annuelle. D'autres ne procèdent pas à cet entretien prescrit par le fabricant.

Par la suite, toutes les tours complètent le volume d'eau manquant (tous les réseaux vidangent un petit volume d'eau à l'automne pour éviter que l'eau près du toit ne gèle). Les pompes de circulation sont alors mises en fonction sans l'usage du ventilateur.

Pour les réseaux du site 1, un traitement-choc au chlore (CSW20) a été effectué dès le démarrage suivi par l'application du traitement préventif.

Au réseau du site 2, un renouvellement de l'eau suffisant pour atteindre une conductivité hydraulique de 800 à 1000 μS a été effectué.

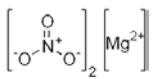
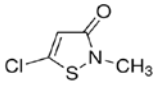
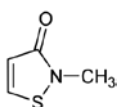
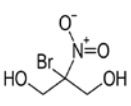
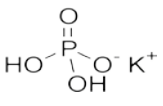
Après la mise en eau décrite précédemment, les réseaux du site 3 n'ont subi aucun traitement et sont restés stagnants jusqu'à l'utilisation des TAR.

5.2.2 Traitement préventif de routine

5.2.2.1 Injection bihebdomadaire de produits chimiques

Les sites 1 et 3 emploient la même stratégie de traitement préventif comprenant le dosage bihebdomadaire de produits chimiques (mélange de biocides non oxydant) et de l'ajout d'un inhibiteur de corrosion à chaque ajout d'eau d'appoint. Les produits chimiques utilisés dans l'entretien régulier des TAR sont présentés au tableau 5.1

Tableau 5.1 Produits chimiques utilisés dans l'entretien des TAR

Produit	Fonction	Formule chimique	Molécule	Concentration du produit	Dosage typique	Toxicité humaine/ Environnementale
Biosperse 250	Biocide non-oxydant	MgN ₂ O ₆		Théorique : 1,5 à 5 %		Faible/Faible
		5-chloro-2-methyl-4-isothiazoline-3-one (CMI)		Théorique : 1,5 à 5 % Mesurée 06-03-2014 : 13 006 mg/L	1/2000 CMI ≈ 6,5 mg/L	Faible/Élevée
		2-methyl-4-isothiazoline-3-one (MI)		Théorique : 1,5 à 5 % Mesuré (06-03-2014) : 3 885 mg/L	1/2000 MI ≈ 1,9 mg/L	Élevée/Élevée
Biosperse 295	Biocide non oxydant	C ₃ H ₆ BrNO ₄ (Bromopol)		Théorique : 10 à 15 % Mesuré (27-03-2014) : 96 107 mg/L	1/2000 48 mg/L	Faible/Faible
Enviroplus 2503	Inhibiteur de corrosion	K ₃ PO ₄		Théorique : 1,5 à 5 %	2 mg/L avec eau d'appoint	Faible

5.2.2.2 Champ électromagnétique

Le réseau du site n° 2 est équipé d'un système *Pulse~Pure*TM traitant de manière continue l'eau par un champ électromagnétique. Selon le manufacturier, le champ électromagnétique favorise la formation de noyaux cristallins de carbonate de calcium à un pH basique. Le contrôle de la croissance des microorganismes serait le résultat de deux mécanismes physiques : l'agglomération des bactéries et les petites particules dans une matrice) et l'électroporation, qui consiste à modifier

les propriétés des membranes cellulaires bactériennes soumises à un champ électrique. Le fournisseur de ce système garantit un compte total de bactéries cultivables inférieur à 10^4 UFC/mL.

Les mécanismes réels en cause ne sont pas scientifiquement démontrés, mais de nombreux dispositifs commerciaux de ce type sont en utilisation pour minimiser les impacts de la dureté élevée dans les chauffe-eau et bouilloires. Dans ces cas, la prévention de l'entartrage est associée à la formation de cristaux de faible adhérence qui ne forme pas de dépôt calcaire.

Le système est présenté à la figure 5-1.



Figure 5-1 Système à champs électromagnétiques *Pulse~Pure*TM

5.2.2.3 Point de consigne sur la conductivité

L'ajout d'eau d'appoint dans les TAR est nécessaire pour remplacer l'eau évaporée et est déclenché par un contrôle du niveau dans le bassin des tours. De plus, tous les gestionnaires de tours des trois sites suivis appliquent un point de consigne de la conductivité entre 800 et 1000 μ S pour assurer une certaine qualité physico-chimique de l'eau. Un dépassement mesuré par la sonde déclenche automatiquement une vidange d'une partie de l'eau du réseau et l'ajout d'eau d'appoint.

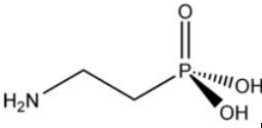
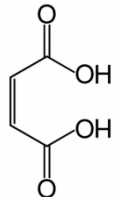
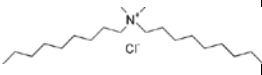
5.2.3 Traitement curatif

5.2.3.1 Traitement chimique choc

Les traitements-chocs curatifs pour remédier à de proliférations de flore bactérienne sont réalisés au moyen de chlore avec un dosage appliqué jusqu'à 50 mg/L et est parfois maintenu durant

plusieurs heures. D'autres produits peuvent être appliqués pour corriger un problème d'entartrage ou pour déloger les dépôts et le biofilm. Les détails des produits sont présentés au tableau 5.2.

Tableau 5.2 Produits chimiques utilisés pour le traitement curatif des TAR

Produit	Fonction	Formule chimique	Molécule	Concentration théorique (m/v) du produit	Dosage typique
MillsperseTM 8440	Agent de détartrage	NaCl	$[\text{Na}]^+ [\text{:}\ddot{\text{Cl}}:]^-$	5 à 10 %	n.a.
		H ₃ NPO ₃ Acide phosphonique		1,5 à 5 %	> 7,5 mg/L
		C ₄ H ₄ O ₄ Acide maléique contrôle du pH		1 à 1,5 %	> 5 mg/L
DrewspersTM 7130	Déflocculant	C ₂₂ H ₄₈ ClN		20 à 30 %	≈ 100 mg/L
CSW20	Biocide oxydant	NaOCl Hypochlorite de sodium		10 à 15 %	≈ 50 mg/L

5.2.3.2 Vidange de l'eau du réseau

Certains gestionnaires choisissaient de vidanger entièrement l'eau du réseau pour la remplacer par de l'eau d'appoint avant de retour au traitement préventif habituel, en cas d'une dérive en concentration de *Legionella* de l'eau d'une TAR ou d'une diminution importante de la qualité de l'eau

5.3 Résultats physico-chimiques

Cinq TAR sur trois différents sites ont été suivies tous les jours pendant quatre semaines régulières de traitement préventif. Ces systèmes ont aussi été suivis avant et après des traitements correctifs.

Le nombre d'échantillons, la moyenne et la plage des différents paramètres physico-chimiques et microbiologiques suivis pour chacune des TAR sont présentés au tableau 5.3.

Tableau 5.3 Paramètres physico-chimiques et microbiologiques

		Site 1		Site 2	Site 3	
Paramètre	Unités	Tour #1	Tour #2	Moyenne (n; min-max)	Tour #1 et 2	Tour #3
		Moyenne (n; min-max)	Moyenne (n; min-max)		Moyenne (n; min-max)	Moyenne (n; min-max)
pH		8.8 (37; 8,3 - 9,0)	8.9 (53; 8,2 - 9,1)	8.8 (25; 8,6 - 9,0)	8.8 (34; 8,5 - 9,0)	8.6 (14; 7,7 - 9,0)
Turbidité	UTN	2.2 (25; 0,6 - 11,8)	1.9 (31; 0,8 - 6,1)	0.4 (15; 0,3 - 0,5)	2.9 (21; 1,2 - 6,2)	9.6 (13; 0,8 - 76,9)
Conductivité	µS	874 (38; 523 - 963)	896 (54; 406 - 1530)	737 (25; 500 - 827)	725 (34; 417 - 1189)	824 (14; 648 - 1375)
Température de l'échantillon	°C	25.6 (32; 18,0 - 30,1)	26.7 (32; 16,5 - 31,0)	25.2 (24; 21,9 - 26,8)	24.7 (33; 19,5 - 31,4)	24.2 (13; 17,7 - 34,8)
Température du condenseur	°C	27.2 (18; 17,1 - 35,5)	29.3 (18; 21,4 - 36,1)	28.0 (15; 26,2 - 29,5)	25.8 (21; 22,8 - 30,6)	25.1 (13; 22,7 - 30,6)
Demi-vie/ taux de renouvellement eau	jour ou %	3.20 (51; 0,60 - 42,00)	3.25 (49; 0,28 - 42,00)	94.7 % (19; 13,9% - 152,8%)	3.02 (20; 0,11 - 16,07)	0.08 (11; 0,05 - 0,12)
BHA	ufc mL ⁻¹	5.3E+05 (24; <1 - 1.7E+06)	6.6E+05 (41; 2.5E+00 - 2.5E+06)	3.4E+05 (15; 6.4E+02 - 1.5E+06)	1.0E+06 (23; <1 - 2.6E+06)	8.6E+05 (8; 3.2E+04 - 3.3E+06)
Bactéries viables	bact. mL ⁻¹	2.4E+06 (20; 2.0E+05 - 4.9E+06)	2.0E+06 (39; 9.6E+03 - 5.8E+06)	2.8E+06 (15; 2.1E+05 - 2.4E+07)	2.8E+06 (23; 6.8E+04 - 9.5E+06)	5.4E+06 (8; 6.6E+05 - 1.9E+07)
Bactéries totales	bact. mL ⁻¹	4.4E+06 (20; 3.2E+05 - 8.3E+06)	3.8E+06 (39; 8.5E+04 - 1.0E+07)	6.0E+06 (15; 5.8E+05 - 4.8E+07)	6.3E+06 (23; 1.7E+05 - 1.8E+07)	8.0E+06 (8; 1.4E+06 - 2.6E+07)

Il est intéressant de constater que le pH d'opération est similaire d'un réseau à l'autre. Toutes les TAR présentent des concentrations élevées et étonnamment comparables de bactéries, que ce soit des bactéries hétérotrophes cultivables (BHA) ou des bactéries totales ou viables par microscopie à épifluorescence. Bien que tous les réseaux aient des points de consigne sur la conductivité, on note une certaine variation des valeurs. Il semble difficile à maintenir les valeurs cibles dans certaines tours et des valeurs de conductivité supérieures à 1000 μS ont été mesurées. Les températures mesurées dans les réseaux varient beaucoup en fonction des besoins d'échange thermique et des modes d'opérations. Toutefois, il est intéressant de noter que les températures des réseaux se situent souvent dans la plage optimale de température de prolifération de la légionelle. Le taux de renouvellement de l'eau varie aussi beaucoup. Il peut atteindre jusqu'à 1,5 renouvellement du volume d'eau du réseau par jour en situation de grande chaleur ou inversement, très peu de renouvellement est nécessaire si le réseau est peu ou pas utilisé dans une journée.

L'étude des paramètres physico-chimiques pour chaque TAR au cours de la saison présente une tendance d'augmentation du pH au cours de l'été. La tendance n'est pas aussi claire pour la conductivité qui semble généralement à la hausse bien qu'ajustée en fonction un point de consigne. Il est possible que l'augmentation de la température et donc de l'évaporation concentre les

minéraux dans l'eau ce qui expliquerait l'augmentation du pH et de la conductivité. Inversement, certaines TAR ont présenté une diminution de la turbidité.

5.4 Résultats microbiologiques des suivis

Une grande proportion des résultats des concentrations de *L. pneumophila* mesurées sont sous la limite de détection. Dans ce cas, la racine carrée de la limite de détection a été retenue et intégrée aux figures.

5.4.1 Résultats au Site 1

Le premier site comprend deux réseaux parallèles identiques traités préventivement par injection bihebdomadaire de produits chimiques. Le réseau n°1, mis en service deux semaines après le réseau n°2, a subi la procédure de démarrage décrite à la section 5.1.1. L'ensemble des résultats microbiologiques est rapporté à la figure 5-2 où les seuils d'action de la RBQ sont identifiés par des lignes horizontales jaune et orange et les recommandations de concentration de BHA en bleu.

On y montre que la circulation de l'eau dans le réseau n°1 lors de sa mise en route augmente la quantité de bactéries cultivables, et ce malgré une dilution initiale en raison de l'ajout d'eau d'appoint. La procédure de mise en route comprenait un nettoyage à l'eau avec biodispersant de la tour. Ensuite, l'ajout d'eau d'appoint pour compléter le volume manquant et l'application des agents de détartrage et biodispersant. Finalement, une désinfection-choc a été effectuée par l'ajout de l'hypochlorite de sodium (CSW20) tel que prescrit dans la procédure de démarrage de l'établissement. On note une augmentation marquée des BHA et la détection du seul échantillon positif pour *L. pneumophila* mesuré par qPCR. Cette augmentation pourrait avoir été causée par un décrochage massif du biofilm, y compris de *L. pneumophila* suite à l'application de la dose de démarrage d'hypochlorite de sodium. Il est probable qu'une vidange complète aurait permis de limiter l'impact de cette remise en suspension du biofilm.

Suite au démarrage, on peut observer l'évolution des bactéries totales, viables et cultivables en fonction des différentes interventions d'exploitation. Rappelons que le traitement régulier consiste en une injection bihebdomadaire de combinaison de biocides non oxydants (mardi) et de biocide non oxydant (jeudi). On remarque une certaine stabilité des concentrations de BHA, bactéries viables et totales et le maintien de la concentration de *L. pneumophila* sous la limite de détection.

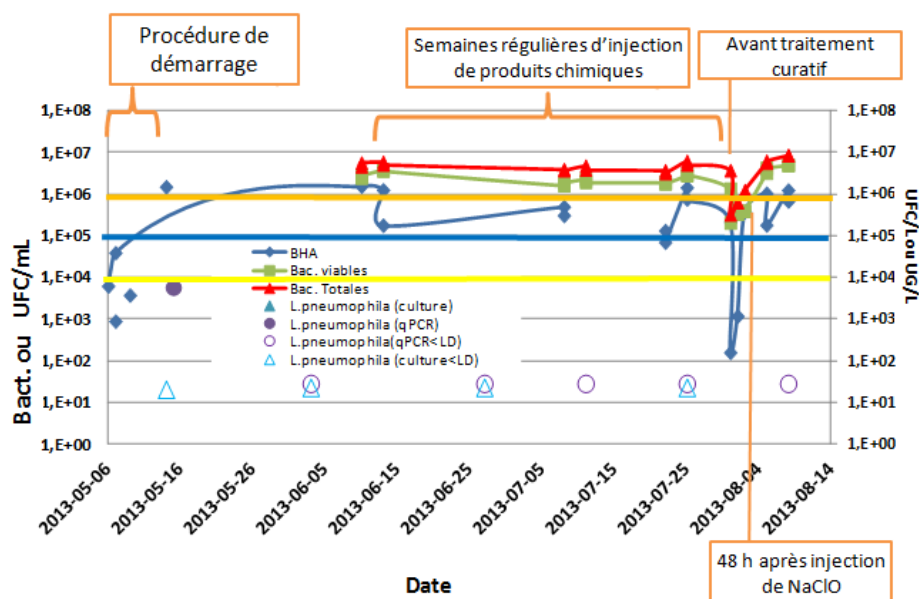


Figure 5-2 Résultats du suivi microbiologique du réseau no 1 du site 1 en fonction de la date et des interventions d'exploitation

À la fin du mois de juillet, la présence visible d'algues dans le bassin de la tour a nécessité l'application d'un traitement curatif, soit trois ajouts de volumes fixes d'hypochlorite de sodium (CSW20) à intervalles d'environ 30 minutes pour un total de 6L. Après 1 heure de temps de contact (10h00), des concentrations résiduelles de 3,5 mg/L de Cl₂ libre et de 4,3 mg/L Cl₂ de combiné ont été mesurées. Ensuite, 5,5 L additionnels d'hypochlorite de sodium ont été ajoutés. La dose totale appliquée a alors atteint environ 57 mg/L de Cl₂. Le lendemain (08h15) des concentrations résiduelles de 0,05 de Cl₂ libre et de 0,32 mg/L de Cl₂ combiné ont été mesurées.

Le réseau n°2 a été mis en service rapidement en raison de la demande de refroidissement. Un biodispersant (DrewspersTM 7130) et un détartrant (MillspersTM 8440) ont été ajoutés au réseau, puis après circulation un traitement-choc à l'hypochlorite de sodium (CSW20) a été effectué. Dès le lendemain, les ventilateurs ont été démarrés. L'ensemble des résultats microbiologiques est rapporté à la figure 5-3 où les seuils d'action de la RBQ sont identifiés par des lignes horizontales jaune et orange et les recommandations de concentrations de BHA en bleu. On note à nouveau que la mise en circulation de l'eau dans le réseau augmente la quantité de bactéries cultivables, et ce malgré la dilution initiale causée par l'ajout d'eau d'appoint. L'augmentation observée pourrait avoir été causée par un décrochage massif du biofilm suite à l'application en séquence d'un biodispersant de la dose-choc de démarrage d'hypochlorites (40 mg/L).

Suite au démarrage du réseau n°1, un traitement curatif a été réalisé dans le réseau n°2 le 5 juin afin de compléter la mise en route rapide en début de saison et de diminuer les concentrations élevées de BHA. Tout d'abord, un nettoyage physique de la tour a été effectué. La procédure consistait ensuite en l'ajout de produits biodispersants (DrewspersTM 7130) et antitartre (MillspersTM 8440) suivi d'une recirculation, et d'un traitement-choc avec de l'hypochlorite de sodium (CSW20) à 40 mg/L de Cl₂ appliqués dans le bassin. Une heure après l'injection d'hypochlorite de sodium (08h05), des concentrations résiduelles de 15,0 mg/L de Cl₂ libre et 28,9 mg/L de Cl₂ total ont été mesurées en amont du condenseur. Après circulation toute la nuit, le 7 juin au matin (07h14), une concentration de Cl₂ totale de 4,4 mg/L de Cl₂ a été mesurée (Cl₂ libre <LD). Ensuite, les ventilateurs ont été démarrés. Après 72 heures suivant l'injection (08h32), les mesures de Cl₂ résiduel libre et total étaient sous la limite de détection.

À la fin du mois de juillet, la présence visible d'algues dans le bassin de la tour a nécessité l'application d'un traitement curatif avec deux ajouts de volumes fixes d'hypochlorite de sodium (CSW20) à intervalles d'environ 30 minutes pour un total de 4L. Après 1 heure de temps de contact (10h00), un résiduel de 6,4 mg/L de Cl₂ libre et de 6,8 mg/L de Cl₂ total ont été mesurés. Ensuite, 2,5 L additionnels ont ensuite été ajoutés. La dose totale appliquée a atteint environ 30 mg/L de Cl₂. Le lendemain (08h15), un résiduel de 0,04 de Cl₂ libre et de 0,35 mg/L en Cl₂ combiné ont été mesurés.

La figure 5-3 montre aussi l'évolution des bactéries totales, viables et cultivables en fonction des traitements préventifs par ajout bihebdomadaire de biocides non oxydants. On remarque une certaine stabilité des concentrations de BHA, bactéries viables et totales et le maintien de la concentration de *L. pneumophila* sous la limite de détection sauf le 25 juillet. Mis à part cet événement, aucune autre concentration positive en *L. pneumophila* n'a été observée et rien n'a été changé au traitement préventif. La présence de *L. pneumophila* a aussi été observée par qPCR dans les sédiments prélevés du tamis le 29 juillet 2013.

Il est intéressant de noter l'absence de *L. pneumophila* dans ces réseaux malgré la présence de concentrations élevées de bactéries totales, viables et cultivables (BHA). Les observations sur le site ont révélé que l'équipe d'exploitation avait mis en place un excellent programme proactif consistant à : (1) alterner la priorité d'utilisation des réseaux chaque semaine dans le but d'éviter un arrêt prolongé et d'assurer une meilleure gestion de l'utilisation des équipements (pompes,

condenseurs, etc.); (2) suivre les dosages des réactifs et le bon fonctionnement des équipements (sondes, etc.) ; (3) effectuer une recirculation forcée durant les périodes d'arrêt à raison d'environ 6 heures par jour permettant de minimiser la stagnation. Il est tout aussi intéressant de noter que lorsque le programme n'a pas été appliqué avec la même séquence au cours du mois de septembre, un échantillon positif très élevé (110 000 GU/L) pour *L. pneumophila* a été détecté par qPCR. Une désinfection-choc à l'hypochlorite de sodium, le remplacement du filtre/tamis et la reprise de ces bonnes pratiques ont mené au retour aux résultats sous le seuil de détection par qPCR. Ces observations suggèrent fortement que le maintien de la recirculation et que le suivi proactif des dosages permet de minimiser le risque de présence de *L. pneumophila* dans ce système.

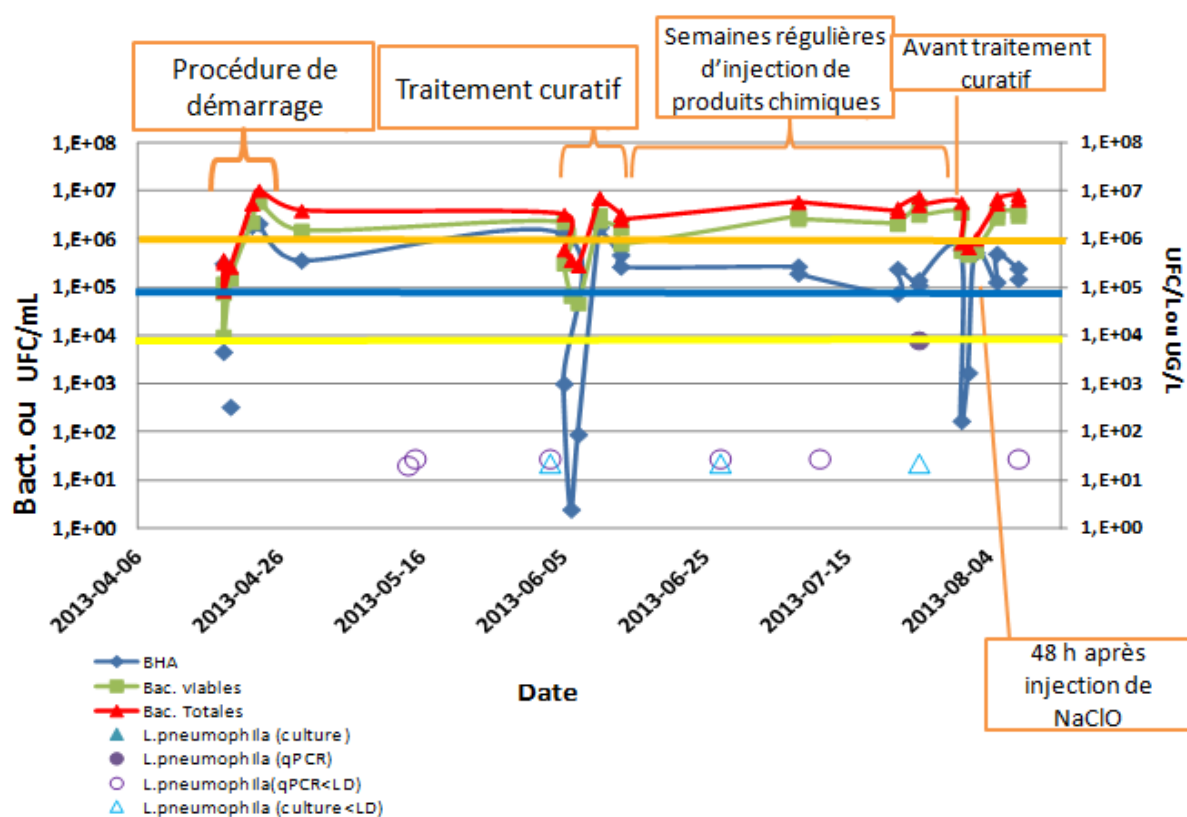


Figure 5-3 Résultats du suivi microbiologique du réseau 2 du site 1 en fonction de la date et de l'exploitation

5.4.2 Résultats au Site 2

Le site 2, traité préventivement par un champ électromagnétique sans ajout de produits chimiques, se distingue par la présence soutenue de *L. pneumophila* par culture ou qPCR dès le démarrage. L'ensemble des résultats microbiologiques est rapporté à la figure 5-4 où les seuils d'action de la RBQ sont identifiés par des lignes horizontales jaune et orange et les recommandations de concentrations de BHA en bleu.

Après le démarrage du réseau et en raison de la présence confirmée de *L. pneumophila*, les exploitants ont alors effectué un nettoyage physique de la tour au jet pression avec du savon et une vidange partielle du réseau le 27 mai. Après un échantillonnage de confirmation positif pour *L. pneumophila* en qPCR et en culture, le réseau a été complètement vidangé le 7 juin et un échantillonnage additionnel effectué le 11 juin s'est avéré positif. Le nettoyage du réseau semble avoir diminué quelque peu la concentration cultivable de *L. pneumophila*, alors que cette deuxième vidange a résulté en une diminution marquée des bactéries cultivables (BHA et de *L. pneumophila*) ainsi qu'une diminution de 57 % de *L. pneumophila* par qPCR. Par contre, il est intéressant de constater que, même si les concentrations de *L. pneumophila* demeurent faibles pour le reste de la durée de suivi, les concentrations en qPCR demeurent élevées et relativement stables. En effet, les concentrations en qPCR sont demeurées toujours au-dessus de 10^4 UG/L. Après un arrêt prolongé de trois jours avec recirculation de 20 minutes à toutes les 6 heures à la fin du mois de juin, les concentrations de BHA, bactéries viables et totales ont augmenté respectivement de 3 et 1 log. Les exploitants de ce système appliquaient pourtant une recirculation forcée de 20 minutes aux 6 heures durant l'arrêt. Lors du deuxième arrêt prolongé (28 juin au 2 juillet), un nettoyage au chlore du bassin de la tour a été effectué. Suite à cet arrêt et au nettoyage, les valeurs de BHA ont augmenté de $1,6 \times 10^3$ UFC/mL à $>1 \times 10^6$ UFC/mL, alors que les bactéries viables ont augmenté à des valeurs extrêmes de $1,7 \times 10^6$ à 24×10^6 bact./mL avec environ 51% des bactéries totales dénombrées par microscopie. Il est possible que la procédure de nettoyage préventif ait diminué la recirculation et/ou causé un décrochage du biofilm. À noter que ces hausses de bactéries viables et cultivables ont ensuite été suivies d'une augmentation des concentrations de *Legionella* mesurées par qPCR. Les résultats microbiologiques suggèrent que le traitement électromagnétique n'est pas efficace pour diminuer les bactéries cultivables et la flore hétérotrophe, et que des concentrations importantes de *L. pneumophila* non cultivables demeurent présentes dans le circuit.

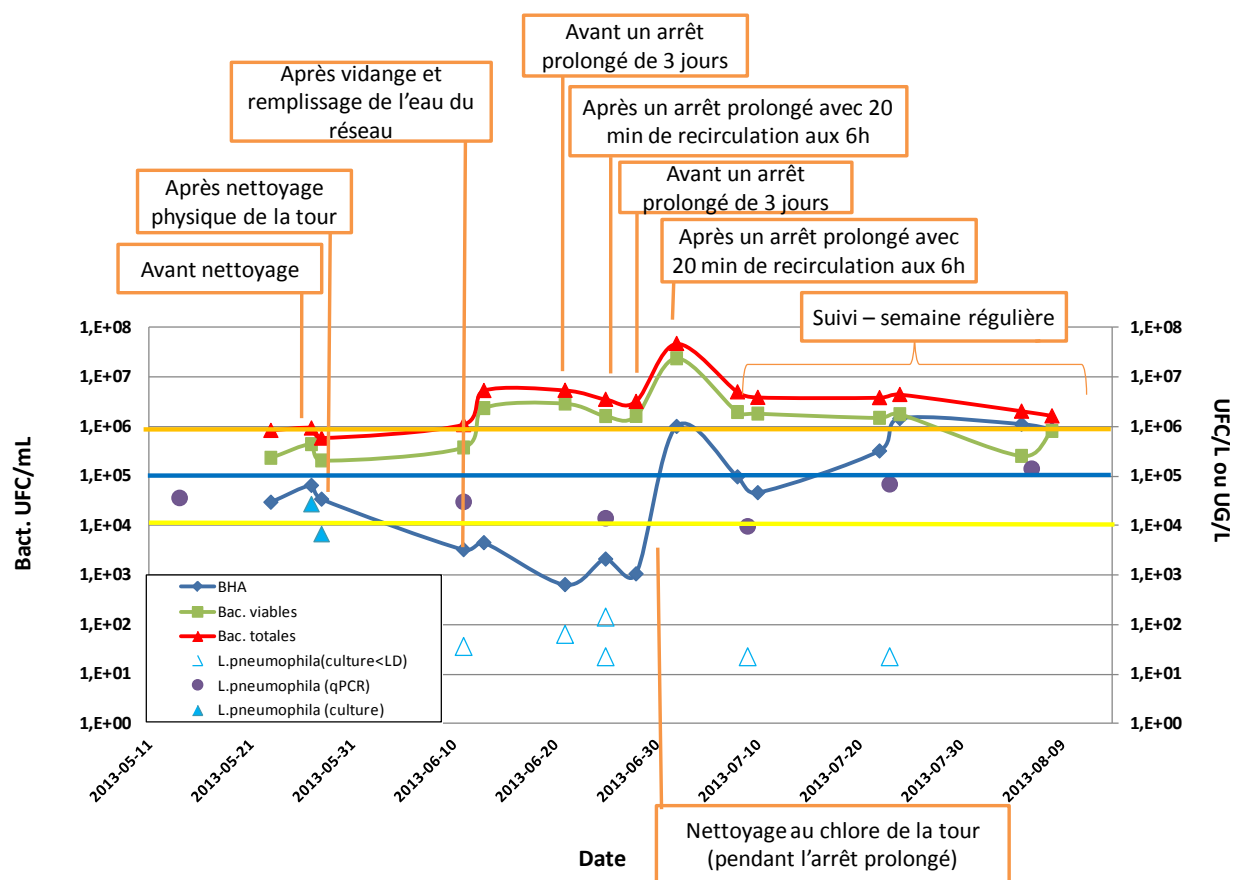


Figure 5-4 Résultats du suivi microbiologique du réseau de refroidissement du site 2 en fonction de la date et de l'exploitation

5.4.3 Résultats au Site 3

Le réseau des tours 1 et 2 du 3^e site a été mis en eau au mois de mai après le remplacement au cours de l'hiver des deux tours de refroidissement. Toutefois, aucun traitement préventif n'a été effectué pendant les trois semaines sur l'eau stagnante du réseau avant son démarrage. Les deux premiers résultats de suivi de *L. pneumophila* ont révélé que le circuit était fortement positif pour *L. pneumophila* par qPCR dès la mise en route, alors que le 3^{ème} résultat mesuré avant tout traitement était sous la limite de détection. L'ensemble des résultats microbiologiques est rapporté à la figure 5-5 où les seuils d'action de la RBQ sont identifiés par des lignes horizontales jaune et orange et les recommandations de concentrations de BHA en bleu. Après une purge complète et l'ajout d'un biodispersant, un traitement curatif par chloration aux hypochlorites a été ensuite effectué sur une période de 42 heures, par l'ajout répété de doses appliquées dans le bassin de la tour. Après environ

18 heures de temps de contact, des concentrations résiduelles de 1,6 de Cl_2 libre et de 1,0 mg/L de Cl_2 total ont été mesurées. Finalement, des concentrations résiduelles de 0,4 de Cl_2 libre et de 0,9 mg/L de Cl_2 total ont été mesurées 42 heures après le début du traitement. Ces actions ont résulté en une baisse drastique des BHA (<1 UFC/mL) et une diminution majeure des bactéries viables (89,9%), mais celles-ci représentaient >99% des bactéries totales. Ces observations montrent que la chloration-choc apparaît efficace si l'on ne considère que les BHA, alors que les concentrations de bactéries viables par microscopie demeurent très élevées. Immédiatement après la fin du traitement curatif a débuté l'application du traitement préventif par ajout bihebdomadaire alterné de deux biocides non oxydants. Suite à l'augmentation progressive des valeurs de BHA et de bactéries totales et viables, une deuxième désinfection curative a été effectuée le 29 juin par l'ajout d'hypochlorite de sodium dans le bassin de la tour (dosage non confirmé).

Nos observations montrent que l'impact des désinfections de routine ou curatives sur les paramètres microbiologiques n'est que de courte durée. De plus, toute diminution est suivie par une augmentation rapide de la flore bactérienne au cours des semaines suivantes malgré l'application du traitement préventif.

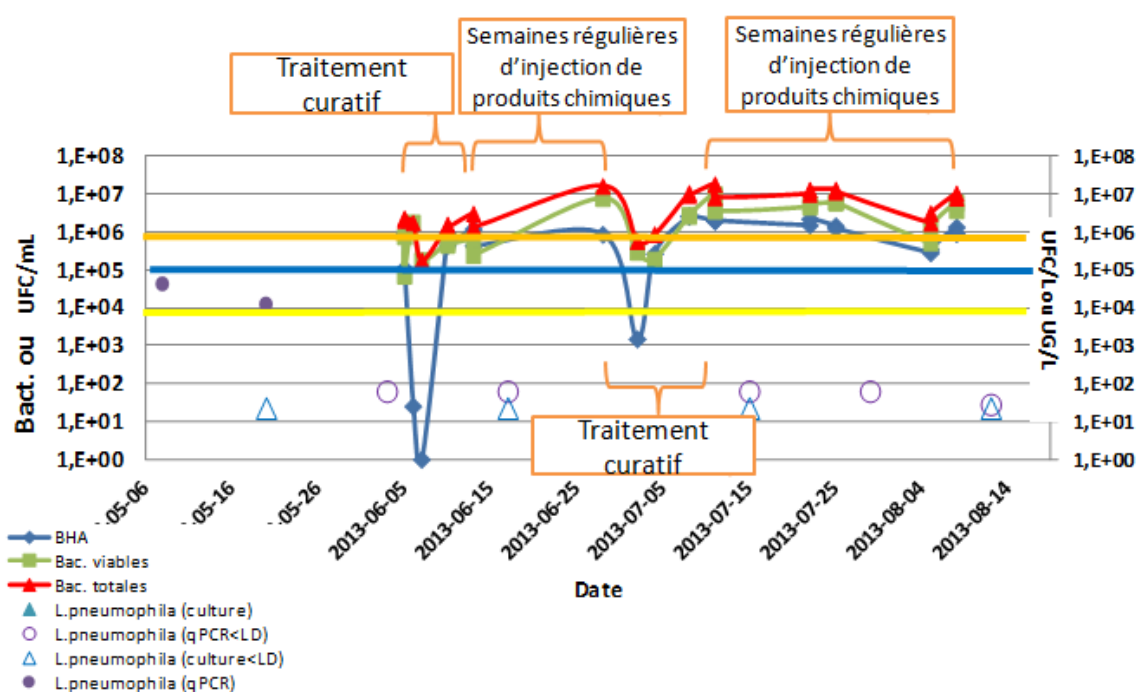


Figure 5-5 Résultats du suivi microbiologique des tours 1&2 du réseau principal du site 3 en fonction de la date et de l'exploitation

Seuls quelques résultats microbiologiques ont pu être obtenus du réseau 3 et ne seront pas présentés. Le bris de la pompe de recirculation de l'eau rendait l'échantillonnage difficile et la tour était hors service. De plus, l'équipe des mécaniciens de machinerie fixe en place ne peut pas confirmer ou infirmer que les traitements préventifs ont bel et bien été effectués grâce à la pompe doseuse.

5.5 Efficacité des traitements

5.5.1 Comparaison des niveaux de colonisation des sites étudiés

Afin d'évaluer l'efficacité des interventions aux différents sites, les niveaux bactériens mesurés par la flore bactérienne totale et cultivable ont été comparés avant et après les interventions. Quoique le contrôle de la flore bactérienne hétérotrophe ou total ne soit pas un indicateur fiable de la présence de *Legionella*, de nombreuses réglementations prescrivent des niveaux de flore hétérotrophe comme indicateur de l'efficacité de la désinfection à la fois sur le biofilm et sur les bactéries en suspension. Il n'était pas possible d'utiliser des résultats d'analyse de *L. pneumophila* étant donné le petit nombre d'échantillons positifs. Les niveaux de BHA, les bactéries viables et totales en période d'exploitation régulière, c'est-à-dire en excluant les périodes de traitement curatif, sont reportés à la figure 5-6. Cette figure montre la variabilité observée au cours de la période de suivi.

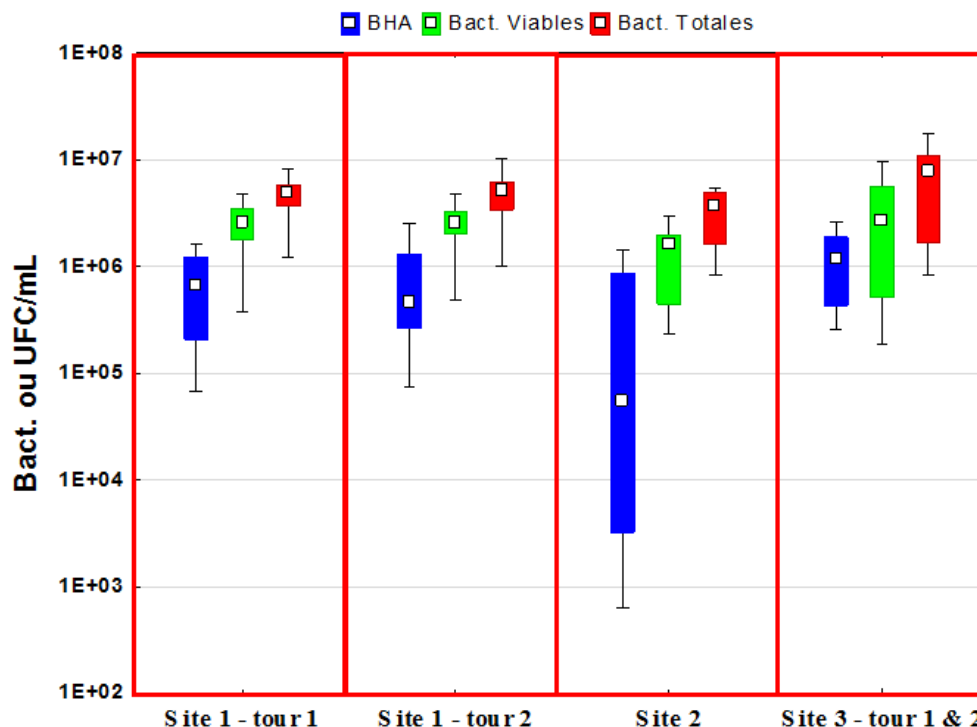


Figure 5-6 Flore bactérienne totale, viable et cultivable en fonction du site en période d'exploitation régulière. Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurés (minimum et maximum) et les boîtes du 25^{ème} et 75^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.

Les réseaux identiques 1 et 2 du site n°1, opérés de la même manière, présentent des concentrations de BHA, bactéries totales et viables très similaires malgré la différente procédure de mise en route. De plus, il est intéressant de constater la plage peu étendue des valeurs autour de la médiane.

Les tours 1 & 2 du site n°3 employant le même traitement préventif que le site n°1, mais ayant subi une longue période de stagnation et un suivi moins rigoureux par le personnel d'exploitation présentent des concentrations médianes de bactéries viables et totales similaires, mais moins stables se traduisant par une plage plus large des 25^{ème} et 75^{ème} centiles. De plus, les concentrations de BHA sont légèrement plus élevées.

Finalement, le site n°2, traité préventivement par le système *Pulse~Pure*TM, suit une tendance différente. En effet, la concentration médiane des BHA est nettement inférieure (environ 1 log) en comparaison avec les autres sites, malgré des niveaux de bactéries viables et totales similaires, ils n'atteignent pas les mêmes maximaux.

Le tableau 5.4 présente les concentrations moyennes des BHA ainsi que les écarts-types en fonction du site. Une analyse de variance non-paramétrique de Kruskal-Wallis révèle qu’au moins une distribution est significativement différente ($p=0,001$). Chaque site a été comparé deux à deux à l’aide du test U de Mann-Whitney et il s’agit du site n° 2 qui est significativement différent et présente une concentration inférieure aux autres sites.

Il est alors possible de s’interroger sur la valeur des détections négatives de *L. pneumophila* en culture au cours de la saison estivale pour le site n° 2, malgré la présence soutenue de valeurs élevées par qPCR. Tout porte à croire que le traitement préventif employé possède une certaine efficacité pour réduire la culturabilité des bactéries, bien que ne rencontrant pas le seuil de 10^4 UFC/mL annoncé par le fabricant. Toutefois, les analyses de bactéries viables par microscopie à épifluorescence révèlent qu’une flore abondante de bactéries VBNC est présente et en concentrations similaires à celles observées aux autres sites. Il est possible d’effectuer un parallèle avec les analyses de *L. pneumophila* en culture pratiquement toujours sous le seuil de détection, mais bien présente en qPCR. Il est possible d’émettre l’hypothèse qu’il s’agit sans doute de *L. pneumophila* viable, mais non cultivable (VBNC) pour les résultats observés en qPCR.

De plus, le tableau 5.4 permet de constater l’importance de l’écart-type des valeurs du site 3 par rapport aux autres sites. Ce site correspond aussi à celui géré et exploité moins rigoureusement que les autres sites. Il est alors possible d’émettre l’hypothèse qu’un réseau géré moins rigoureusement présente des concentrations très variables dans le temps qui sont peu représentatives du risque du réseau tel qu’il a été rapporté par Merchat (Merchat, 2013a) et soulevé dans la section 1.5.4.

Tableau 5.4 Moyenne et écart-type des concentrations de BHA en période d’exploitation régulière en fonction du site.

	Site 1		Site 2	Site 3
	Tour 1	Tour 2		Tour 1 & 2
moyenne	7,51E+05	8,06E+05	3,56E+05	1,20E+06
écart-type	5,61E+05	6,93E+05	5,12E+05	7,40E+05
n	17	33	14	19

5.5.2 Évaluation de l'efficacité des traitements curatifs pour contrôler la flore microbienne

Une analyse combinant les résultats microbiologiques de tous les sites et réseaux, plus spécifiquement les concentrations de BHA, bactéries viables et totales, juste avant, après et 48 heures après un traitement curatif choc à l'hypochlorite (CSW20). Les concentrations de BHA, de bactéries viables et totales en période de traitement curatif choc, sont reportées à la figure 5-7.

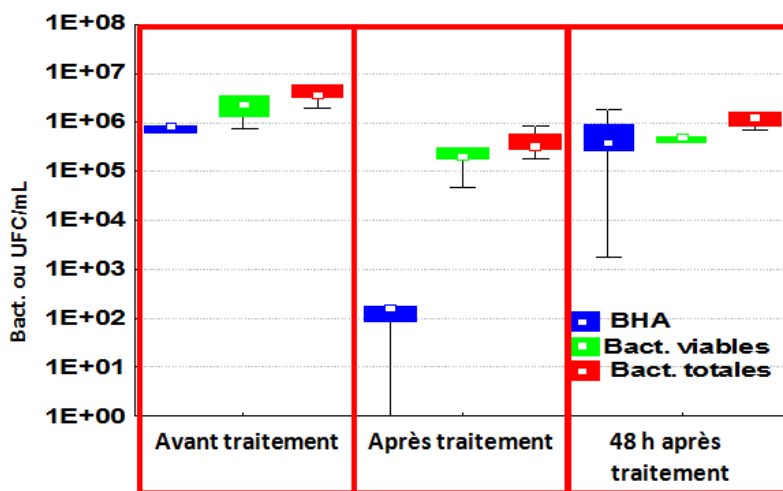


Figure 5-7 Résultats microbiologiques avant et après (immédiatement et 48h) les traitements curatifs choc (n=5). Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum) et les boîtes du 25^{ème} et 75^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.

Pour l'ensemble des cinq traitements suivi, une grande diminution (>3log) des BHA a toujours rapidement observée et parfois jusqu'à 1 log pour les bactéries totales et viables suivant le traitement. Toutefois, les concentrations de BHA rebondissent rapidement (<48 heures). À titre indicatif le traitement curatif le plus agressif est présenté à la figure 5-8 où des injections répétées d'hypochlorite de sodium (CSW20) ont été effectuées pendant presque deux jours (42 heures) sur le réseau 1 du site n°3.

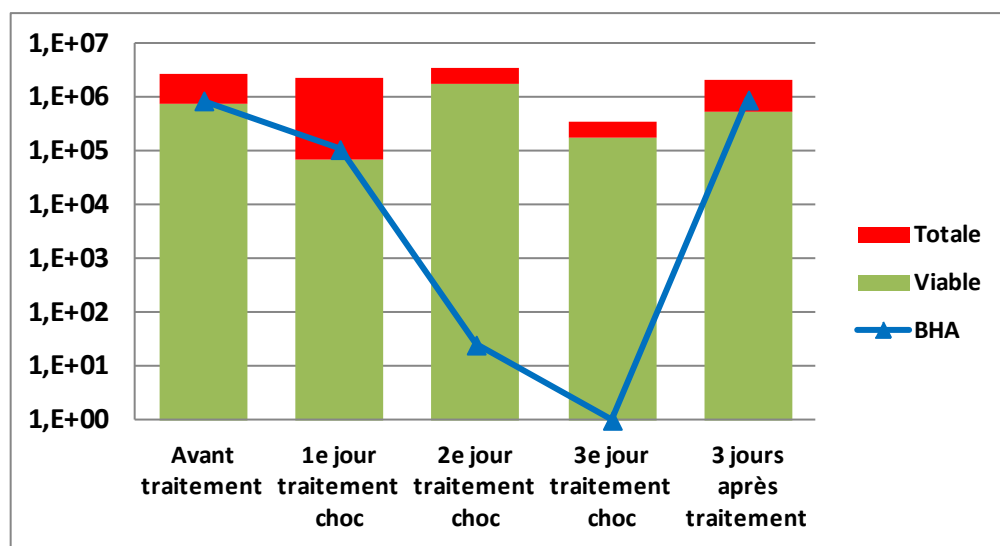


Figure 5-8 Impact du traitement curatif choc à l'hypochlorite de sodium (CSW20) du réseau 1 du site n° 3 sur les bactéries totales et viables (bact./mL) et sur les BHA (UFC/mL)

Il est donc possible de conclure à une faible efficacité de ce type de traitement. Une efficacité minimale et de courte durée des traitements-chocs correspond aux résultats obtenus dans d'autres études (Carducci et al., 2010; Kusnetsov, J. M. et al., 1997; Rangel, K., 2010) contrastent avec ceux rapportés par d'autres (Thomas et al., 1999). Les gestionnaires des sites étudiés nous ont rapporté que de tels traitements peuvent être coûteux, sans toutefois avancer de prix, en raison la quantité importante de produits chimiques et du temps de main-d'œuvre pour la réalisation du traitement. Il serait intéressant de réaliser une étude techno-économique afin de faire une comparaison coût-bénéfice.

5.5.3 Évaluation de l'efficacité des traitements préventifs

5.5.3.1 Injection bihebdomadaire de produits chimiques

Les résultats microbiologiques de tous les sites et réseaux, plus spécifiquement les concentrations de BHA, bactéries viables et totales, ont été regroupés avant et immédiatement après les traitements préventifs effectués aux biocides non oxydants (Biosperse 250 et 295). Les concentrations de BHA, les bactéries viables et totales en période de traitement préventif, sont reportées à la figure 5-7.

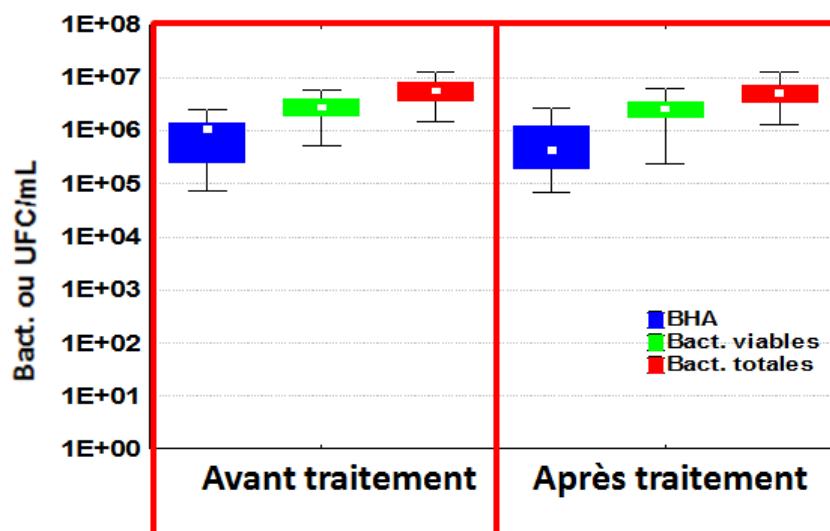


Figure 5-9 Résultats microbiologiques des traitements préventifs chimiques (n=25). Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum), les boîtes les 25^{ème} et 75^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.

Premièrement, il est possible de constater que toutes les tours montrent des populations de bactéries totales, viables et cultivables très élevées si l'on compare à la référence australienne en matière de flore bactérienne cultivable (BHA) dans les tours de 10^5 UFC/mL (Australian/New Zealand Standard (AS/NZS), 2011) ou de 10^4 UFC/mL du Royaume-Uni (Health and Safety Executive (HSE), 2013a). De plus, aucune diminution appréciable des concentrations de la flore bactérienne n'a été observée juste après les injections bihebdomadaires de produits chimiques en traitement préventif. Malgré cette flore abondante, toutes les tours montrent des concentrations modestes de *L. pneumophila* par PCR et culture sauf au démarrage (section 5.2). Il n'est donc pas possible d'évaluer l'efficacité des traitements préventifs spécifiquement sur *L. pneumophila*, car il y a seulement 11 résultats positifs. Par contre, il est possible de conclure que l'injection bihebdomadaire de biocides n'est pas efficace pour diminuer les bactéries totales, viables, et ni même les BHA. L'efficacité en termes de log d'abattement (ou d'augmentation) après traitement est reportée à la figure 5-10.

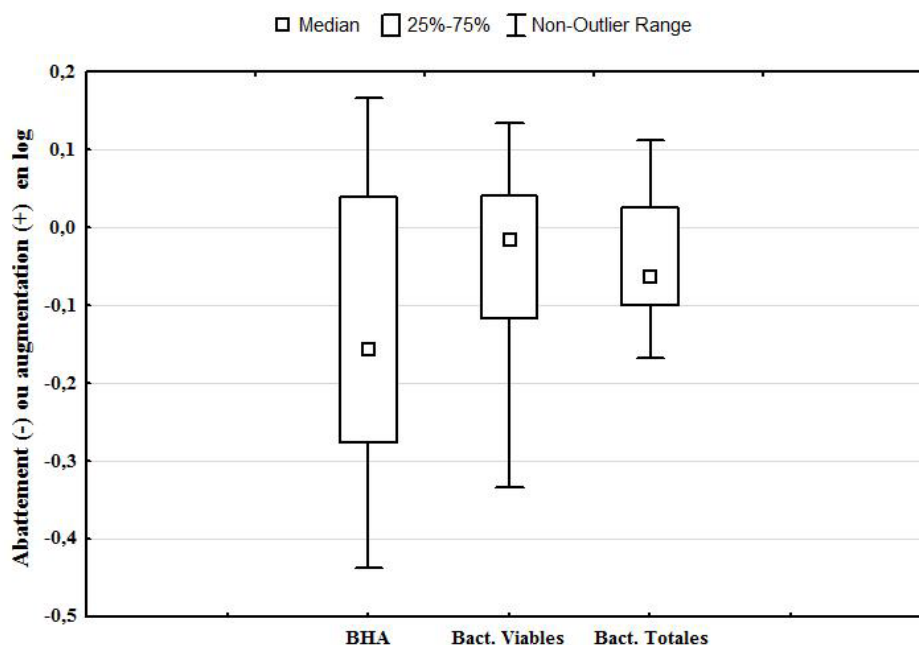


Figure 5-10 Efficacité des traitements préventifs en log d'abattement (-) ou d'augmentation (+) sur les BHA (UFC/mL) et les bactéries viables et totales (bact./mL) 1 heure après le traitement (n=25). Les moustaches présentent l'étendue des résultats mesurées (minimum et maximum), les boîtes les 25^{ème} et 75^{ème} centiles des résultats pour chacun des sites et le carré la médiane.

Il est possible de constater une faible efficacité du traitement avec un abattement toujours inférieur à 0,5 log. De plus, plusieurs cas d'augmentation de la concentration de la flore bactérienne sont observés.

Plusieurs hypothèses ont été émises suite à l'observation de l'inefficacité marquée du traitement préventif sur la flore bactérienne :

1. une demande immédiate importante en raison de matériaux ou de biofilm consommant le biocide;
2. un renouvellement d'eau en fonction du taux de renouvellement entraînant une dilution rapide menant à l'absence de résiduel dans les heures/jours suivant l'injection;
3. l'inefficacité des biocides envers les bactéries sessiles ou libres.

Afin de vérifier l'hypothèse de la stabilité du Bronopol, produit actif du Biosperse 295, a été mesurée dans l'eau ultra pure tamponnée à pH 8 à 4 et 29°C. Les courbes de décroissance de la concentration de Bronopol à différents temps de contact réalisées en duplicata sont présentées à la

figure 5-11. Ces courbes permettent de conclure à un impact important de la température sur la décroissance de la concentration résiduelle. Le produit a été injecté en respectant le dosage typique du plan d'entretien des TAR étudiées, c'est-à-dire environ 48mg/L. Le premier point porté au début de l'expérience représente la concentration théorique ajoutée calculée à partir de la concentration mesurée des molécules dans le produit commercial. Après une diminution rapide de 30% à 4°C et de 54% à 29°C, la concentration du Bronopol reste stable. Comme ces essais ont été effectués dans de l'eau pure, que le Bronopol est peu volatil et que ces essais ont été effectués pour minimiser des pertes, la demande initiale de désinfectant à 29°C pourrait être attribuable à la décomposition initiale du composé. Le Bronopol se décompose en formaldéhyde à pH alcalin et cette décomposition est accélérée avec la hausse de la température (Kajimura et al. 2008)

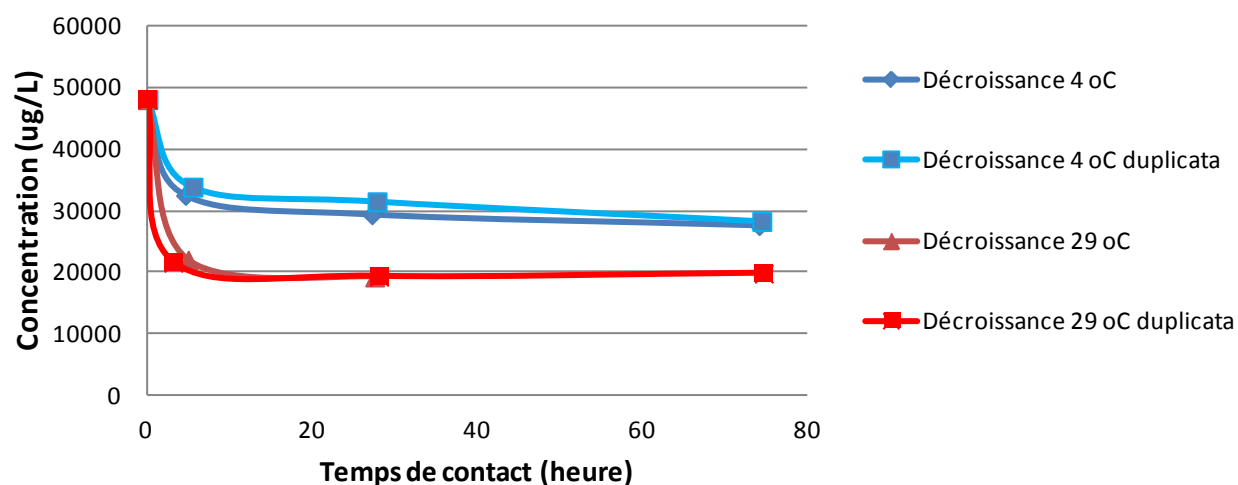


Figure 5-11 Décroissance du Bronopol dans le Biosperse 295 à 4° et 29°C dans de l'eau ultra pure tamponnée à pH 8

La décomposition du Bronopol et l'inactivation de la flore bactérienne ont ensuite été étudiées sur l'eau des réseaux n°1 et n°2 du site 1 après près de 6 mois d'hivernage. L'eau du réseau n°1 présentait une turbidité de 17 UTN et une concentration microbienne inférieure au réseau n°2 présentant une turbidité de 1,5 UTN. Les résultats des essais de désinfection, réalisés en duplicata, aux températures minimales (20 °C) et maximales (35°C) des TAR en opération sont présentés à la figure 5-12.

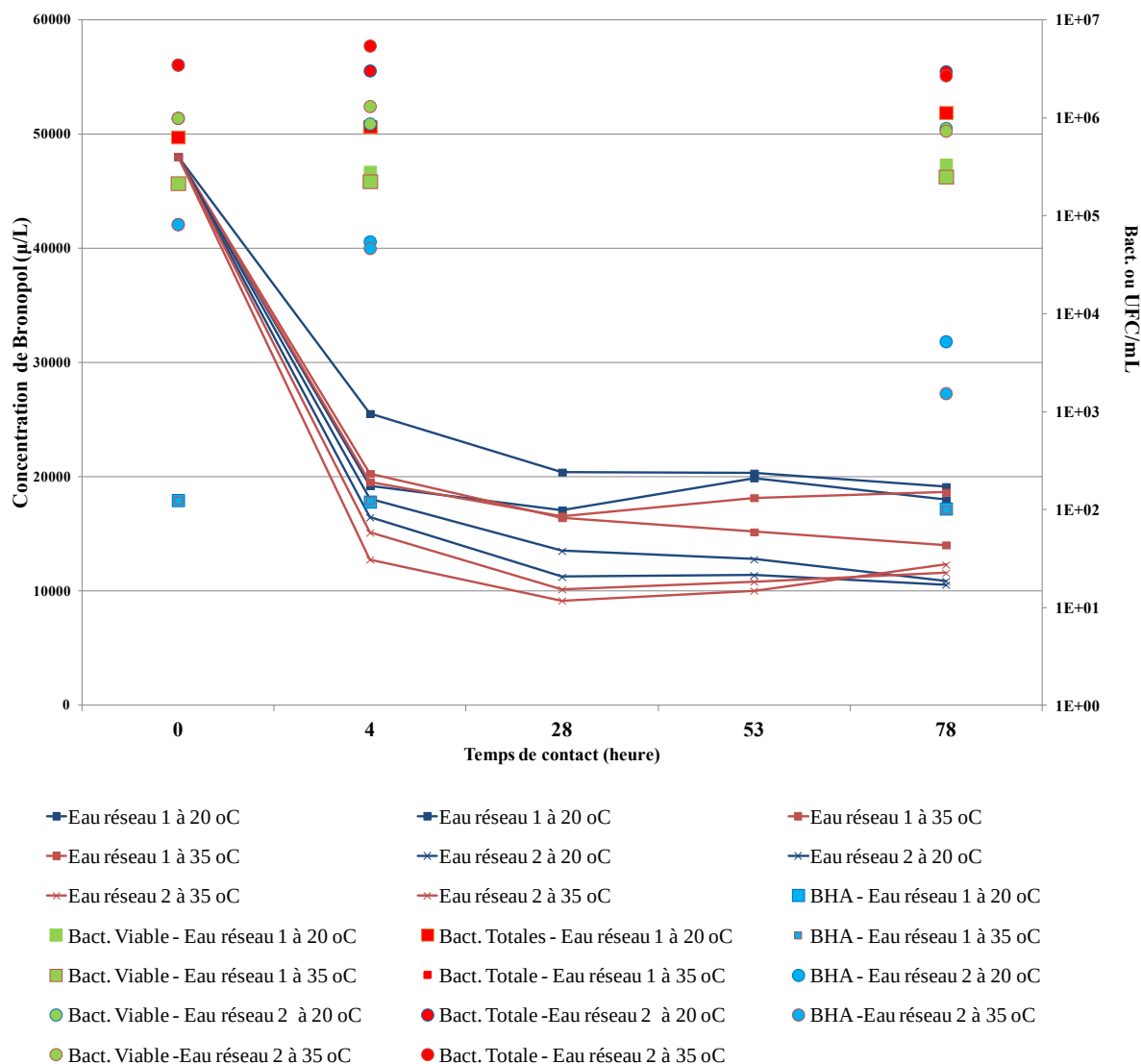


Figure 5-12 Décroissance du Bronopol et de la flore bactérienne dans l'eau de TAR à 20° et 35°C

Tout d'abord, on note une augmentation du taux de décroissance du Bronopol avec l'augmentation de la température, en accord avec les observations précédentes dans l'eau ultra pure. Toutefois, cette demande initiale augmente considérablement avec environ 50% à 20°C et à 60% à 35°C. Il est toutefois intéressant de noter que la décroissance du biocide est plus rapide dans une eau moins turbide. De plus, contrairement à ce qu'il était possible d'attendre, après la demande immédiate plus importante qu'en eau ultra-pure, la concentration du biocide est demeurée stable dans l'eau. Malgré le maintien d'une concentration résiduelle de Bronopol, les concentrations de flore microbienne ne diminuent pas avec le temps de contact. Une légère baisse (1 log) des BHA cultivables de la tour n°1 a été observée, mais aucune diminution significative des BHA et les

bactéries viables dans l'eau du réseau 2. Compte tenu de la durée d'exposition (72h) et du maintien de concentrations résiduelles élevées, il apparaît que ce biocide est inefficace ou inadapté à la forme planctonique de la flore bactérienne spécifique des TAR.

Les deux essais au laboratoire montrent qu'une demande initiale considérable (30 à 70%) de biocide est attribuable à la décomposition du Bronopol et que cette demande augmente avec la température. En présence d'une matrice d'eau de TAR, cette décomposition est accentuée, mais la cause de cette augmentation demeure à confirmer. Après cette demande initiale, la concentration résiduelle de Bronopol reste stable pendant 72 heures.

Pour ce qui est de l'impact du taux de renouvellement de l'eau, les courbes de décroissance du biocide ont été combinées avec le taux de renouvellement moyen de l'eau pour ces réseaux, c'est-à-dire 3,5 jours, afin d'estimer une concentration théorique de biocide dans l'eau du réseau des TAR en présence de purge quotidienne. Cette courbe est présentée à la figure 5-13.

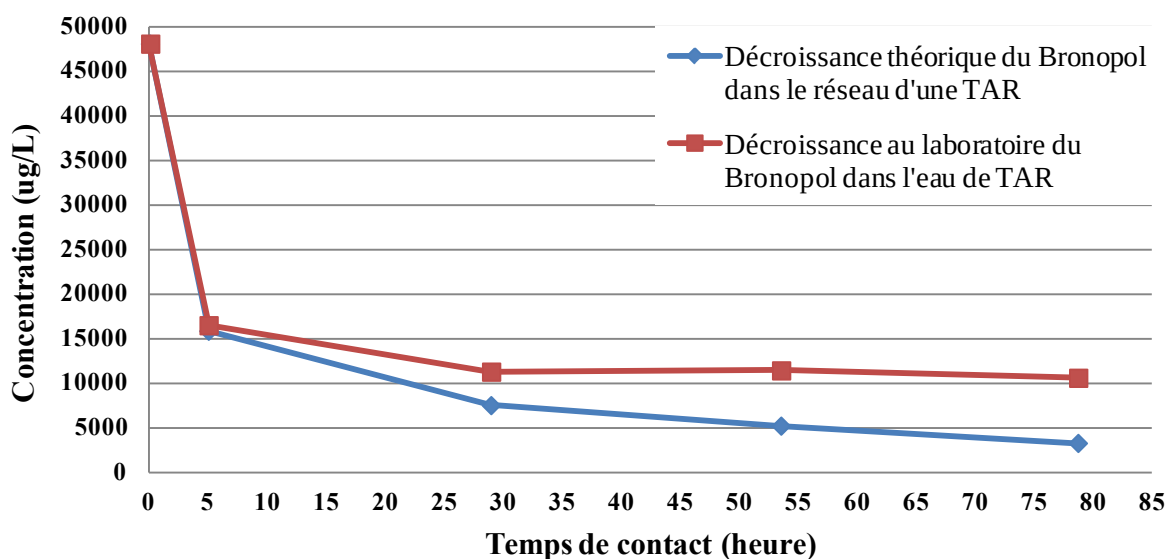


Figure 5-13 Comparaison entre la décroissance du Bronopol au laboratoire dans l'eau d'une TAR à 20°C présentant une turbidité de 1,5 UTN et la décroissance théorique dans le réseau d'une TAR présentant les mêmes conditions en considérant un taux de renouvellement de l'eau de 3,5 jours.

La figure 5-13 montre des décroissances majeures qui se superposeraient dans une TAR.

En considérant un scénario optimiste (température basse et taux de renouvellement moyen), le Bronopol serait présent à moins de 10 % de sa concentration initiale dans le réseau de la TAR après quelques heures si l'on considère la dilution et la décomposition. En pratique, il est raisonnable

d'émettre l'hypothèse qu'aucun résiduel du biocide n'est présent. L'information technique sur le Bronopol précise que la concentration minimale inhibitrice de *Legionella pneumophila* est de 50 mg/L et de 25 mg/L pour la plupart des bactéries Gram positif et négatif pour un temps de contact d'au moins 24 heures (BASF SE, 2009). En considérant la consommation immédiate, le taux de renouvellement de l'eau et les dosages appliqués, il est raisonnable de conclure que le dosage actuel n'est pas suffisant pour contrôler *L. pneumophila* et la flore bactérienne.

Concernant les concentrations de CMI et de MI dans le Biosperse 250, bien que difficile à quantifier, présentent les mêmes tendances que le Bronopol. Toutefois, la stabilité des concentrations résiduelles n'est pas influencée par la température. Il est toutefois intéressant de noter que ce biocide est aussi inefficace sur la flore bactérienne spécifique des TAR. De plus, leur suivi par Tanji et al. dans différents réseaux de TAR en opération a permis de conclure à l'absence de résiduel en moins de 2 jours en présence de surface d'acier (Tanji et al., 2007). Un biocide à base de MI nécessite un temps de contact de 96 heures pour permettre un abattement de 1 log de *Legionella* sous la forme de kyste et 12 heures pour 2 log d'abattement de *Legionella* sous la forme planctonique pour une concentration de 8 mg/L (c'est-à-dire 4 fois supérieures à la dose typique dans les TAR suivies). De plus, ce type de molécule n'a aucun effet à cette concentration, même après 96 heures de temps de contact, sur la flore bactérienne hétérotrophe (Thomas et al., 1999). En considérant le taux de renouvellement de l'eau dans les réseaux des TAR et donc le temps de contact réel, il est raisonnable de conclure à une efficacité minimale sur *Legionella* et négligeable sur la flore bactérienne hétérotrophe aux concentrations employées.

Pour conclure, l'injection bihebdomadaire de Biosperses 250 et 295 ne permet pas d'assurer un traitement préventif continu puisque les biocides ne sont pas rémanents entre les périodes d'injection. Il est plus pertinent de comparer ce type de stratégie à des traitements curatifs à répétition. Par contre, l'efficacité de ce traitement sur la flore bactérienne spécifique du réseau des TAR n'est pas démontrée. L'objectif et la cible de cette stratégie de traitement suggéré par le fournisseur ne sont pas clairs et nos résultats permettent de douter de la pertinence de cette stratégie.

Le maintien d'une concentration de chlore résiduel libre permet de limiter les concentrations de bactéries hétérotrophes libres dans les réseaux. Afin de supporter l'importance de la présence d'un résiduel de désinfectant en tout temps, toutes les concentrations de BHA observées dans les TAR suivies au cours de la saison estivale 2013 sont présentées en fonction du chlore libre résiduel

mesuré au moment de l'échantillonnage. A la figure 5-14, il est possible d'observer une drastique diminution de la concentration des BHA dès la présence d'un faible résiduel de chlore libre.

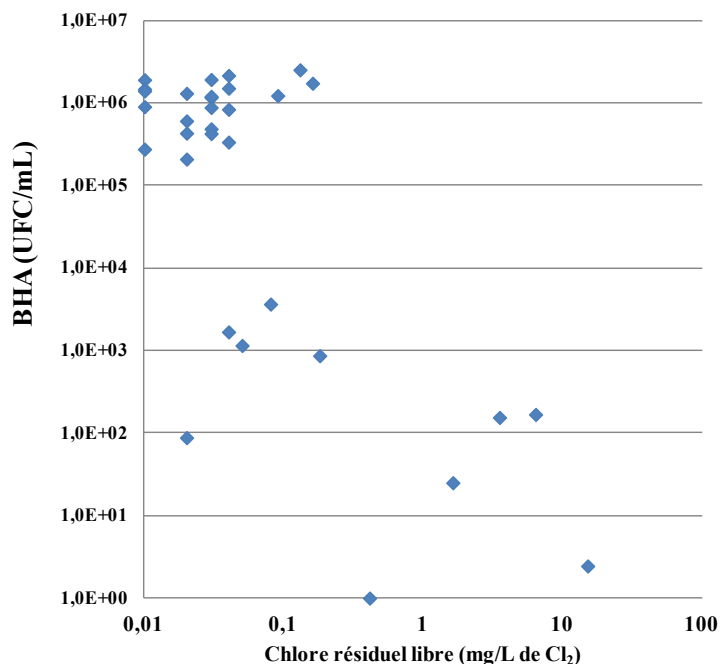


Figure 5-14 Concentration de BHA (UFC/mL) en fonction du chlore résiduel libre (mg/L de Cl₂) pour les réseaux n°1 et 2 du site n°1 et le réseau des TAR 1 et 2 du site n°3 (n=39)

Ces résultats suggèrent qu'une injection continue de biocide serait à privilégier pour un traitement préventif rémanent contrôlant les BHA. De plus, afin de considérer le taux de renouvellement de l'eau des réseaux, il est nécessaire d'effectuer un suivi des concentrations résiduelles. Ces conclusions sont en accord avec les recommandations de Tanji pour l'utilisation de CMI et MI dans les TAR (Tanji et al., 2007).

5.5.3.2 Champ électromagnétique

Une tendance différente a été observée pour le système *Pulse~Pure*TM utilisant un champ électromagnétique. La concentration en BHA est plus faible par rapport aux bactéries totales et viables que dans le traitement préventif aux injections bihebdomadaires tel qu'il a été démontré à la section 5.5.1. Toutefois, toutes les analyses effectuées en qPCR révèlent une présence de *L. pneumophila*. Malgré que quelques résultats soient positifs en culture, il est raisonnable de douter de l'efficacité du champ électromagnétique sur *Legionella*, bien que le système puisse améliorer la qualité de l'eau du réseau et diminuer certains facteurs de prolifération.

5.5.3.3 Nettoyage physique et surface de colonisation

Les gestionnaires des TAR suivies ont tous porté une attention particulière au nettoyage physique du bassin de la tour. Il est assez difficile d'en mesurer l'impact étant donné le petit nombre d'unités suivies et l'absence de base de comparaison sans nettoyage. Il semblerait toutefois que certains nettoyages physiques aient engendré un décollement de biofilm se retrouvant dans l'eau du réseau.

Quoique cette maintenance soit souhaitable, on peut se questionner sur l'importance relative des surfaces dans la tour et des surfaces présentes dans les circuits (conduites et condenseurs). L'étude de 30 TAR a permis de corrélérer l'augmentation du ratio surface de biofilm sur le volume d'eau à la prolifération de *Legionella* (Bentham & Broadbent, 1993). Cette piste a été étudiée dans les réseaux suivis par l'étude de la configuration des réseaux. Le condenseur étant muni de centaines de petits tubes pour maximiser l'échange thermique représente finalement une superficie d'environ 80 m² en contact avec l'eau et support de biofilm comparativement à 40 m² pour la tuyauterie de 12'' de diamètre reliant une tour à un condenseur séparé de 7 étages. L'ordre de grandeur de la surface du bassin d'une tour en contact continu avec l'eau varie entre 20 et 40 m². Ces observations amènent un angle de réflexion intéressant par rapport à l'importance de l'entretien de cet élément du réseau et au point d'injection le plus approprié pour le dosage des produits chimiques. En effet, il a déjà été démontré qu'un point d'injection unique est souvent inefficace (Carducci et al., 2010), peut-être le biofilm du condenseur devrait aussi être une cible privilégiée dans la lutte à *Legionella* sans parler des économies du coût énergétique que la diminution du biofilm engendrerait.

5.5.4 Évaluation de l'opération des TAR

L'analyse des procédures de démarrage ne démontre pas de tendances claires. Il a toutefois été observé que ces événements entraînaient d'importantes remises en suspension de biofilm et de bactéries. La vidange complète du réseau a parfois démontré (par exemple dans le cas du site 2) une meilleure efficacité sur les BHA que les traitements-chocs (effectué au site 3).

Pour ce qui est des arrêts prolongés de fin de semaine, les données ne démontrent pas de tendances claires en raison du peu de données. Seulement deux arrêts au site 1 avec des recirculations de 20 minutes aux 6 heures pendant 3 jours ont été suivis. Le premier arrêt n'avait démontré aucun impact, contrairement au 2^{ième} arrêt présentant une importante prolifération des bactéries.

Toutefois, ce dernier arrêt a été combiné avec une action curative de nettoyage physique et a été précédé moins d'une semaine auparavant d'un premier arrêt. Il est donc difficile de conclure sur l'impact seul de l'arrêt par rapport aux autres facteurs.

Pour ce qui est des effets de la circulation, aucun registre n'était tenu pour les comptabiliser. Il n'est donc pas possible de commenter l'impact de la circulation forcée quotidiennement des réseaux par rapport à ceux subissant plus de périodes de stagnation.

CHAPITRE 6 SUIVI DE LEGIONELLE EN CONTEXTE INDUSTRIEL

Dans le contexte pré-règlementaire et la venue de seuils d'actions dans les TAR, il était intéressant d'avoir un portrait de la prévalence de *L. pneumophila* dans le contexte québécois. L'institut Robert-Sauvé en santé et sécurité au travail (IRSST) est le laboratoire ayant effectué le plus d'analyse d'eau de TAR avant la venue de la réglementation, leur compilation permet de dresser un portrait en contexte non règlementaire tant au niveau du suivi effectué que de la prévalence de *L. pneumophila* en eau de procédé et de consommation.

6.1 Portrait du suivi de *Legionella* effectué par les industries

Depuis juin 2011, les formulaires permettent de préciser si l'échantillon provient de l'eau de procédé ou de l'eau de consommation. Avant 2011, le type d'échantillons n'est pas précisé et ces données ne seront pas utilisées dans le cadre de cette étude. Les données retenues pour l'analyse présente couvrent la période 2011 au 12 mai 2013. Au total, c'est 1020 résultats d'analyses disponibles, dont 513 avec confirmation du type d'eau. Pour la période couverte, la répartition des échantillons est présentée au tableau 6.1.

Tableau 6.1 Répartition des échantillons analysés par l'IRSST de 2011 au 12 mai 2013 selon l'usine

# Usine	n	Nombre de campagnes d'échantillonnage	Moyenne d'échantillons par campagne	n _{procédé}	n _{consommation}	n _{non-identifié}
Usine A	177	33	5,4	110	12	55
Usine B	5	1	5,0	5	0	0
Usine C	40	6	6,7	16	8	16
Usine D	77	8	9,6	6	34	37
Usine E	177	30	5,9	98	34	45
Usine F	13	1	13,0	0	0	13
Usine G	2	2	1,0	2	0	0
Usine H	105	10	10,5	46	45	14
Usine I	82	8	10,3	40	8	34
Usine J	24	2	12,0	7	17	0
Usine K	2	1	2,0	2	0	0
Usine L	24	3	8,0	6	9	9
Usine M	6	1	6,0	6	0	0
Usine N	4	2	2,0	2	0	2
	738	108	6,8	346	167	225

Sur les 14 industries suivies par l'IRSST huit ont fait trois campagnes d'échantillonnage ou moins depuis 2011. Ce qui représente un échantillonnage ou moins annuellement. En moyenne, 6,8 échantillons sont prélevés pour les usines à chaque échantillonnage.

6.2 Prévalence de *L. pneumophila* dans l'eau de procédé des industries

La figure 6-1 présente la répartition des concentrations de *L. pneumophila* en fonction de l'année pour l'eau de procédé. Les fourchettes de concentration de *L. pneumophila* représentent les différentes catégories d'intervention recommandées par la RBQ.

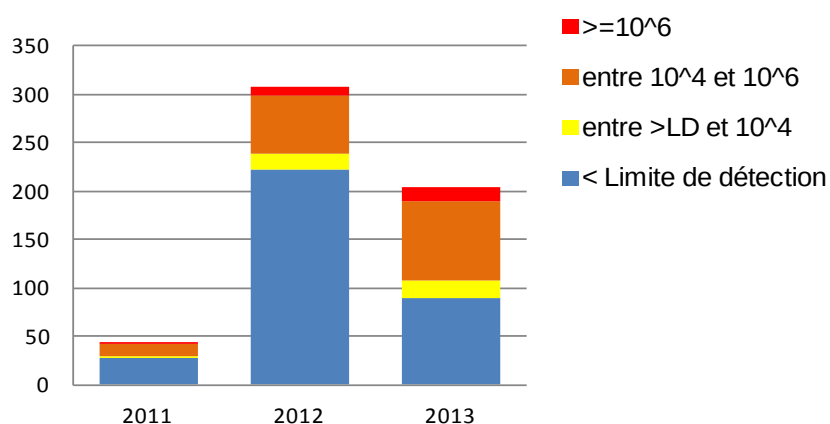


Figure 6-1 Nombre d'échantillons présentant diverses concentrations de *L. pneumophila* en UFC/L pour l'eau de procédé

Il est intéressant de remarquer l'augmentation du volume d'échantillon traité par l'IRSST entre 2011 et 2012 à la suite de l'épidémie de légionellose à Québec qui pourrait être attribué à un certain effet de panique. Il faut tout de même préciser que 92 échantillons de bâtiments et fontaines décoratives de la ville de Québec ont été analysés par l'IRSST lors du dépistage de sources possibles. Finalement, la période à l'étude en 2013, qui ne couvre que 4 mois, présente plus de 200 analyses comparativement à 300 pour toute l'année 2012.

Étant donné que le volume d'échantillon varie beaucoup d'une année à l'autre, il est intéressant de comparer le pourcentage de résultat positif tel que présenté à la figure 6-2.

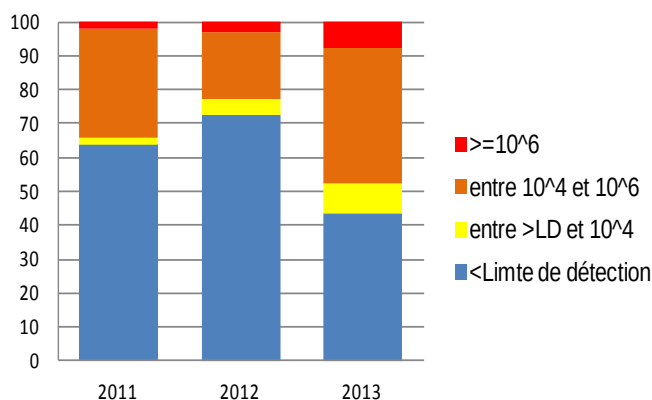


Figure 6-2 Pourcentage d'échantillons présentant diverses concentrations de *L. pneumophila* en UFC/L pour l'eau de procédé

Pour ce qui est des années 2011 et 2012 environ 30 % des échantillons sont positifs en *L. pneumophila*. En 2013, il est important de souligner que la répartition est influencée par le suivi de l'usine A, à raison de 6 échantillons par semaine, pour un problème de contamination élevée qui fait l'objet d'un suivi de l'efficacité de différents traitements.

Toutes les concentrations de *L. pneumophila* mesurées ainsi que la racine carrée de la limite de détection pour les échantillons négatifs sont présentées selon la date julienne à la figure 6-3. De plus, les seuils d'actions recommandés par la RBQ pour appliquer un traitement correctif (en jaune) et une décontamination immédiate (en rouge) sont identifiés au moyen de lignes horizontales.

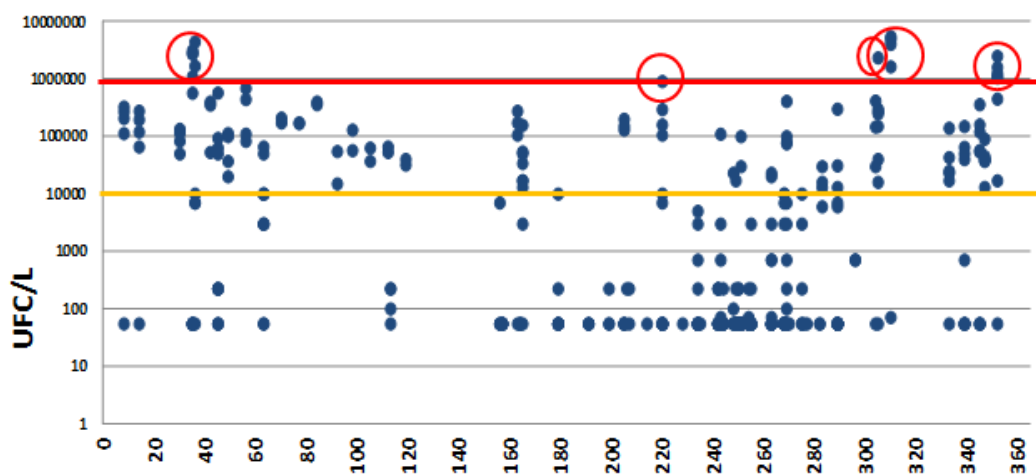


Figure 6-3 Concentration de *L. pneumophila* en fonction de la date julienne – eau de procédé toutes les usines confondues (2011 au 12 mai 2013)

Il est intéressant de noter que plus de suivis sont effectués durant l'été et l'automne que durant la période de janvier à mai. Seulement trois usines (A, E et H) sur 14 font un suivi de *Legionella* tout au cours de l'année. Ce phénomène peut être attribué à la fermeture de certains réseaux durant l'hiver ou encore parce que l'hiver n'est pas perçu comme une période à risque. Toutefois, ces résultats démontrent clairement qu'aucune tendance saisonnière des concentrations de *L. pneumophila* n'est observée contrairement aux pointes automnales rapportées dans la littérature (Bentham & Broadbent, 1993).

L'application de la nouvelle réglementation aurait impliqué cinq arrêts des TAR pour décontamination dans trois industries représentant un impact économique important pour ces industries où la production nécessite l'utilisation de procédés de refroidissement. Il est intéressant de s'intéresser individuellement au profil de suivi et prévalence de *L. pneumophila* pour chacune des usines présentées à la figure 6-4.

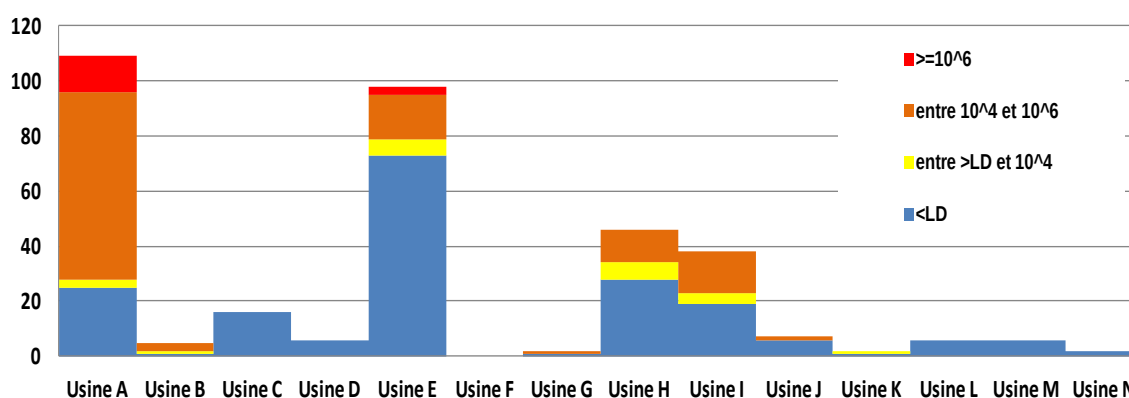


Figure 6-4 Nombre d'échantillons présentant diverses concentrations de *L. pneumophila* en UFC/L dans l'eau de procédé en fonction de l'usine

Premièrement, les quatre mêmes usines (A, E, H et I) sont problématiques peu importe l'année, mais il s'agit aussi de celles les plus testées. Le pourcentage de positif varie entre 25 et 75 pour les quatre usines qui prélèvent le plus d'échantillons.

Tel qu'il a été mentionné à la section 6.1, certaines usines font très peu d'échantillonnage par an (1 campagne ou moins par an). Quatre d'entre elles présentaient entre 10 et 80 % de résultat positif entre 3000 et 10⁶ UFC/L. Une seule usine a ré-effectué un échantillonnage après un résultat positif. Sans un nombre plus élevé de mesures, il n'est pas possible d'affirmer que les quatre autres sites qui sont négatifs le seraient vraiment tout le temps.

6.3 Prévalence de *L. pneumophila* dans l'eau de consommation des industries

La répartition des concentrations de *L. pneumophila* pour l'eau de consommation en fonction de l'année est présentée à la figure 6-5.

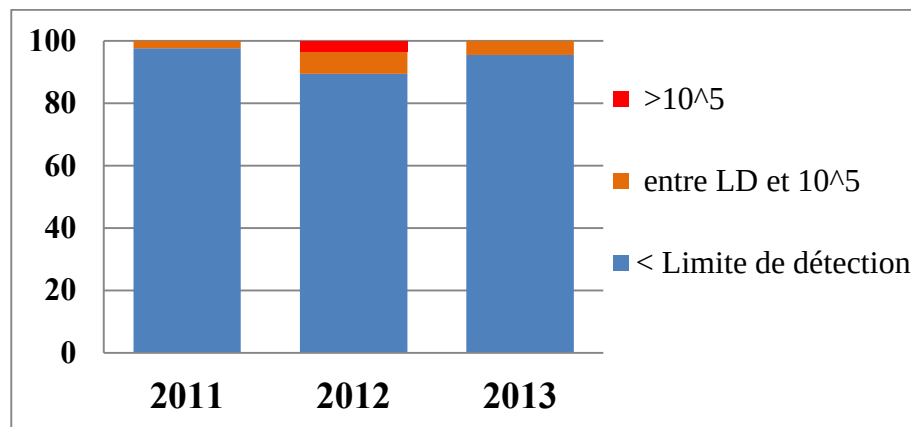


Figure 6-5 Pourcentage d'échantillons présentant diverses concentrations de *L. pneumophila* en UFC/L pour l'eau de consommation en fonction de l'année

Moins de 10 % des échantillons d'eau de consommation, c'est-à-dire en provenant du réseau d'eau chaude, froid ou des douches d'urgence, est positif en *L. pneumophila* peu importe l'année. Toutefois si l'on s'attarde individuellement aux usines, le portrait est quelque peu différent comme le montre la figure 6-6.

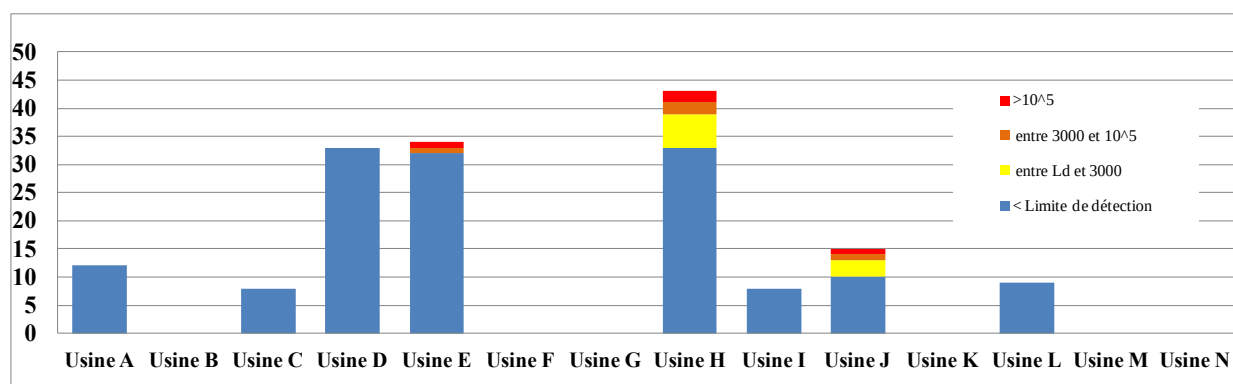


Figure 6-6 Nombre d'échantillons présentant diverses concentrations de *L. pneumophila* dans l'eau de consommation en fonction de l'usine (2011 au 12 mai 2013)

Le premier constat est que cinq usines qui effectuent un contrôle au niveau de l'eau de procédé ne le font pas pour l'eau de consommation. Il est possible de traduire cette information par qu'en l'absence d'un contexte réglementaire clair et où la loi sur la protection des travailleurs s'appliquent

cinq industries considèrent l'eau de procédé comme un risque potentiel d'infection de légionelle pour leur travailleur, mais pas l'eau de consommation du bâtiment. De plus, les huit industries qui effectuent un contrôle de l'eau de procédé et de l'eau de consommation effectuent moins d'échantillons pour ce dernier type d'eau, sauf pour l'usine H où le plan de suivi présente un nombre égal d'échantillons d'eau de procédé et de consommation. Les usines E, H et J présentent des problèmes de prolifération de *L. pneumophila* principalement dans les douches d'urgence où l'eau est stagnante, mais aussi dans les douches des employés. Cette observation est importante, car les douches contaminées représentent une source immédiate d'infection des employés.

6.4 Portée du suivi des industries et limites de l'étude

Le comportement de suivi de *Legionella* en industrie en contexte non réglementé comporte en moyenne 6,8 échantillons par campagne d'échantillonnage, qui dans la plupart des cas sont peu fréquents. Il est possible de s'interroger sur la pertinence de prélever autant d'échantillons en même temps, car cela pourrait vouloir dire que les industries ne prélèvent pas forcément des échantillons représentatifs de leur réseau. Étant donné que plus d'échantillonnage sont effectués, plus il y a de probabilité de mesurer des positifs. Il est possible de conclure que la nouvelle réglementation nécessitera une modification importante pour la plupart des industries dans leur plan de suivi de *L. pneumophila*. Toutefois, bien que le prélèvement plus fréquent se veuille plus représentatif de l'état du réseau, la question de la représentativité du point de prélèvement choisi persiste toujours ainsi que le délai après un traitement chimique. La représentativité des réseaux par rapport aux échantillons analysés limitent la portée de l'étude.

Les résultats disponibles à l'IRSST ne comportent aucune information sur le point de prélèvement. Il est donc impossible de suivre un point de prélèvement dans le temps. Finalement, le nombre d'échantillons au type d'eau non identifié est considérable (417) par rapport au nombre total d'échantillons. Ne pas les considérer dans l'étude comporte un biais. La figure 6-7 présente que dans 20 % des cas ils sont positifs en *L. pneumophila*.

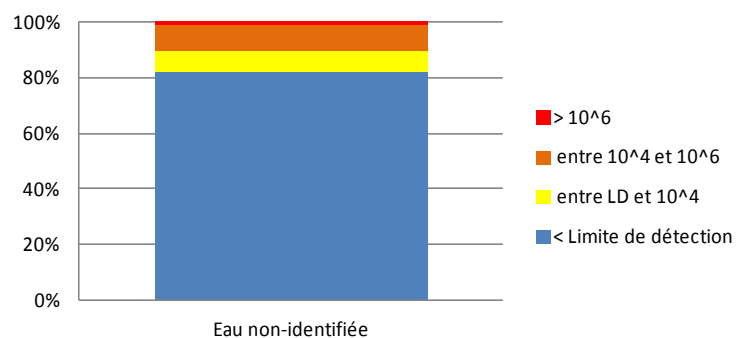


Figure 6-7 Pourcentage d'échantillons présentant diverses concentrations de *L. pneumophila* dans l'eau de type non identifié (n=417)

CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Réseaux d'eau chaude sanitaire

Trois points s'avèrent critiques dans le risque de prolifération de *Legionella* dans les réseaux d'eau chaude sanitaire :

- Chauffe-eau et ses réservoirs ;
- Boucles de recirculation ;
- Points d'utilisation
- Les profils de température au point d'utilisation sont un excellent outil pour évaluer les zones à risque d'amplification des légionelles et mieux comprendre le régime hydraulique dans un réseau.
- La caractérisation du système d'eau chaude, incluant le suivi en continu des températures en sortie de chauffe-eau et au niveau du retour de la boucle de recirculation, est essentielle.
- Les mesures microbiologiques ont permis de confirmer l'amplification des légionelles dans les réseaux à risque.
- Le suivi des températures sur une base régulière ne demande pas d'investissements importants au niveau des équipements et du personnel :
 - En continu aux chauffe-eau et aux boucles de recirculation ;
 - Ponctuel aux points à risque.
- Un suivi en continu permet de déceler immédiatement une perturbation dans l'équilibre du système et d'agir rapidement.
- La méthode de diagnostic de réseau proposée est un outil prometteur pour évaluer le risque d'amplification de légionelles dans un réseau (risque systémique) et de cibler les points à risque (risque distal).

- Il est essentiel de :
 - mesurer en continu la température dans les boucles de recirculation et en sortie du chauffe-eau;
 - comprendre la distribution et de vérifier les températures aux points éloignés pour identifier les zones à risque.

Tours de refroidissement

- Toutes les tours montrent des populations de bactéries totales et viables élevées.
- Toutes les tours montrent des concentrations modestes de *L. pneumophila* par qPCR et culture sauf au démarrage. Il n'est pas possible d'évaluer l'efficacité des traitements sur *L. pneumophila*, car il y a seulement 11 positifs. Il est donc difficile de conclure sur l'efficacité des interventions sur la légionelle.
- L'injection bihebdomadaire de biocides n'est pas efficace pour diminuer les bactéries totales, viables et ni même les BHA.
- Les tendances observées pour le système *Pulse~Pure*TM sont différentes des traitements préventifs chimiques. Les concentrations de BHA sont plus faibles par rapport aux bactéries totales et viables, mais les concentrations de *L. pneumophila* par qPCR demeurent élevées.
- Les traitements chimiques curatifs (choc) entraînent une grande diminution des BHA et parfois jusqu'à 1 log pour les bactéries totales et viables. Toutefois, l'efficacité n'est que de courte durée et les BHA rebondissent rapidement (<48 heures). Il est donc possible de conclure à une efficacité minimale de ce type de traitement.
- Pour les arrêts prolongés, les données partielles ne démontrent pas de tendance claire jusqu'à maintenant. Seulement 2 arrêts au site 1 avec des recirculations de 20 minutes aux 6 heures pendant 3 jours.

Contexte industriel

- Les TAR industrielles ne démontrent aucune tendance saisonnière et représentent un risque de prolifération et d'exposition aux légionelles toute l'année.
- Des concentrations élevées ont été mesurées dans les TAR et auraient entraîné de nombreuses désinfections d'urgence pour respecter la nouvelle réglementation en vigueur.
- La plupart des industries effectuent un suivi ou moins par an en contexte non réglementaire et la moitié des industries effectuant un contrôle dans l'eau de procédé ne considère pas l'eau de consommation comme un risque de *Legionella* pour la santé des travailleurs.
- Les douches d'urgence présentent des concentrations élevées de *L. pneumophila* et représentent des points de risque de contamination à prioriser.
- Les échantillons nombreux et peu fréquents mettent en doute la représentativité des résultats ainsi que la capacité et la compréhension des industriels à prélever des échantillons représentatifs du risque.

Recommandations :

- Établir combien de temps il est possible de tolérer la production d'eau chaude d'un chauffe-eau <60°C avant de considérer un risque réel de prolifération des légionelles.
- Établir combien de points doivent faire l'objet de profil de température dans les REC.
- Interdire l'arrêt de la circulation la nuit dans les boucles de recirculation des REC.
- Envisager de mettre en place un programme de mesure de *L. pneumophila* avec seuil dans les unités desservant des clientèles hautement vulnérables, particulièrement si les températures de consignes ne sont pas rencontrées.
- Limiter l'installation de robinet thermostaté qu'aux points où les risques de brûlure sont supérieurs aux risques d'infection de *Legionella*.
- Comprendre le design des robinets électroniques plus susceptibles à la contamination et à la production d'aérosol.

- Procéder à des études d'évaluation du risque de prolifération de *L. pneumophila* dans les douches.
- Utiliser davantage des méthodes rapides dans la détection de *L. pneumophila*, tels que par PCR (quantitative ou viable), pour les objectifs de diagnostic et de suivi.
- Vérifier l'impact des amibes et des bactéries viables, mais noncultivable dans la prévention et la détection de *Legionella*.
- Valider l'efficacité des biocides situation de dosage continu de désinfectant en considérant des souches environnementales de *Legionella* intra amide.
- Compléter l'évaluation de l'efficacité des différents types de mise en route des TAR sur le contrôle de *Legionella*.
- Étudier l'efficacité des dévésiculeurs (pare-gouttelettes) des TAR et leur perspective dans la gestion du risque de contamination par *Legionella*.
- Comparer le portrait québécois de prévalence de *L. pneumophila* dans les TAR pré et post réglementation afin d'évaluer l'impact de celle-ci sur les concentrations mesurées dans les TAR.

BIBLIOGRAPHIE

- Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail (ANSES). (2011). *Méthodes de détection et de dénombrement de Legionella dans l'eau* (Rapport n° Avis de l'Anses - Rapport d'expertise collective - Anses – Saisine « 2009-SA-330 »).
- Al-Bana, B. H., Haddad, M. T., & Garduno, R. A. (2014). Stationary phase and mature infectious forms of *Legionella pneumophila* produce distinct viable but non-culturable cells. *Environmental microbiology*, 16(2), 382-395. doi: 10.1111/1462-2920.12219
- Allegra, S., Berger, F., Berthelot, P., Grattard, F., Pozzetto, B., & Riffard, S. (2008). Use of flow cytometry to monitor *Legionella* viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(24), 7813-7816. Tiré de <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01364-08>
- Allegra, S., Grattard, F., Girardot, F., Riffard, S., Pozzetto, B., & Berthelot, P. (2011). Longitudinal evaluation of the efficacy of heat treatment procedures against *legionella spp.* in hospital water systems by using a flow cytometric assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(4), 1268-1275 Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/77/4/1268>
- Alleron, L., Merlet, N., Lacombe, C., & Frère, J. (2008). Long-term survival of *legionella pneumophila* in the viable but nonculturable state after monochloramine treatment. *Current Microbiology*, 57(5), 497-502. doi: 10.1007/s00284-008-9275-9
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), & Water Environment Federation (WEF). (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (21th Edition). Washington, DC, USA.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), & Water Environment Federation (WEF). (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (vol. 5). Washington, D.C.: American Public Health Association.
- Arvand, M., Jungkind, K., & Hack, A. (2011). Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by *Legionella pneumophila*: do we know the true dimension? *Eurosurveillance*, 16(16), 6. Tiré de <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19844>
- Association Française de Normalisation (AFNOR). (2006). *Recherche et dénombrement de Legionella spp et de Legionella pneumophila - Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation.*
- Association Française de Normalisation (AFNOR). (2008). *Recherche et dénombrement des Legionella - Partie 2 : Méthode par filtration directe sur membrane pour les eaux à faible teneur en bactéries.*
- Association Française de Normalisation (AFNOR). (2010). *Qualité de l'eau - Détection et quantification des Legionella et/ou Legionella pneumophila par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (RT-PCR).*
- Australian/New Zealand Standard (AS/NZS). (2011). *Air-handling and water systems of buildings- Microbial control. Part 3: Performance-based maintenance of cooling water systems.*

- Austrian Standards Institute. (2007). *Hygienerelevante Planung, Ausführung, Betrieb, Wartung, Überwachung und Sanierung von zentralen Trinkwasser-wärmungsanlagen*.
- Azuma, K., Uchiyama, I., & Okumura, J. (2013). Assessing the risk of Legionnaires' disease: The inhalation exposure model and the estimated risk in residential bathrooms. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 65(1), 1-6. doi: 10.1016/j.yrtph.2012.11.003
- Bargellini, A., Marchesi, I., Righi, E., Ferrari, A., Cencetti, S., Borella, P., & Rovesti, S. (2011). Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: Association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Research*, 45(6), 2315-2321. doi: 10.1016/j.watres.2011.01.009
- Bartram, J., Chartier, Y., Lee, J. V., Pond, K., & Surman-Lee, S. (2007). *Legionella and the prevention of legionellosis*. Geneva: World Health Organization 2007.
- BASF SE. (2009). Protectol and Myacide Bronopol Product 12.
- Behets, J., Declerck, P., Delaedt, Y., Creemers, B., & Ollevier, F. (2007). Development and evaluation of a Taqman duplex real-time PCR quantification method for reliable enumeration of *Legionella pneumophila* in water samples. *Journal of Microbiological Methods*, 68(1), 137-144.
- Bentham, R. H. (2000). Routine sampling and the control of *Legionella* spp. In cooling tower water systems. *Current Microbiology*, 41(4), 271-275. doi: 10.1007/s002840010133
- Bentham, R. H., & Broadbent, C. R. (1993). A model for autumn outbreaks of Legionnaires' disease associated with cooling towers, linked to system operation and size. *Epidemiology and infection*, 111(2), 287-295. Tiré de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2271390/>
- Berk, S. G., Gunderson, J. H., Newsome, A. L., Farone, A. L., Hayes, B. J., Redding, K. S., . . . Farone, M. B. (2006). Occurrence of infected amoebae in cooling towers compared with natural aquatic environments: implications for emerging pathogens. *Environmental Science and Technology*, 40(23), 7440-7444. Tiré de <http://pubs.acs.org/cgi-bin/sample.cgi/esthag/2006/40/i23/pdf/es0604257.pdf>
- Bodet, C., Sahr, T., Dupuy, M., Buchrieser, C., & Héchard, Y. (2012). *Legionella pneumophila* transcriptional response to chlorine treatment. *Water Research*, 46(3), 808-816. doi: 10.1016/j.watres.2011.11.059
- Boulos, L., Prévost, M., Barbeau, B., Coallier, J., & Desjardins, R. (1999). LIVE/DEAD[®] BacLight[™]: application of a new rapid staining method for direct enumeration of viable and total bacteria in drinking water. *Journal of Microbiological Methods*, 37(1), 77-86. Tiré de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701299000482>
- Brunkard, J. M., Ailes, E., Roberts, V. A., Hill, V., Hilborn, E. D., Craun, G. F., . . . Yoder, J. S. (2011). Surveillance for waterborne disease outbreaks associated with drinking water-United States, 2007-2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, 60(ss12), 38-68. Tiré de <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/ss/ss6012.pdf>
- BSR/ASHRAE. (2013). *Prevention of legionellosis associated with building water systems*.

- Buchbinder, S., Trebesius, K., & Heesemann, J. (2002). Evaluation of detection of *Legionella* spp. in water samples by fluorescence in situ hybridization, PCR amplification and bacterial culture. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(3-4), 241-245.
- Buse, H. Y., Schoen, M. E., & Ashbolt, N. J. (2012). *Legionellae* in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predict exposure. *Water Research*, 46(4), 921-933. doi: 10.1016/j.watres.2011.12.022
- Carducci, A., Verani, M., & Battistini, R. (2010). *Legionella* in industrial cooling towers: monitoring and control strategies. *Letters in Applied Microbiology*, 50(1), 24-29. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02750.x
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ). (2013). *Protocole d'échantillonnage de l'eau du circuit des tours de refroidissement pour la recherche des légionelles*.
- Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB). (2012). *Guide technique - Maîtrise du risque de développement des légionelles dans les réseaux d'eau chaude sanitaire - Défaillances et préconisations*.
- Cervero-Arago, S., Rodriguez-Martinez, S., Canals, O., Salvado, H., & Araujo, R. M. (2013). Effect of thermal treatment on free-living amoeba inactivation. *Journal of Applied Microbiology*. doi: 10.1111/jam.12379
- Chambre Régionale de Commerce et de l'Industrie de Bourgogne (CRCI). (2009). Optimisez votre énergie Guide pratique à destination du secteur hôtellerie et restauration (p. 84).
- Ciesielski, C. A., Blaser, M. J., & Wang, W. L. (1984). Role of stagnation and obstruction of water flow in isolation of legionella pneumophila from hospital plumbing. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(5), 984-987. Tiré de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6508313>
- Cirillo, J. D., Cirillo, S. L. G., Yan, L., Bermudez, L. E., Falkow, S., & Tompkins, L. S. (1999). Intracellular growth in *Acanthamoeba castellanii* affects monocyte entry mechanisms and enhances virulence of *Legionella pneumophila*. *Infection and Immunity*, 67(9), 4427-4434. Tiré de <http://iai.asm.org/content/67/9/4427.abstract>
- Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ), & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ). (2013). *Bonnes pratiques plomberie - Conception d'une boucle de recirculation d'eau chaude (partie 1)* (p. 4).
- Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ), & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ). (2013a). *Bonnes pratiques plomberie - Conception d'une boucle de recirculation d'eau chaude (partie 1)*. Tiré de https://www.rbq.gouv.qc.ca/publications.html?tx_cspqlistagedam_pi2%5Bkeyword%5D=fiche
- Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ), & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ). (2013b). *Bonnes pratiques plomberie - Conception d'une boucle de recirculation d'eau chaude (Partie 2)*. Tiré de

https://www.rbq.gouv.qc.ca/publications.html?tx_cspqlistagedam_pi2%5Bkeyword%5D=fiche

- Corporation des maîtres mécaniciens en tuyauterie du Québec (CMMQ), & Régie du Bâtiment du Québec (RBQ). (2013c). *Bonnes pratiques plomberie - Nouvelle réglementation sur la température de l'eau chaude*. Tiré de https://www.rbq.gouv.qc.ca/publications.html?tx_cspqlistagedam_pi2%5Bkeyword%5D=fiche
- Craun, G. F., Brunkard, J. M., Yoder, J. S., Roberts, V. A., Carpenter, J., Wade, T., . . . Roy, S. L. (2010). Causes of outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 507-528.
- Cristina, M. L., Spagnolo, A. M., Casini, B., Baggiani, A., Del Giudice, P., Brusaferrro, S., . . . Orlando, P. (2014). The impact of aerators on water contamination by emerging gram-negative opportunists in at-risk hospital departments. *Infection control and hospital epidemiology*, 35(2), 122-129. doi: 10.1086/674863
- Department of Health (DH), & Estates and Facilities Division. (2006). *Water systems : health technical memorandum 04-01 : The control of Legionella, hygiene, "safe" hot water, cold water and drinking water systems. Part B: Operational management*. London: Stationery Office.
- Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung - TrinkwV 2001) (2001).
- Duda, S., Stout, J. E., & Vidic, R. (2011). Biological control in cooling water systems using nonchemical treatment devices. *HVAC&R Research*, 17(5), 872-890. doi: 10.1080/10789669.2011.587588
- Dupuy, M., Mazoua, S., Berne, F., Bodet, C., Garrec, N., Herbelin, P., . . . Héchard, Y. (2011). Efficiency of water disinfectants against *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba*. *Water Research*, 45(3), 1087-1094. doi: 10.1016/j.watres.2010.10.025
- DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water. (2004). *Technical Rule: Code of Practice W 551. Drinking water heating and drinking water piping systems; technical measures to reduce Legionella growth; design, construction, operation and rehabilitation of drinking water installations*.
- Expert Panel. (2005). *Report card: progress in protectiong the public's health. Report of the expert panel on the legionnaires' disease outbreak in the city of Toronto*. The expert panel on the legionnaires'disease outbreak.
- Fields, B. S., Benson, R. F., & Besser, R. E. (2002). *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3), 506-526. Tiré de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=118082&blobtype=pdf>
- Fittipaldi, M., Codony, F., Adrados, B., Camper, A., & Morató, J. i. (2011). Viable real-time PCR in environmental samples: can all data be interpreted directly? *Microbial Ecology*, 61(1), 7-12. Tiré de <http://www.springerlink.com/content/h58rtt2115h73377/fulltext.pdf>

- Flemming, H.-C., Percival, S. L., & Walker, J. T. (2002). Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2(1), 271-280. Tiré de Il y a une copie papier dans la salle des archives
- Flemming, H. C., & Geesey, G. G. (1990). *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*. Berlin, RFA: Springer-Verlag Publishers.
- Garduno, R. A., Garduno, E., Hiltz, M., & Hoffman, P. S. (2002). Intracellular growth of *Legionella pneumophila* gives rise to a differentiated form dissimilar to stationary-phase forms. *Infection and Immunity*, 70(11), 6273-6283. Tiré de <http://iai.asm.org/cgi/reprint/70/11/6273>
- Giao, M. S., Wilks, S. A., Azevedo, N. F., Vieira, M. J., & Keevil, C. W. (2008). Validation of SYTO 9/Propidium iodide uptake for rapid detection of viable but noncultivable *Legionella pneumophila*. *Microbial Ecology* 1-7. Tiré de <http://www.springerlink.com/content/h6173050h406l274/fulltext.pdf>
- Goupil-Sormany, I., & Huot, C. (2012). *Éclosion de légionellose dans la ville de Québec , Québec, Canada, été 2012*. Rapport du directeur de Santé publique François Desbiens.
- Règlement sur l'économie de l'énergie dans les nouveaux bâtiments, chapitre E-1.1, r. 1 C.F.R. (1983).
- Gouvernement du Québec. (2002). *Code de construction. Chapitre III - Plomberie*.
- Gouvernement du Québec. (2010a). *Guide d'intervention : la légionellose dans la communauté - Edition 2009*.
- Gouvernement du Québec. (2010b). *Loi sur la santé et la sécurité du travail*. Tiré de http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=2&file=/S_2_1/S2_1.html
- Gouvernement du Québec. (2012). *Décret 1202-2012, 12 décembre 2012. Règlement modifiant le code de construction*. Gazette officielle du Québec, 27 décembre 2012
- Gouvernement du Québec. (2013). *Décret 232-2013, 20 mars 2013.*: Gazette officielle du Québec, 27 mars 2013.
- Gouvernement du Québec. (2014). *Décret 454-2014, 21 mai 2014*. Gazette officielle du Québec, 28 mai 2014
- Health and Safety Executive (HSE). (2000). *Legionnaires' disease. The control of Legionella bacteria in water systems approved Code of Practice and guidance*.
- Health and Safety Executive (HSE). (2013a). *Legionnaires'disease: Technical guidance. Part 1: The control of legionella bacteria in evaporative cooling systems*.
- Health and Safety Executive (HSE). (2013b). *Legionnaires'disease: Technical guidance. Part 2: The control of legionella bacteria in hot and cold water systems*.
- Health and Safety Executive (HSE). (2013c). *Legionnaires' disease: Technical guidance. Part 3: The control of legionella bacteria in other risk systems*.

- Heuner, K., & Swanson, M. (2008). *Legionella : molecular microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- Hilborn, E. D., Covert, T. C., Yakrus, M. A., Harris, S. I., Donnelly, S. F., Rice, E. W., . . . Stelma Jr., G. N. (2006). Persistence of nontuberculous mycobacteria in a drinking water system after addition of filtration treatment. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(9), 5864-5869. Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=16957205>
- Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST). (2013). *Méthode analytique n0 370 - Détection et identification des bactéries du genre Legionella*.
- Joly, P., Falconnet, P.-A., André, J., Weill, N., Reyrolle, M., Vandenesch, F., . . . Jarraud, S. (2006). Quantitative real-time *Legionella* PCR for environmental water samples: data interpretation. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4), 2801-2808. Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/reprint/72/4/2801>
- Kusnetsov, J. M., Martikainen, P. J., Jousimiesomer, H. R., Vaisanen, M. L., Tulkki, A. I., Ahonen, H. E., & Nevalainen, A. I. (1993). Physical, chemical and microbiological water characteristics associated with the occurrence of legionella in cooling-tower systems. *Water Research*, 27(1), 85-90.
- Kusnetsov, J. M., Tulkki, A. I., Ahonen, H. E., & Martikainen, P. J. (1997). Efficacy of three prevention strategies against legionella in cooling water systems. *Journal of applied microbiology*, 82(6), 763-768. doi: 10.1046/j.1365-2672.1997.00151.x
- Laferrière, C., Prévost, M., & Bédard, E. (2013). *L'environnement des centres de santé à la hauteur des interventions médicales des années 2010-2050*. Communication présentée à AIPI - 35e journées scientifiques Boucherville, QC, Canada.
- Laferrière, C., Prévost, M., Bédard, E., Lalancette, C., & Déziel, E. (2012). *L'environnement des centres de santé à la hauteur des interventions médicales des années 2010-2050*. Communication présentée à Grandir en Santé, Montréal, QC, Canada.
- Lau, H. Y., & Ashbolt, N. J. (2009). The role of biofilms and protozoa in *Legionella* pathogenesis: implications for drinking water. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 368-378.
- Laurent, P., Besner, M. C., Servais, P., Gauthier, V., Prévost, M., & Camper, A. (2005). Water quality in drinking water distribution systems (Chapter 5). Dans M. Prévost, P. Laurent, P. Servais & J. C. Joret (Édit.), *Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution* (1^e éd., p. 205-284). Denver, Colorado, USA: American Water Works Association.
- Laurent, P., Servais, P., Gauthier, V., Prévost, M., Joret, J.-C., & Block, J. C. (2005). Biodegradable organic matter and bacteria in drinking water distribution systems (Chapter 4). Dans M. Prévost, P. Laurent, P. Servais & J. C. Joret (Édit.), *Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution* (1^e éd., p. 147-204). Denver, Colorado, USA: American Water Works Association.
- Lecointe, D., Fagundez, E., Pierron, P., Musset, J. P., Brissé, P., Vollereau, D., . . . Fèvre, C. (2010). Gestion des risques liés aux légionelles dans un centre hospitalier multisites : retour

- d'expérience de plus de six années. *Pathologie Biologie*, 58(2), 131-136. Tiré de <http://dx.doi.org/10.1016/j.patbio.2009.07.036>
- Lee, J. V., Lai, S., Exner, M., Lenz, J., Gaia, V., Casati, S., . . . Surman-Lee, S. (2011). An international trial of quantitative PCR for monitoring *Legionella* in artificial water systems. *Journal of Applied Microbiology*, 110(4), 1032-1044. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.04957.x
- Lee, J. V., & Surman, S. B. (2002). *Sampling of households for Legionella species*. Tiré de <http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/LegionnairesDisease/Guidelines/>
- Levi, K., Smedley, J., & Towner, K. J. (2003). Evaluation of a real-time PCR hybridization assay for rapid detection of *Legionella pneumophila* in hospital and environmental water samples. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(7), 754-758.
- Lin, Y. E., Stout, J. E., & Yu, V. L. (2011). Prevention of hospital-acquired legionellosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 24(4), 350-356.
- Loret, J. F., Robert, S., Thomas, V., Cooper, A. J., McCoy, W. F., & Lévi, Y. (2005). Comparison of disinfectants for biofilm, protozoa and *Legionella* control. *Journal of Water and Health*, 3(4), 423-433. Tiré de <http://www.iwaponline.com/jwh/003/0423/0030423.pdf>
- Mansi, A., Amori, I., Marchesi, I., Proietto, A. R., Marcelloni, A. M., Ferranti, G., . . . Borella, P. (2014). *Legionella spp.* survival after different disinfection procedures: Comparison between conventional culture, qPCR and EMA-qPCR. *Microchemical Journal*, 112 65-69. doi: 10.1016/j.microc.2013.09.017
- Mavridou, A., Smeti, E., Mandilara, G., Pappa, O., Plakadonaki, S., Grispou, E., & Polemis, M. (2008). Prevalence study of *Legionella spp.* contamination in Greek hospitals. *International Journal of Environmental Health Research*, 18(4), 295-304. doi: 10.1080/09603120801966035
- Maynard, C., Berthiaume, F., Lemarchand, K., Harel, J., Payment, P., Bayardelle, P., . . . Brousseau, R. (2005). Waterborne pathogen detection by use of oligonucleotide-based microarrays. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8548-8557. Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/reprint/71/12/8548>
- Mérault, N., Rusniok, C., Jarraud, S., Gomez-Valero, L., Cazalet, C., Marin, M., . . . Buchrieser, C. (2011). Specific real-time PCR for simultaneous detection and identification of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in water and clinical samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), 1708-1717. Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/77/5/1708>
- Merchat, M. (2013a, 16 avril). *Légionelles et installations de refroidissement : gestion du risque* Communication présentée à Formation sur l'entretien des tours de refroidissement à l'eau : l'encadrement réglementaire et la gestion du risque légionellose, Montréal (p. 27).
- Merchat, M. (2013b, 18-19 février,). *Les grands principes des arrêtés ministériels du 13.12.04*. Communication présentée à Présentation à l'Atelier de travail sur les tours de refroidissement, Régie du Bâtiment du Québec, Québec (p. 78).

- Moore, G., & Walker, J. (2014). Chapter Seventeen - Presence and Control of *Legionella pneumophila* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in Hospital Water Systems. Dans S. L. Percival, D. W. Williams, J. Randle & T. Cooper (Édit.), *Biofilms in Infection Prevention and Control* (p. 311-337). Boston: Academic Press.
- Moore, M. R., Pryor, M., Fields, B., Lucas, C., Phelan, M., & Besser, R. E. (2006). Introduction of monochloramine into a municipal water system: Impact on colonization of buildings by *Legionella* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(1), 378-383. Tiré de <http://aem.asm.org/content/72/1/378.short>
- Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR). (1997). Guidelines for prevention of Nosocomial Pneumonia. *Centers for Disease Control and Prevention*, 46(RR-1), 1-79.
- Mouchtouri, V., Velonakis, E., Tsakalof, A., Kapoula, C., Goutziana, G., Vatopoulos, A., . . . Hadjichristodoulou, C. (2007). Risk factors for contamination of hotel water distribution systems by legionella species. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(5), 1489-1492. doi: 10.1128/aem.02191-06
- Mouchtouri, V. A., Goutziana, G., Kremastinou, J., & Hadjichristodoulou, C. (2010). *Legionella* species colonization in cooling towers: Risk factors and assessment of control measures. *American Journal of Infection Control*, 38(1), 50-55. doi: 10.1016/j.ajic.2009.04.285
- Nalepa, C. (2004). *25 years of bromine chemistry in industrial water systems: A review* (Rapport n° 04087).
- Napoli, C., Fasano, F., Iatta, R., Barbuti, G., Cuna, T., & Montagna, M. T. (2010). *Legionella* spp. and legionellosis in southeastern Italy: disease epidemiology and environmental surveillance in community and health care facilities. *BMC Public Health*, 10(1), 660. doi: 10.1186/1471-2458-10-660
- Napoli, C., Iatta, R., Fasano, F., Marsico, T., & Montagna, M. T. (2009). Variable bacterial load of *Legionella* spp. in a hospital water system. *Science of the Total Environment*, 408(2), 242-244.
- Organisation Internationale de normalisation (ISO). (1998). *Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des Legionella*. Tiré de Publications_confidentielles
- Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2013). Légionellose. Aide-mémoire N°285 Tiré de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs285/fr/index.html#>
- Perola, O., Kauppinen, J., Kusnetsov, J., Heikkinen, J., Jokinen, C., & Katila, M. L. (2002). Nosocomial *Legionella pneumophila* serogroup 5 outbreak associated with persistent colonization of a hospital water system. *APMIS*, 110(12), 863-868. doi: 10.1034/j.1600-0463.2002.1101204.x
- Prévost, M., Laurent, P., Servais, P., & Joret, J.-C. (2005). *Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution (First Edition)*. Denver, Colorado, USA: American Water Works Association.
- Prévost, M., Rompré, A., Baribeau, H., Coallier, J., & Lafrance, P. (1997). Service lines: their effect on microbiological quality. *Journal of the American Water Works Association*, 89(7), 78-91.

- Quinn, C. J., Molden, T. C., & Sanderson, C. H. (1997). Magnetic treatment of water prevents mineral build-up. *Iron and Steel Engineer* July 47-53.
- Rangel, K. (2010). A systematic review of biocides used in cooling tower for prevention and control of *Legionella* spp. contamination. *Journal of the Cooling Tower Institute*, 31(1), 72.
- Rangel, K. M., Delclos, G., Emery, R., & Symanski, E. (2011). Assessing Maintenance of Evaporative Cooling Systems in Legionellosis Outbreaks. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 8(4), 249-265. doi: 10.1080/15459624.2011.565409
- Régie du bâtiment du Québec (RBQ). (2013). *Guide explicatif sur l'entretien des tours de refroidissement à l'eau*.
- Régie du bâtiment du Québec (RBQ). (2014). *Modifications du Québec applicables au Code national de la plomberie Canada 2010* (Publication n° Code de construction du Québec, chapitre III, Plomberie).
- République Française. (2005a). *Arrêté du 30 novembre 2005 modifiant l'arrêté du 23 juin 1978 relatif aux installations fixes destinées au chauffage et à l'alimentation en eau chaude sanitaire des bâtiments d'habitation, des locaux de travail ou des locaux recevant du public* (Publication n° JORF n°291 du 15 décembre 2005 page 19295, texte n° 36).
- République Française. (2005b). *Circulaire n°DGS/SD7A/DHOS/E4/DGAS/SD2/2005/493 du 28 octobre 2005 relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements sociaux et médico-sociaux d'hébergement pour personnes âgées*.
- République Française. (2005c). *Guide technique de l'eau dans les établissements de santé*. Tiré de <http://www.sante.gouv.fr/eau-dans-les-etablissements-de-sante.html>
- République Française. (2010a). *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* (JORF n°0033 du 9 février 2010) (Publication n° NOR: SASP1002960A).
- République Française. (2010b). *Circulaire N° DGS/EA4/2010/448 du 21 décembre 2010 relative aux missions des Agences régionales de santé dans la mise en oeuvre de l'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*.
- République Française, & Ministère de la Santé et des Solidarités. (2005). *L'eau dans les établissements de santé (Guide technique)* (Publication n° République Française). Paris, France: Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins, Direction Générale de la Santé. Tiré de http://www.cclinparisnord.org/ACTU_DIVERS/ministEAU2005.pdf
- Rogers, J., Dowsett, A. B., Dennis, P. J., Lee, J. V., & Keevil, C. W. (1994). Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6), 1842-1851. Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/60/6/1842>
- Rudel-Tessier, C. (2012). *Rapport d'enquête sur les causes et les circonstances des décès de Claude Desjardins, Yves Lepage, Gérard Verret, Hélène Lessard, Marguerite Jacques, Lucie Ouellet, Roland Hamel, Colette Simard, Marcel Lamontagne, Guy Morin, Gabrielle Côté, Carolle Leclerc, Pierre Champagne et Roland Ouellet*.

- Saby, S., Vidal, A., & Suty, H. (2005). Resistance of *Legionella* to disinfection in hot water distribution systems. *Water science and technology* 52(8), 15-28. Tiré de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16312947>
- Schoen, M. E., & Ashbolt, N. J. (2011). An in-premise model for *Legionella* exposure during showering events. *Water research*, 45(18), 5826-5836. doi: 10.1016/j.watres.2011.08.031
- Serrano-Suarez, A., Dellunde, J., Salvado, H., Cervero-Arago, S., Mendez, J., Canals, O., . . . Araujo, R. (2013). Microbial and physicochemical parameters associated with *Legionella* contamination in hot water recirculation systems. *Environmental science and pollution research international*, 20(8), 5534-5544. doi: 10.1007/s11356-013-1557-5
- Sonder, G. J., van den Hoek, J. A., Bovée, L. P., Aanhanne, F. E., Worp, J., Du Ry van Beest Holle, M., . . . Coutinho, R. A. (2008). Changes in prevention and outbreak management of Legionnaires disease in the Netherlands between two large outbreaks in 1999 and 2006. *Euro surveillance*, 13(38), pii 18983.
- Steinert, M., Hentschel, U., & Hacker, J. (2002). *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2), 149-162. Tiré de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00607.x/pdf>
- Stout, J. E., Best, M. G., & Yu, V. L. (1986). Susceptibility of members of the family *Legionellaceae* to thermal stress: implications for heat eradication methods in water distribution systems. *Applied Environmental Microbiology*, 52(2), 396-399. Tiré de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3752999>
- Sydnor, E. R., Bova, G., Gimburg, A., Cosgrove, S. E., Perl, T. M., & Maragakis, L. L. (2012). Electronic-eye faucets: *Legionella* species contamination in healthcare settings. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 33(3). Tiré de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22314059>
- Tanji, Y., Nishihara, T., & Miyanaga, K. (2007). Iron dependent degradation of an isothiazolone biocide (5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one). *Biofouling*, 23(2), 73-77. doi: 10.1080/08927010601149729
- Technical Committee CEN/TC 164 “Water supply”, C. T. (2009). *Influence of metallic materials on water intended for human consumption- Dynamic rig test for assessment of surface coatings with nickel layers —Long-term test method*.
- Thomas, W. M., Eccles, J., & Fricker, C. (1999). *Laboratory observations of biocide efficiency against Legionella in model cooling tower systems*.
- Valster, R. M., Wullings, B. A., & van der Kooij, D. (2010). Detection of protozoan hosts for *Legionella pneumophila* in engineered water systems by using a biofilm batch test. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(21), 7144-7153. Tiré de <http://aem.asm.org/cgi/content/abstract/76/21/7144>
- van der Kooij, D., & van der Wielen, P. W. J. J. (2014). *Microbial growth in drinking water supplies : problems, causes, control and research needs*. London: IWA.
- von Baum, H., Ewig, S., Marre, R., Suttorp, N., Gonschior, S., Welte, T., . . . Group, C. N. f. C. A. P. S. (2008). Community-acquired *Legionella pneumonia*: new insights from the german

- competence network for community acquired *pneumonia*. *Clinical Infectious Diseases*, 46(9), 1356-1364. doi: 10.1086/586741
- Wadowsky, R. M., Wolford, R., McNamara, A. M., & Yee, R. B. (1985). Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring *Legionella pneumophila* in potable water. *Applied and environmental microbiology*, 49(5), 1197-1205. Tiré de <http://aem.asm.org/content/49/5/1197>
- Walker, J. T., Jhutti, A., Parks, S., Willis, C., Copley, V., Turton, J. F., . . . Bennett, A. M. (2014). Investigation of healthcare-acquired infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in taps in neonatal units in Northern Ireland *Journal of Hospital Infection*, 86(1), 16–23. Tiré de <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2013.10.003>
- Walser, S. M., Gerstner, D. G., Brenner, B., Höller, C., Liebl, B., & Herr, C. E. W. (2014). Assessing the environmental health relevance of cooling towers – A systematic review of legionellosis outbreaks *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 217(2-3). doi: 10.1016/j.ijheh.2013.08.002
- Wellinghausen, N., Frost, C., & Marre, R. (2001). Detection of *legionellae* in hospital water samples by quantitative real-time LightCycler PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 3985-3993.
- World Health Organization (WHO). (2011). *Water safety in buildings*. Tiré de http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548106_eng.pdf
- Yaradou, D. F., Hallier-Soulier, S., Moreau, S., Poty, F., Hillion, Y., Reyrolle, M., . . . Jarraud, S. (2007). Integrated real-time PCR for detection and monitoring of *Legionella pneumophila* in water systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(5), 1452-1456.
- Yee, R. B., & Wadowsky, R. M. (1982). Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap water. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(6), 1330-1334 Tiré de <http://aem.asm.org/content/43/6/1330.short>
- Yu, V. L., Plouffe, J. F., Pastoris, M. C., Stout, J. E., Schousboe, M., Widmer, A., . . . Cheresky, A. (2002). Distribution of *Legionella* species and serogroups isolated by culture in patients with sporadic community-acquired legionellosis: an international collaborative survey. *The Journal of Infectious Diseases*, 186(1), 127-128. Tiré de <http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/341087>

ANNEXE 1 – Protocole d'échantillonnage en milieu hospitalier

Objectifs :

- Évaluer les profils de température en eau chaude et en eau froide en 25 différents points du réseau et mesurer la présence d'un résiduel de chlore.
- Évaluer la présence de *L. pneumophila* par culture et qPCR

Nombre de points : 25 pts X 2 (eau chaude et froide) = 50

Analyses requises : Chlore résiduel et total, température, pH, conductivité, *L. pneumophila*

Protocoles :

A. Caractérisation des points

1. Pour chaque point à échantillonner, prendre les photos suivantes :
 - a. Numéro de local
 - b. Environnement autour du lavabo (minimum 1m)
 - c. Lavabo dans son ensemble (robinet bien visible)
 - d. Tuyauterie de raccord (dans le mur et au robinet)
 - e. Drain
 - f. Drain/robinet avec un gabarit quadrillé de référence en arrière plan pour évaluer la distance et l'angle
 - g. Avec le même gabarit, prendre en photo l'écoulement de l'eau dans le lavabo (à grand débit)
 - h. Photo montrant l'aérateur (macro)
 - i. Le filtre de l'aérateur une fois dévissé du robinet
2. Noter le **diamètre de la conduite** provenant du mur **et** du raccord au lavabo ainsi que le **matériel** de la conduite de raccord.

(Exemple matériaux de raccord : cuivre, cuivre rigide chromé, tressé flexible etc.)

3. Évaluer de façon qualitative le **vitesse de drainage** lorsque le robinet est ouvert au maximum et commenter sur le **potentiel d'éclaboussure** (*Beaucoup, peu ou pas d'aérosol et la distance d'éclaboussure*).
4. Commenter l'état de l'aérateur (*présence de dépôt, état de colmatage, couleur*).

B. Caractérisation du réseau (autre que les profils)

1. La première journée d'échantillonnage, les caractéristiques de l'entrée d'eau principale, de la sortie des 3 chauffe-eau et des retours de boucles devront être relevés. Pour ce faire :
 - a. Rincer 3 minutes en fixant un boyau à l'entrée d'eau vers le drain;
 - b. Prélever 1 L dans la bouteille d'un litre pour la micro

- c. Prélever 250 ml pour mesurer la température (mesurer immédiatement). Le pH, le Cl_2 résiduel et total et la conductivité seront ensuite mesurés.
2. Prendre la température à différents endroits dans le réseau d'eau chaude : au début des colonnes de distribution, à certains étages, etc.

C. Profils de température

1. Pour chaque point d'échantillonnage dans l'hôpital, ouvrir le robinet d'eau froide à débit moyen (1 - 2 L/min – environ 10 sec pour remplir une bouteille de 250 ml). Prélever dès le premier jet dans l'ordre indiqué au tableau et mesurer les paramètres tel qu'indiqué sur la feuille terrain.

Eau froide :

	Temps (min)	Volume (ml)
A	1 ^{er} jet	250
B		250
C		500
D		500
E		500
F	0,5	250
G	5	250
H	10	250

(Giao, Wilks,
Azevedo,

Eau chaude :

	Temps (min)	Volume (ml)
A	1 ^{er} jet	250
B		250
C		500
D		500
E		500
F	0,5	250
G	5	250
H	10	250
I	20	250
J	40	250
K	60	250

3. Partir le chrono après le premier 2 L à débit moyen.

En eau froide :

4. Mesurer la température et le chlore résiduel le plus rapidement possible. Mesurer le chlore total pour les points A, E et H seulement.
5. Évaluer le débit entre F et G et à la fin de l'échantillonnage pour l'eau froide et l'eau chaude
6. Prélever 250 ml d'eau dans la bouteille identifiée «pH» entre les prélèvements G et H. Le pH est mesuré ultérieurement.
7. Faire l'eau chaude tout de suite après l'eau froide.
8. En eau chaude, mettre la sonde de température dans la bouteille pendant le prélèvement si possible.

D. Caractérisation du réseau : échantillonnage des chauffe-eau et entrée d'eau

1. La première journée les vannes où les échantillons seront prélevés; l'entrée d'eau principale, la sortie des systèmes de chauffe-eau ainsi que leurs boucles de recirculation respectives, doivent être identifiées. Le bon fonctionnement des **vannes** doit être **vérifié** puis les soupapes doivent être **nettoyées** au moyen de lingette d'alcool.
2. L'entrée d'eau principale, la sortie des 4 systèmes indépendants de chauffe-eau et des 5 boucles de recirculation devront être échantillonnées et caractérisées. Pour se faire :
 - a. Purger environ 1 L dans une chaudière;
 - b. Nettoyer la soupape à l'aide de lingette d'alcool et d'eau milli-Q;
 - c. Prélever 1 L dans la bouteille d'un litre pour la micro et remettre à Jacinthe
 - d. Prélever 250 ml pour la température (mesurer immédiatement). Le pH, le Cl₂ résiduel et total et la conductivité sont mesurés.
3. Prendre la **température** aux sorties des chauffe-eau et aux boucles de recirculation sur les thermomètres en place ou à l'aide de multimètre **à différents moments de la journée**.

E. Microbiologie

1. Pour les mêmes points d'échantillonnage :
 - a. Faire un frotti du drain avant de faire couler l'eau et mettre sur chaque côté du pétri double
 - b. Prélever 1L du premier jet d'eau chaude dans des bouteilles stériles (A et B)
 - c. Faire un frotti de l'aérateur (après avoir prélevé l'eau) et mettre sur pétri double
2. Séparer les échantillons : la moitié pour la culture, le reste pour la filtration;
3. Filtrer stérilement le volume restant à l'aide d'un cône jetable stérile de 300 ml (Pall)
4. Rincer le cône avec de l'eau stérile
5. Déposer le filtre sur une boîte de pétri stérile
6. À l'aide de pinces stériles, rouler le filtre, replier le rouleau et insérer le filtre roulé dans un tube d'extraction stérile identifié
7. À l'aide de petits ciseaux stériles (éthanol + flambés), couper le filtre roulé en 4 à l'intérieur du tube
8. Conserver le tube à -20°C

ANNEXE 2 PROTOCOLE DE L'HÔPITAL SAINTE-JUSTINE POUR LA DÉTECTION DE *LEGIONELLA*

1. **CATÉGORIE :** CULTURES D'ENVIRONNEMENT POUR LEGIONELLA

2. **ÉCHANTILLON :** Eau chaude

3. **PRINCIPE :**

- a) Collectionner de façon aseptique l'eau à cultiver : 200 ml dans les contenants préstérilisés (fait par l'infirmière en prévention des infections).
- b) Centrifuger à 10 000 RPM X 30 minutes à la température 4°C (centrifugeuse se trouve au laboratoire d'hématologie).
- c) Séparer le surnageant du culot, ajuster à 2 ml avec eau stérile, vortexer.
- d) Cultiver sur BCYE et BCYE+GPV (glycine, polymixine B, vancomycine).
 - 100 µl de l'eau non diluée (culot)
 - 100 µl de l'eau diluée (500 µl/4.5ml d'eau distillée)
- e) Incubation à 35°C air ambiant, 50% hum. dans un sac de plastique fermé pour un maximum de 10 jours ou entourer de paraffine pour éviter la déshydratation du milieu.
- f) Examiner les géloses die pour les colonies suspectes.
- g) Identifier selon le protocole de Legionella.
- h) Désinfecter les contenants avec du Javex 10%. Laisser en contact 30 minutes.

Ajout d'un
prétraitement à
la chaleur après

4. **VALIDATION DU PROTOCOLE :**

- Date de rédaction **version 1** : 1999/02/19 : Céline Lafrenière
- Date de révision **version 1** : 1999/02/23 : Céline Lafrenière

Version 2

- Date de rédaction **version 2** : 2012/11/21 : Céline Lafrenière
- Date de mise en vigueur **version 2** : 2012/11/22 : Céline Lafrenière

Procédure de l'hôpital Sainte-Justine pour la fabrication des géloses de base pour *legionella*

COPIE OFFICIELLE

MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES
BACTÉRIOLOGIE

PON-BACT-0054

Version : 01

Approuvé

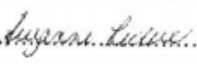
Géloses Legionella de base

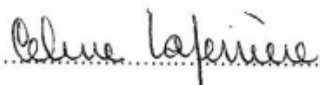
Nom du document : Géloses Legionella de base

Code ID du document : PON-BACT-0054 Version : 01 #Seq.

Statut : Approuvé

Préparé /révisé par : Fabien Rallu Sig : 

Vérifié par : Suzanne Leclerc Sig : 

Approuvé par : Céline Laferrière Sig : 

Date d'entrée en vigueur : 2011-11-28

Date prévue de révision : 2012-11-28

Nombre de page : 4

Localisation du document et des copies :

Procédures originales – microbiologie	2944
Milieux de culture	2916

Autre diffusion : LbxWeb

Commentaires et mises en garde :

Cette procédure est faite pour préparer des géloses Legionella de base à partir de la poudre BCYE de BD. Elle sera à revoir si le fournisseur change car le pyrophosphate de fer n'est pas inclus dans toutes les préparations.

Préparé par: Fabien Rallu	Vérifié par: Suzanne Leclerc	Approuvé par: Céline Laferrière	Date d'entrée en vigueur: 2011-11-28	Page 1 de 4
-------------------------------------	--	---	--	-----------------------



MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES

BACTÉRIOLOGIE

Géloses Legionella de base

COPIE OFFICIELLE
COPIE OFFICIELLE
PON-BACT-0054

Version : 01

Approuvé

1. INGRÉDIENTS :

BCYE agar base (BD)	38,3 g
L-Cystéine 10%	4 ml
KOH	2,4 g
Eau osmosée	1 000 ml

2. MESURES DE SÉCURITÉ :

Peser toutes les poudres sous la hotte chimique.

3. PRÉPARATION :

- Préparation de la solution de L-Cystéine 10% :

L-Cystéine : 0,5 g
Eau osmosée : 5 ml
Stériliser à l'aide d'un filtre 0,2 µm
Utiliser dans la même journée.

- Dans un contenant en verre, mélanger :

Eau osmosée : 1 000 ml
BCYE agar base : 38,3 g
KOH : 2,4 g

- Autoclaver 20 min à 121°C, 15 lbs de pression

- Laisser refroidir au bain marie à 56°C

- Ajouter 4 ml de L-Cystéine 10%

- Ajuster le pH de cette solution à $6,85 \pm 0,1$

- Distribuer 20 ml dans des boîtes de Petri 100x15mm

- Laisser figer à température de la pièce.

- Inscrire Legionella sur les boîtes de Petri

4. PROPRIÉTÉS

pH : $6,85 \pm 0,1$

Couleur : Noir

Aspect : Solide

Format : Boîtes de Petri 100x 15mm

Conservation : Quatre semaines à 4 °C

Préparé par: Fabien Rallu	Vérifié par: Suzanne Leclerc	Approuvé par: Céline Laferrière	Date d'entrée en vigueur: 2011-11-28	Page 2 de 4
------------------------------	---------------------------------	------------------------------------	---	----------------



MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES BACTÉRIOLOGIE

COPIE OFFICIELLE
PON-BACT-0034

Géloses Legionella de base

Version : 01

Approuvé

5. UTILISATION :

Les géloses Legionella sont utilisées pour la recherche de *Legionella* sp. dans des échantillons cliniques.

6. ÉLIMINATION :

Toutes les géloses utilisées ou périmées sont acheminées à la laverie pour élimination par une firme spécialisée.

7. CONTRÔLE DE QUALITÉ :

7.1. Stérilité

Tester la stérilité de chaque nouveau lot en incubant 5 géloses à 35°C en O₂ pendant 72 heures

7.2. Performance

Pour chaque nouveau lot, tester la croissance des souches suivantes à 35° en O₂ pendant 4 jours.

Legionella pneumophila : ATCC 33152

Legionella bozemanii : ATCC 33217

Escherichia coli : ATCC 25922

Staphylococcus aureus : ATCC 25923

7.3. Résultats

Legionella pneumophila : Croissance

Legionella bozemanii : Croissance

Escherichia coli : Pas de croissance

Staphylococcus aureus : Pas de croissance

8. RÉFÉRENCES :

- (1) MacFaddin JF. (1985). Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria (Vol1). Williams&Wilkins. Baltimore Md.
- (2) Atlas RM, Snyder JW. (1995). Handbook of Media for Clinical Microbiology. CRC Press. Boca Raton Fl.
- (3) Chapin KC, Lauderdale TL. Reagents, stains and media : Bacteriology. In: Murray PR (ed), Manual of Clinical Microbiology, 9th edition. ASM press, Washington, DC, 2007, pp. 334-364.
- (4) Quality control for commercially prepared microbiological culture media; approved standard – third edition. CLSI document M22-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2004.

Préparé par: Fabien Rallu	Vérifié par: Suzanne Leclerc	Approuvé par: Céline Laferrière	Date d'entrée en vigueur: 2011-11-28	Page 3 de 4
------------------------------	---------------------------------	------------------------------------	---	----------------

Procédure de l'hôpital Sainte-Justine pour la fabrication des géloses pour *legionella* avec antibiotiques



CHUJ Sainte-Justine
Le centre hospitalier
enfant de la région
Pour l'amour des enfants
Université de Montréal

MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES
BACTÉRIOLOGIE

Géloses *Legionella* environnement

COPIE OFFICIELLE
PON-BACT-0055

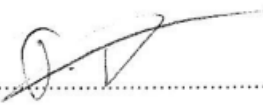
Version : 01

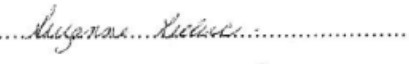
Approuvé

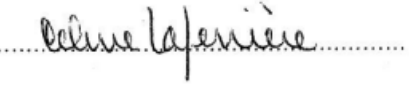
Nom du document : Géloses *Legionella* environnement

Code ID du document : PON-BACT-0055 Version : 01 #Seq.

Statut : Approuvé

Préparé /révisé par : Fabien Rallu Sig : 

Vérifié par : Suzanne Leclerc Sig : 

Approuvé par : Céline Laferrière Sig : 

Date d'entrée en vigueur : 2011-11-28

Date prévue de révision : 2012-11-28

Nombre de page : 4

Localisation du document et des copies :

Procédures originales – microbiologie	2944
Milieux de culture	2916

Autre diffusion : LbxWeb

Commentaires et mises en garde :

Cette procédure est faite pour préparer des géloses *Legionella* de base à partir de la poudre BCYE de BD. Elle sera à revoir si le fournisseur change car le pyrophosphate de fer n'est pas inclus dans toutes les préparations.

Préparé par:	Vérifié par:	Approuvé par:	Date d'entrée en vigueur:	Page
Fabien Rallu	Suzanne Leclerc	Céline Laferrière	2011-11-28	1 de 4



**MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES
BACTÉRIOLOGIE**

COPIE OFFICIELLE
PON-BACT-0055

Géloses *Legionella* environnement

Version : 01

Approuvé

1. INGRÉDIENTS :

BCYE agar base (BD)	38,3 g
L-Cystéine 10%	4 ml
KOH	2,4 g
Vancomycine 5 000 µg/ml	1 ml
Polymixine B	2,3ml (100 000U)
Eau osmosée	1 000 ml

2. MESURES DE SÉCURITÉ :

Peser toutes les poudres sous la hotte chimique.

3. PRÉPARATION :

- Préparation de la solution de L-Cystéine (10%) :

L-Cystéine : 0,5 g
Eau osmosée : 5 ml
Stériliser à l'aide d'un filtre 0,2 µM
Utiliser dans la même journée.

- Préparation de la solution de vancomycine (5 000 µg/ml) :

Vancomycine : 75 mg
Eau osmosée : 15 ml
Stériliser à l'aide d'un filtre 0,2 µM
Aliquoter en 1 ml et conserver à -80°C pour une période maximale de 6mois.

- Préparation de la solution de polymixine B :

Polymixine (8100 U/ml) : 324 mg
Eau osmosée : 60 ml
Stériliser à l'aide d'un filtre 0,2 µM
Aliquoter en 2,5 ml et conserver à -80°C pour une période maximale de 6mois.

- Dans un contenant en verre, mélanger :

Eau osmosée : 1 000 ml
BCYE agar base: 38,3 g
KOH : 2,4 g

- Autoclaver 20 min à 121°C, 15 lbs de pression

- Laisser refroidir au bain marie à 56°C

- Ajouter :**
- 4 ml de la solution de L-Cystéine (10%)
 - 1 ml de la solution de vancomycine (5 000 µg/ml)
 - 2,3 ml de la solution de polymixine B

- Ajuster le pH de cette solution à $6,9 \pm 0,1$

- Distribuer 20 ml dans des boîtes de Petri 100x15mm

Préparé par:	Vérifié par:	Approuvé par:	Date d'entrée en vigueur:	Page
Fabien Rallu	Suzanne Leclerc	Céline Laferrière	2011-11-28	2 de 4



MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES BACTÉRIOLOGIE

Géloses *Legionella* environnement

COPIE OFFICIELLE
COPIE OFFICIELLE
PON-BACT-0055

Version : 01

Approuvé

- Laisser figer à température de la pièce.
- Inscrire *Legionella* environnement sur les boîtes de Petri

4. PROPRIÉTÉS

pH : $6,9 \pm 0,1$

Couleur : Noir

Aspect : Solide

Format : Boîtes de Petri 100x 15mm

Conservation : Quatre semaines à 4 °C

5. UTILISATION :

Les géloses *Legionella* environnement sont des géloses sélectives utilisées pour la recherche de *Legionella* sp. dans des échantillons d'environnement.

6. ÉLIMINATION :

Toutes les géloses utilisées ou périmées sont acheminées à la laverie pour élimination par une firme spécialisée.

7. CONTRÔLE DE QUALITÉ :

7.1. Stérilité

Tester la stérilité de chaque nouveau lot en incubant 5 géloses à 35°C en O₂ pendant 72 heures

7.2. Performance

Pour chaque nouveau lot, tester la croissance des souches suivantes à 35° en O₂ pendant 4 jours.

Legionella pneumophila : ATCC 33152

Legionella bozemanii : ATCC 33217

Escherichia coli : ATCC 25922

Staphylococcus aureus : ATCC 25923

7.3. Résultats

Legionella pneumophila : Croissance

Legionella bozemanii : Croissance

Escherichia coli : Pas de croissance

Staphylococcus aureus : Pas de croissance

Préparé par: Fabien Rallu	Vérifié par: Suzanne Leclerc	Approuvé par: Céline Laferrière	Date d'entrée en vigueur: 2011-11-28	Page 3 de 4
------------------------------	---------------------------------	------------------------------------	---	----------------



**MANUEL DES FORMULAIRES ET PROCÉDURES
BACTÉRIOLOGIE**

**COPIE OFFICIELLE
COPIE OFFICIELLE
PON-BACT-0055**

Géloses Legionella environnement

Version : 01

Approuvé

8. RÉFÉRENCES :

- (1) MacFaddin JF. (1985). Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria (Vol1). Williams&Wilkins. Baltimore Md.
- (2) Atlas RM, Snyder JW. (1995). Handbook of Media for Clinical Microbiology. CRC Press. Boca Raton FL.
- (3) Chapin KC, Lauderdale TL. Reagents, stains and media : Bacteriology. In: Murray PR (ed), Manual of Clinical Microbiology, 9th edition. ASM press, Washington, DC, 2007, pp. 334-364.
- (4) Quality control for commercially prepared microbiological culture media; approved standard – third edition. CLSI document M22-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2004.

9. HISTORIQUE DU DOCUMENT :

La personne soussignée a revu ce document à la date indiquée et l'a reconduit sans modification.

Date	Signature autorisée

Préparé par: Fabien Rallu	Vérifié par: Suzanne Leclerc	Approuvé par: Céline Laferrière	Date d'entrée en vigueur: 2011-11-28	Page 4 de 4
-------------------------------------	--	---	--	-----------------------

ANNEXE 3 – Résultats microbiologiques en milieu hospitalier

Tableau synthèse pour *Legionella* – Culture et PCR

Critère	Culture		PCR			
	absence	présence*	absence	présence		
		50 à 1000 UFC/L		0-100 UG/L	100-1000 UG/L	>1000 UG/L
Pourcentage	83%	17%	63%	13%	20%	3%

*Semi-quantitatif

Résultats de culture pour *Legionella*

Point	<i>Legionella</i> *	Note**
16	+	<i>Legionella</i> sp. autre que <i>pneumophila</i> probable
18	+	<i>Legionella</i> sp. autre que <i>pneumophila</i> probable
22	+	<i>Legionella pneumophila</i> probable
23	+	<i>Legionella pneumophila</i> probable
29	+	<i>Legionella pneumophila</i> et <i>Legionella</i> sp. autre que <i>pneumopila</i>

*Semi-quantification des colonies présentant les caractéristiques typiques des légionelles après la période d'incubation.

**Ces résultats ont été obtenus suite à une série de tests qui a été effectuée : catalase, croissance sur milieu gélosé sang strié, coloration de confirmation par immunofluorescence directe de la compagnie Bio Rad et vérification à la lampe de Wood.

Nb de colonies par gélose		Semi-quantification en concentration selon le volume utilisé pour la remise en suspension du culot	
		1 ml	2 ml
+	1 à 10	50 à 500 UFC/L	100 à 1 000 UFC/L
++	10 à 100	500 à 5 000 UFC/L	1 000 à 10 000 UFC/L
+++	>100	> 5 000 UFC/L	> 10 000 UFC/L

Donc, la plage de valeurs pour les résultats est de 50 à 1 000 UFC/L.

Résultats PCR pour Legionella

Point	<i>Legionella</i> (UG/L)
3	352
7	593
8	382
11	76,5
12	567
16	39,2
19	124
22	2080
23	130
26	42,8
28	32,6

ANNEXE 4 – Résultats physico-chimiques en milieu hospitalier

Tableau résumé – Profils de température

Critère de température	1 ^{er} jet – Volume écoulé				Temps écoulé suite au premier jet		
	250 ml	500 ml	1L	1,5L	30 sec.	5 min.	10 min.
>50°C	0%	0%	0%	12%	47%	76%	82%
45-50°C	0%	0%	18%	18%	18%	6%	0%
25-45°C	24%	65%	65%	53%	35%	18%	18%
<25°C	76%	35%	18%	18%	0%	0%	0%

ANNEXE 5 – Version soumise de l'article

Temperature diagnostic to identify high risk areas and optimize *Legionella pneumophila* surveillance in hot water distribution systems

Authors: Emilie Bédard^a, Stéphanie Fey^a, Dominique Charron^a, Cindy Lalancette^b, Philippe Cantin^c, Patrick Dolcé^d, Céline Laferrière^e, Eric Déziel^b, Michèle Prévost^a

Authors Affiliation:

^aDepartment of Civil Engineering, Polytechnique Montréal, Montréal, QC, Canada

^bINRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC, Canada

^cCentre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Québec, QC, Canada

^dDepartment of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Centre Hospitalier Régional de Rimouski, Rimouski, QC, Canada

^eDépartement de Microbiologie, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

Corresponding author:

Emilie Bédard

NSERC Industrial Chair in Drinking Water

Polytechnique Montréal

P.O. Box 6079 Station Centre-ville

Montréal, QC, Canada

H3C 3A7

Tel: 514-340-4711 x3711

Email: emilie.bedard@polymtl.ca

Abstract

Legionella pneumophila is frequently detected in hot water distribution systems and thermal control is a common control measure implemented by healthcare facilities. A risk assessment based on water temperature profiling and temperature distribution within the network is proposed, to guide effective monitoring strategies and allow the identification of high risk areas. Temperature and heat loss at control points (water heater, recirculation, representative points-of-use) were monitored in various sections of five healthcare facilities hot water distribution systems and results used to develop a temperature-based risk assessment tool. Detailed investigations show that defective return valves in faucets can cause widespread temperature losses because of hot and cold water mixing. Systems in which water temperature coming out of the water heaters was kept consistently above 60°C and maintained above 55°C across the network were negative for *Legionella* by culture or qPCR. For systems not meeting these temperature criteria, risk areas for *L. pneumophila* were identified using temperature profiling and system's characterization; higher risk was confirmed by more frequent microbiological detection by culture and qPCR. Results confirmed that maintaining sufficiently high temperatures within hot water distribution systems suppressed *L. pneumophila* culturability. However, the risk remains as shown by the persistence of *L. pneumophila* by qPCR.

Highlights

- Temperature profiles were generated at multiple points of use
- Risk assessment criteria based on control points temperatures and hydraulic was developed
- *L. pneumophila* positive areas were successfully predicted using risk assessment
- A temperature diagnostic flowchart is proposed to identify *L. pneumophila* risk areas

Key words

Legionella pneumophila, premise plumbing, viable but not culturable (VBNC), heat treatment, temperature profile, culturability.

1. INTRODUCTION

Legionella pneumophila (Lp) is an opportunistic pathogen that can proliferate in hot water distribution systems (HWDS) of large buildings, such as health care facilities (HCFs), where it can cause waterborne nosocomial pneumonias. Although its optimal growth temperature lies between 25 and 42°C (Yee and Wadowsky 1982), Lp has been isolated from water systems at temperatures up to 60°C (Martinelli et al. 2000), and in cold water systems with temperatures below 20°C (Arvand et al. 2011). The presence of Lp in HCFs water systems is well demonstrated, with reports of 10 to 50% positive hot water samples taken from taps and showers (Arvand et al. 2011, Bargellini et al. 2011, Martinelli et al. 2000, Serrano-Suarez et al. 2013, Stout et al. 2007). Risk characterization of water sources remains uncertain because of the lack of reliable dose-response models (Buse et al. 2012). While the level of positivity for *Legionella* in HCFs' HWDS has been proposed as a reliable predictive risk factor (Best et al. 1983, Lin et al. 2011), the validity of this approach has been recently disputed (Allen et al. 2012).

Control of *Legionella* risks in HCFs is addressed and regulated through guidance documents (Bartram et al. 2007, BSR/ASHRAE 2013, CDC 2003, HSE 2013, République Française 2010a). System characterization and environmental monitoring are among the first steps to establish a water safety plan or to evaluate the operational risk in HWDSs, especially in HCFs (BSR/ASHRAE 2013, Department of Health (DH) and Estates and Facilities Division 2006, République Française 2010b, WHO 2011). Recent guidelines stress the need to properly manage hydraulics to ensure homogeneous temperature and biocidal control in all areas of the HWDS (CSTB 2012).

Although a multitude of possible system architectures are encountered, a simplified schematic of a HWDS can be established (Fig. 1) and should include: the number and characteristics of key systems components such as the calorifiers, reheating units and reservoirs, the distribution systems including principal, subordinate and tertiary flow and return loops and point-of-use devices (tertiary terminal end). A schematic and characterization of each HWDS within a premise must be established independently (BSR/ASHRAE 2013, HSE 2013, République Française 2010a). This data is the foundation for interpreting monitoring results and identifying high risk areas.

Approaches to control Lp in HWDSs vary considerably, but all guides include objectives or obligations for optimal operating temperatures at critical points in the distribution systems. Also commonly specified are construction and operational standards, such as minimizing stagnation (recirculation loops, elimination of hydraulic and physical dead ends, etc.), recommendations on the use of devices and materials not promoting bacterial proliferation (construction material, flow, temperature, etc.) and requirements for microbiological monitoring in relation to pre-established criteria that define corrective actions. Although temperature control guidelines are primary elements of all regulations and guidance to reduce *Legionella* risks in HWDSs, significant discrepancies exist between the proposed modalities of implementation and management.

A summary of the key elements from selected regulations and guidelines to implement temperatures control of Lp in large buildings, and when available, in HCFs is provided as supplementary material (Table S1). In France, recently strengthened regulations determine mandatory minimum temperature and *Legionella* monitoring at defined critical control points: 1) hot water outlet and reservoir when present; 2) return loop; and 3) representative points-of-use considered at risk (farthest from the water heater or serving vulnerable patients) but the number of sampling points to be monitored is not specified (République Française 2005, 2010a, b, Table S1). It is recommended that temperatures be monitored daily or continuously at hot water heater outlets and at each return loops, and weekly at service points in HCFs. Temperature measurements at points of use are conducted on flushed samples (2-3 min). In the United Kingdom, a risk management approach is proposed, with recommended preventive measures including system maintenance, elimination of stagnation or dead zones, reduction of aerosol formation, maintenance of adequate temperatures and use of materials unfavorable to biofilm development (Department of Health (DH) and Estates and Facilities Division 2006, HSE 2013). Temperature control regimen is presented as the preferred initial approach for *Legionella* control (Table S1). Minimal monthly temperature monitoring is specified at control points including water heater outlet, return loops and sentinel taps. Sentinel taps include representative at-risk taps as well as the first and last taps of each return loops. The use of continuous temperature monitoring is recommended for the water heater outlets and the return loops. In addition, temperature at the tap should be monitored annually on a rotating basis covering 20% of taps yearly, to ensure the whole system is meeting required temperatures for *Legionella* control. It is not permissible to shut down pumped recirculation as it

would lead to the loss of the required system temperatures. Legionella monitoring is not prescribed unless target temperatures cannot be achieved however it is recommended in areas with highly vulnerable patients. Weekly flushing for several minutes is recommended for low usage taps.

Although all available regulations and guidelines provide information on various aspects of the implementation of a successful temperature control regimen, there is no consistent guidance on key elements such as the selection of sentinel points, the incorporation of *Lp* monitoring and the interpretation of the temperature monitoring results. Reports on the efficacy of the implementation of temperature control in HCFs reveal mitigated success (Arvand et al. 2011, Bargellini et al. 2011, Blanc et al. 2005, Darelid et al. 2002, Hrubá 2009, Lee et al. 2011, Serrano-Suarez et al. 2013). Nevertheless, adjusting the temperature at the heater outlet to ensure water temperatures greater than 50-55°C at distal outlets can be highly effective in reducing the proportion of positive swabs or water samples (Arvand et al. 2011, Blanc et al. 2005, Ezzeddine et al. 1989). Moreover, areas persistently positive for *Lp* were associated with hot water poor recirculation leading to temperature losses (Blanc et al. 2005). In most case studies, the actual conditions of application of the temperature control regimen are poorly documented with some information on temperatures only available for the water heater and return. Finally, the efficacy of temperature control regimens must be.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Hot water system characterization

Five HWDSs were analyzed. Systems 1 to 4 are smaller systems within a 7-story general hospital facility of 255 beds using conventional electric water heater being fed chlorinated ground water. System 5 has a larger flash system feeding a ten-story 450 bed children's hospital fed by surface filtered chlorinated water. A survey of the different HWDSs and connected units was first completed.

HWDSs were sampled at the water heater outlet, in the return loop collector pipe on the main floor and prior to the return point into the water heater. The first liter was flushed before treating the sampling port with ethanol and sterilized MilliQ water. The next 2 liters were collected in sterile polypropylene bottles with sodium thiosulfate (final concentration of 1.1mg/L) for further microbiological analysis. Then 250 mL were collected for pH, temperature, chlorine and conductivity measurements. Continuous temperature measurements were conducted on multiple risers for system no 5, using a Datalogger (RDXL4SD 4-Channel, Omega, Qc, Canada). Municipal water from surface water coming into the building was sampled following the same procedure and used as a reference for incoming water quality.

2.2 Temperature profile and water sampling at point of use

Sampling points were selected based on the following criteria: representative of different building levels, some at the far end and preferably in areas serving vulnerable patients such as intensive care units, surgical ward, transplant, infectious diseases. Hot water first flush was collected into three sterile 1L polypropylene bottles containing sodium thiosulfate (final concentration of 1.1 mg/L) for each sampled point-of-use. Temperature profiles were generated for each selected point-of-use in hot water, at a separate time from water sampling. Successive measures of temperature were taken on first flush and in continuous flow for a period of 20 minutes at a mean flow rate of 2.7 L/min. Samples included first flush 2L divided into 2 x 250 ml and 3 x 500 ml followed by six additional 250 ml samples taken after 30s, 5, 10, 20, 40 and 60 minutes of continuous flow. Residual chlorine was measured onsite (Pocket ColorimeterTM II, Hach, USA) for all samples whereas conductivity, pH and total chlorine concentration were measured after 10 minutes of flow for each sampling point.

2.3 Microbiological analysis

Water samples were mixed thoroughly and divided to perform isolation and quantification of *Legionella* spp. and Lp by culture and quantitative polymerase chain reaction (qPCR).

Culture was conducted according to the standard AFNOR NF T90-431 procedure (AFNOR 2006). **Briefly, 1 liter was filtered on sterile 0.4 µm polycarbonate membranes (47 mm diameter; Maine Manufacturing, LLC),** which were then sonicated in 5 ml sterile water at 47 kHz for 1 min (Branson, Danbury, USA). Heat treatment (50°C, 30 min), acid treatment (pH=2; 5 min) and combination of both were performed on 3 separate 1 ml aliquots. Samples were plated on GVPC selective agar (Innovation Diagnostics Inc.) and incubated at 36°C for 10 days. Typical colonies that developed after 4 to 10 days were sub cultured on confirmation plates for 2 to 4 days at 36°C. Resulting colonies that developed on BCYE agar, but neither on blood agar nor on BCYE without cysteine were considered as *Legionella* spp. Confirmation for Lp was conducted using the *Legionella* latex test (DR0800, OXOID Limited). The calculated detection limit for the culture method was 50 CFU/L for both *Legionella* spp. and *L. pneumophila*.

Quantification by qPCR was performed on a Corbett Rotorgene 6000 using the iQ-Check Quanti *L. pneumophila* kit (Bio-Rad, Mississauga, Canada) with the following protocol: 15 min initial denaturation at 95°C followed by 50 cycles with denaturation at 95°C for 15 s, annealing at 57°C for 30 s, elongation at 72°C for 30s and final elongation for 15 min at 72°C (Bonetta et al. 2010). DNA extraction was performed directly on filters using a bead beating method adapted from Yu and Mohn (1999). Briefly, 1L was filtered on 0.45 µm mixed cellulose ester and the filter was inserted into an extraction tube containing a garnet matrix and one 1/4-inch ceramic sphere (Lysing Matrix A, MP Biomedicals, Solon, USA). Lysing buffer was added to each tube prior to the bead beating step performed on a FastPrep MPBio-24, followed by ammonium acetate precipitation and successive ethanol washes.

2.4 Impact of stagnation

The first liter of hot water was sampled in sterile propylene bottles with sodium thiosulfate (final concentration 1.11 mg/L) from 2 taps (system 5) after 1 hour, 1, 2, 3, 5 & 10 days of stagnation. Lp concentrations were measured by PCR as described in section 2.3. Heat losses during stagnation periods were evaluated on 81 cm of 1.25 cm diameter copper pipes at room temperature (20°C) without insulation and with insulation: Type 1, 2.54 cm thick fiberglass insulation with PVC jacket (Caltech Isolation, Canada) and Type 2, 0.95 cm thick polyethylene foam insulation (Tundra, Industrial Thermo Polymers Limited, Canada).

3. RESULTS & DISCUSSION

3.1. General system characterization

Systems 1, 3, 4 & 5 presented a multiple vertical subordinate flow and return loop configuration feeding in average three devices per story. System 2 was a simplified horizontal architecture with only few vertical pipes feeding water to horizontal subordinate flow and return loops (Fig. 1). With information on the pipe diameter and configuration, the location and relative importance of recirculating and stagnating volumes can be determined providing information to guide monitoring and control strategies. For example, the recirculated volume was approximately 900L, of which 600L in the principal flow and return loop (50 mm diameter) and 300L in the subordinate flow and return loops (10 vertical risers of 25 mm mean diameter). The distal volume in the tertiary terminal end was about 300L (Fig. 1). However, this volume can be minimized if a tertiary return loop is added, leaving only the small connecting volume of less than 150mL per device accounting for a total of 90L of stagnant volume (Fig. 1).

3.2. Temperature monitoring

3.2.1. Water heater outlet

Most and guidelines specify that target temperatures must be maintained at all times, but seldom do they specify the monitoring requirements of measurement frequency. Periodic temperature readings, even daily measurements, do not provide insurance of temperature maintenance in the HWDS, unless the stability of the system's performance has been fully established. Systems seemingly providing water above 60°C based on daily measurements can actually produce lower temperature water for extended periods of time. In fact, the mean temperatures at the water heater outlet for four of the five systems studied were above 60°C, but online temperature monitoring revealed that production temperature was repeatedly below 60°C and reached down to 43°C in some cases (Table 1 and Fig. S1). System 1 consistently produced water above 60°C while systems 2, 3 and 5 regularly produced water below 60°C at certain periods of the day (Fig. S1). For system 3, temperature was monitored weekly by the operators on Saturday mornings during low water demand providing an average of 62.5°C over a period of 24 months (Table 1). Nonetheless, when online monitoring was performed during a typical weekday, mean temperature was lower (57.8°C). It is also interesting to point out that even a very recently installed system (2011) equipped with a flash heating unit was also subject to periodic temperature drops (System 5, Fig. S1). These observations demonstrate the need to use online monitoring to assess the temperature compliance of a HWDS compared to periodic manual readings of temperature. Daily variations in hot water demand in large HCFs with typical peak flow factors of > 6 (Bujak 2010) can influence the temperature at the water heater outlet depending on the system's capacity. The extent and duration of the non-compliance of the hot water outlet temperature set point is important to consider and has been limited to the sporadic short duration (minutes) events in the German technical rules (Table S1).

3.2.2. Return loops

The return loop at the point closest to the water heater is designated as the furthest point from the water heater and continuous temperature monitoring is often recommended (Fig. 1). It is considered

as an indicator of the system's capacity to maintain temperatures throughout the HWDS. In the five systems studied, the principal return loop temperatures ranged between 50.4 and 58.9°C with varying levels of blending from multiple return loops occurring upstream of the principal return control point (Table 1). Continuous monitoring for 2 months at the return loop manifold for combined returns of units 3&5 (45.7°C), units 1&2 (48.0°C), single return for the kitchen (58.1°C) and for unit 3 prior to merging with unit 5 (46.6°C) revealed wide differences compared to the overall combined return loop (53.9°C). Although a desirable control location, temperature at the principal return loop is not indicative of the conditions in all subordinate loops within a complex HWDS unless the system is well balanced for all water demand conditions (CSTB 2012). It merely represents the mean temperature of the blended recirculated hot water from various sectors of the HWDS. More specifically, it does not provide any information on the actual levels of recirculation and temperature losses in the various sectors of the HWDS and does not in any way confirm efficient recirculation in all subordinate loops.

Heat losses between the water heater outlet and a remote point will occur during stagnation (if recirculation is not effective or shut down for energy conservation purposes) or during circulation in the principal and subordinate flow and return loops. During low demand conditions, recirculation will dictate residence time and drive heat losses. Mean system heat losses were evaluated for each of the five studied systems (Table 1). For three of the five systems, temperature losses between the water heater and the principal return loop mean temperatures exceeded the target of $\leq 5^{\circ}\text{C}$ set in several guidelines (Table S1). Heat losses during circulation can be minimized by reducing residence time. Water velocity can be set to meet desired maximum heat losses and general recommendations suggest maintaining a minimal velocity of 0.2 m/s (Blokkeer et al. 2010, CSTB 2012), which would result in approximately 30 min residence time and 5°C heat losses in large HCF insulated HWDS. Although insulation minimizes heat losses under flowing conditions, it is not sufficient to maintain high temperatures over prolonged periods of stagnation. Actually, slower heat losses during stagnation may lead to sustained optimal temperatures for *L. pneumophila* growth. Figure 2 shows that temperature decreased from 60°C to below 50°C within 30 min in fully insulated copper pipes and within 10 min for non-insulated pipe, both reaching room

temperature after 3.5 hours. Periods of stagnation of 30 min or more are expected in the connecting piping upflow of points-of-use and in areas of inefficient recirculation.

Existing standards and guidelines set design and operational obligations to control heat losses in HWDS to maintain at minimum target temperatures throughout the HWDS and to meet energy conservation goals, but these are generally only compulsory for new buildings. Recirculation flow rates should be calculated to maintain a $<50^{\circ}\text{C}$ system heat loss or to ensure a minimum temperature of $50\text{--}55^{\circ}\text{C}$ at the end of the return loop assuming adequate recirculation throughout the system (ASPE 2008). The control points results required to evaluate heat loss goals compliance include the principal and subordinate return loops, the most distant point of the flow loop or all points of the system (Table S1). Monitoring results from the five HWDSs clearly show that the selection of the return loop reference point is critical. Heat loss evaluation from the principal return loop may mask major heat losses in subordinate flow and return loops, as we observed in system 5 with losses ranging from 3.5 to 16.3°C when evaluated for single or dual subordinate return loops (Table 1). Indeed, wide differences in temperature can occur between secondary return loops, and thus all return loops should be considered individually. The overwhelming importance given to temperature maintenance has also led to the specific banning of recirculation shutdown in Austria and United Kingdom (Table S1). The nightly shutdown of recirculation for energy conservation purposes is only allowed in two rules (CMMQ/RBQ 2013, DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water 2004) and only with the demonstration of unobjectionable hygienic conditions. Our results point out that the temperature losses of isolated subordinate loops during stagnation resulting from such shutdowns would quickly generate durable temperature conditions favorable to the growth of *Lp*. More importantly, such shutdowns during low or nil demand conditions expose the whole HWDS, instead of a relatively small volume ($1,200\text{L}$ versus 90 to 300L in System 5) to these undesirable temperature conditions.

3.2.3. Temperature distribution at point-of-use

Sequential volume profiling results identify in which sections of the HWDS the heat losses take place, namely the tap and its connecting piping, the secondary piping, the distribution columns

and/or the main feeder pipes. Profile variability for a given sampling point at different times and days was found to be small, with overall profile and maximum temperature reached being consistent over time despite variable temperature in the first liter (Fig S2). Temperature profiles obtained on the studied systems are summarized in three groups (Fig. 3), with detailed profiles presented in Fig. S3. Systems 1, 2 and 3 (Fig. 3a) met recommendations for water heater outlet and return loop temperatures, with 86% of points reaching 55°C and all points being above 50°C after 2 minutes of flow, indicative of limited stagnant water volumes and effective recirculation. Ideal systems should have no or very little transition and reach equilibrium at recommended temperatures in order to maintain sufficient temperatures within the whole system. Despite reaching equilibrium temperature rapidly (<60s), system 4 could not achieve recommended temperature at the points-of-use with 57% of points never reaching 55°C although all above 50°C, mainly due to the insufficient water temperature at the water heater outlet (Fig. 3b). System 5 shows a longer transition period before reaching temperature equilibrium and is unable to meet 55°C for 47% and 50°C for 19% of points, despite water heater and principal return loop temperatures meeting recommendations (Fig. 3c).

Additional temperature monitoring using surface thermocouples on subordinate flow and return pipes provided information to identify local issues. For instance, broken valves in a shower faucet resulted in cold water entering the hot water feed pipe and riser. Fixing the device increased the minimal temperature by an average 5°C in all 10 subordinate risers in this wing (Fig. S4, a-c). A second example was insufficient recirculation causing a significant heat loss during night flow, which was corrected by the addition of a local pump on the subordinate return loop, after the furthest pair of risers (Fig. S4, d-g). These examples show the importance of characterizing local conditions and the potential of single faulty devices to influence temperature maintenance in large sections of HWDSs. Again, we conclude that relying on temperature maintenance in the principal return loop is not sufficient to identify such risk areas.

3.3 Environmental monitoring

Results of microbiological measurements for the five studied systems are presented in Table 1. Culture positive samples for *Lp* were detected in systems 4 & 5 with 22 and 27% positivity respectively (detection limit = 50 CFU/L). Positivity increased above 80% for both systems when measured by qPCR and remained below detection limit for systems 1-3, except for one sample (13% in system 2). Systems in which water temperature was kept consistently above 60°C coming out of the water heater and maintained above 55°C across the network were below detection limit for *Legionella* by culture or qPCR. Such results strongly suggest that satisfactory management of temperature at control points results in lower prevalence. However, these results represent a water quality snapshot at a point in time and are not necessarily representative of microbial quality over time or at other locations in the HWDS. Several factors affecting *Lp* densities at a given point have been identified including intrinsic biological system heterogeneity, culturability, prior stagnation and sample volume. Napoli et al. showed variation of $\leq 20\%$ concentrations of CFU/ml from one day to the next within a ward during repeated sampling over five consecutive days across eight units within a hospital (Napoli et al. 2009). In the present study, confirmation sampling was conducted in two of the five HWDSs to investigate the temporal variability. Fig. 4a shows results from repeated sampling conducted at three control points (water heater outlet, principal return loop and a point-of-use) in systems 3 & 5. Again, all samples were negative in qPCR and culture for system 3, whereas samples from system 5 were consistently positive in qPCR and culture positive to a lesser degree (Fig. 4a). Interestingly, increased temperature at the water heater (60°C vs 54°C) on the first day of sampling resulted in lower qPCR levels while levels in the return loop and tap remained stable. These findings are in agreement with recent reports of discrepancies between trends in *Lp* by qPCR and culture in suboptimal conditions for inactivation of viable but not culturable (VBNC) cells (Krojgaard et al. 2011, Lee et al. 2011). Krojgaard et al. showed that qPCR levels can be used to verify the impact of corrective actions such as thermal shock and demonstrated non-detects qPCR results as a predictor of low risk.

Another factor that may influence levels of *Legionella* is the duration of stagnation prior to sampling. Recent evidence showed that intact cell concentrations increased with stagnation time

for up to 12h in unchlorinated cold water (Lautenschlager et al. 2010). Longer stagnation time did not lead to further increase. In the present study, no systematic impact of prior stagnation duration was observed for Lp (Fig. 4). However, the stagnation times studied were longer, except for the 1h stagnation and samples were taken from the hot water systems where connecting pipes were made of copper. Presence of copper during stagnation could inhibit culturability for Lp (Dwidjosiswojo et al. 2011) and mask the stagnation impact.

The volume of sample determines the source of the water within the HWDS. Lp monitoring can be performed to assess the risk associated with 1) the water heater and primary distribution network using flushed samples, and 2) the distal system, including the tap and its connection to the main distribution system, using first flush samples. Cristina et al. (2014) reported that distal stagnation increased the number of positive sites from 2.63 % to 15.79% and mean concentration from 7 vs 637 vs CFU/L for Lp sg1. Such distal amplification was not as clearly observed by these authors for Lp sg2-14 with 40.79 % to 42.11% positive and mean concentration from 19,455 vs 26,746 CFU/L. Similar trends were observed for *Legionella* spp in HWDS taps with increased concentration from 45 CFU/L (23% positivity) in flushed samples to 226 CFU/L (35% positivity) in the first flush (Serrano-Suarez et al. 2013).

Although post-flush samples provide insight into systemic HWDS contamination, first flush results are indicative of the acute concentrations to which patients may be more readily exposed. In the first flush, water temperature will often be lower due to previous stagnation and disinfectant will be absent, favoring culturability of cells. On the other hand, higher copper concentration present after prolonged stagnation could impact culturability. Non-detection of Lp by culture at a given sampling point and time doesn't necessarily equate to absence of risk for the system.

Volume sampled, typically 1L or more for Lp, plays an important role in data interpretation, either for temperature measurements or microbiological detection where the detection limit of the method improves with the use of higher volume of samples. As illustrated on Fig. 1, sampling the first liter will collect water from the tap and connecting pipes, and might reach water from the subordinate

return and flow pipes depending on the configuration. For example, 8 meters of a 13 mm diameter pipe are required to reach 1L. If a larger sample volume is required to do multiple analyses (i.e. culture and qPCR or simultaneous detection of other waterborne opportunistic pathogens), it should be kept in mind that water will become less representative of the point-of-use.

3.4 Value of Temperature Control in Lp Risk Management

The implementation of a water safety plan is the recommended approach for preventive risk-management related to drinking water (WHO 2011) and temperature control is widely recognized as the first risk mitigation measure for *Legionella* control in HWDS (Table S1).

Maintaining sufficient temperatures at all critical points, including the subordinate return loops, and minimizing volumes of uncontrolled temperature in the terminal ends appear essential to a successful system wide thermal control of culturable and VBNC *Legionella*. Most studies report on the results of temperature control based on prevalence measured by culture-based detection methods. Although lower prevalence is generally observed after temperatures are increased, mitigated efficacies are often reported. An early study observed 50% reduction of tap positivity following an increase in temperature from 45 to 60°C at the water heater outlet, although an elevated number of taps located in patient rooms remained positive (Ezzeddine et al. 1989). Water temperature at the tap ranged between 30 and 56°C after a few minutes of flushing, demonstrating the system's inability to provide elevated temperatures in all areas. A similar reduction in % positive taps from 60-90% to 30-40% was reported in a hospital when water heater temperature was raised from 50 to 65°C, in that case providing temperatures >50°C at most outlets (Blanc et al. 2005). Importantly, the remaining positive outlets were situated in an area with inadequate recirculation. A third field study documented a successful reduction of *Legionella* positive taps from 100% to a mean value of 12% maintained over 10 years following the hot water temperature increase from 45 to 65°C (Darelid et al. 2002). This temperature regimen was implemented following an outbreak and resulted in water temperatures between 56 and 61°C at the tap after 5 minutes flushing. Recent field studies support the importance of maintaining elevated temperatures at distal locations (estimated by the temperature after 1 minute of flushing), with 4–11% of positive

at $T \geq 55^{\circ}\text{C}$ vs 14-82% for $T < 55^{\circ}\text{C}$ (Arvand et al. 2011, Bargellini et al. 2011, Hrubá 2009). Those observations show that the efficiency of thermal inactivation in complex recirculated full scale HWDS is enhanced when temperature exposure is sufficient in all areas of the HWDS. However, significant distal amplification of *Legionella* can occur as evidenced by long term full scale sampling results (Cristina et al. 2014, Serrano-Suarez et al. 2013) and a number of taps may remain positive for *Legionella*.

The limitations of thermal control in HWDS raise questions on the validity of the existing threshold temperatures of 50-60°C. Pioneer work evidenced the consistent susceptibility of 40 *Lp* isolates to temperature, with 1 log reduction achieved in 2.3-5 min at 60°C and 8 log reduction after 25 min as estimated by culturability (Stout et al. 1986). Recent findings show that elevated temperatures between 55 and 70°C will produce VBNC cells that cannot be detected by culture methods. Laboratory studies conducted on HWDS samples confirm the suppression of culturability at $T \geq 55^{\circ}\text{C}$ as evidenced by the presence of *Lp* when measured by qPCR and viable qPCR (Lee et al. 2011, Mansi et al. 2014). Despite a rapid loss of culturability at temperatures $> 55^{\circ}\text{C}$, some *Lp* strains can resist in the VBNC state for periods of 30-60 minutes at temperatures between 55 and 70°C (Allegra et al. 2008, Allegra et al. 2011, Epalle et al. 2014). Furthermore, the development of heat resistant *Lp* strains was observed over time for groups of strains isolated in hospital water systems submitted to periodic extreme temperature (24h @ 65°C a few times a year), while no such resistance was observed for strains isolated from the system where heat shock treatments (70°C 30 minutes) were sparingly applied. These findings stress the importance of maintaining a constant temperature regimen throughout the system to provide adequate contact time.

We propose a system wide risk classification to assess risk in a HWDS based on published reports and our findings (Table 2). In addition to monitoring temperature at critical control points, the evaluation criteria also include the percentage of time that temperature is maintained at the hot water production unit or return loops. Indeed, exposure to temperature should be considered instead of temperature alone, as regulated for chemical disinfection (Concentration X Time concept). Subordinate return loop temperatures are used to evaluate the system's heat loss within each sector of the building. Temperature exposure in the subordinate flow and return loop is estimated based

on temperatures measured after 1 minute of flushing and serves to determine risk in specific areas. When evaluating the five systems against the proposed risk classification (Table 2), results from the characterization of the HWDS combined with the temperature profiles at point-of-use were good predictors of areas at risk for Lp detection (Table 1). In light of these findings and considering the presence of VBNC *Legionella* at temperature ranging between 55-70°C (Epalle 2014), the set points proposed in existing regulations and guidelines and selected for the proposed risk classification approach appear minimal and should be met at all times. The development of heat resistant strains following periodic heat shock also supports the maintenance of a steady thermal preventative inactivation regimen instead of relying on periodic curative thermal shock (Allegra 2011). The apparent mitigated success of HWDS in large buildings may have been caused by inconsistent maintenance of sufficiently elevated temperatures in all areas of the building because of inadequate recirculation and/or low set-points.

Regulations and guidelines all recommend the identification of representative sampling points for Lp sampling and temperature monitoring at designated control points. However, the rationale for frequency and number of sites for temperature monitoring is not evident and the limited number of proposed control points implies that the HWDS is well balanced. Furthermore, there is little guidance for follow-up action to identify the cause of temperature losses. To remediate this shortfall, a diagnostic flowchart for the initial assessment of *Legionella* risk within an existing HWDS is proposed using temperature measurements and profiles at the water heating unit, return loops and critical points (Fig. 5). We propose a step approach starting from the principal return and flow loop system that indicates the overall system risk level, then moving progressively to the subordinate flow and return loops to identify large building areas or sectors at risk, and finally to the tertiary terminal ends, to identify local issues with defective faucets or showers. The diagnostic flowchart also proposes a staged response in terms of corrective and preventative actions, including Lp monitoring. This step approach can help direct efforts towards high risk areas and optimize resource allocation, especially costly Lp monitoring.

Although temperature control is a central element of risk mitigation, other factors affecting the persistence of *Legionella* in HWDS should be considered in the water safety plan such as: the susceptibility of environmental strains to heat inactivation; the relative importance of terminal volumes not subject to recirculation; the sampling protocol used for *Legionella* monitoring (first flush, rinsing, etc.); the presence of biofilm & amoeba and most importantly, the limitations of traditional culture-based methods to detect the presence of *Lp*.

4. CONCLUSION

A step approach combining temperature monitoring of the HWDS main components and temperature profiling at points-of-use can be used to determine the susceptibility of overall HWDS and specific areas of large buildings to *Legionella* proliferation. Care should be taken in understanding the design and operations of the various flow and return loops to select appropriate temperature monitoring locations. Ideally, when multiple return loops are present, temperature should be monitored at each return prior to the principal return loop. Systems assessment and monitoring should also take into account area specific hydraulic conditions within the building, including closed units, low usage and configuration of the overall system. Monitoring temperature representative points or even all points on a rotating basis (e.g. 20%/year) is time consuming and yet insufficient for detecting faulty equipment such as defective valves. Detailed field investigations showed that the negative impact of faulty thermostatic devices extends far beyond the terminal connecting piping and can affect large areas of buildings, placing significant volumes of hot water at risk. These observations suggest that faulty return valves on such devices should be rapidly identified and repaired or replaced.

Lp monitoring, although necessary, is costly and time-consuming, and should be targeted to enable decision making for infection control. Our staged approach can guide corrective system interventions and serve as a basis to justify preventive risk reduction actions and select sampling points for *Lp* monitoring. Moreover, temperature monitoring will help understand the hydraulics, quantify the thermal losses of the recirculating system and identify the distribution columns that

need balancing. A systematic diagnostic is necessary to identify areas most at risk in hydraulically unbalanced HWDS or in older buildings where original plans and drawings may not be available or renovations and rearrangements have occurred. Temperature profiling can be performed at a large number of points confirming the extent (volume) and nature (systemic or distal) of undesirable temperatures in HWDS, guiding Lp monitoring decisions. The staged approach based on inexpensive and easily implemented temperature profiling can optimize resources and funds allocation by directing efforts towards high risk areas.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the partners of the NSERC Industrial Chair on Drinking Water. The authors would like to thank Chair staff especially Yves Fontaine and Jacinthe Mailly, participating HCFs, especially Christiane Parent, Maurice Isabel, Stéphane Boucher, M. Félix, and Manuela Villion from CEAEQ for her help with microbiological analyses. Eric Déziel holds a Canada Research Chair.

6. REFERENCES

- Allegra, S., Berger, F., Berthelot, P., Grattard, F., Pozzetto, B. and Riffard, S. (2008) Use of flow cytometry to monitor *Legionella* viability. *Applied and Environmental Microbiology* 74(24), 7813-7816.
- Allegra, S., Grattard, F., Girardot, F., Riffard, S., Pozzetto, B. and Berthelot, P. (2011) Longitudinal evaluation of the efficacy of heat treatment procedures against legionella spp. In hospital water systems by using a flow cytometric assay. *Applied and Environmental Microbiology* 77(4), 1268-1275
- Allen, J.G., Myatt, T.A., Macintosh, D.L., Ludwig, J.F., Minegishi, T., Stewart, J.H., Connors, B.F., Grant, M.P. and McCarthy, J.F. (2012) Assessing risk of health care-acquired Legionnaires'

disease from environmental sampling: the limits of using a strict percent positivity approach. *American Journal of Infection Control* 40(10), 917-921.

ASPE (2008) *Plumbing Engineering Design Handbook - A Plumbing Engineer's Guide to System Design and Specifications, Volume 4 - Plumbing Components and Equipment*. American Society of Plumbing Engineers (ASPE), Chicago, IL.

Arvand, M., Jungkind, K. and Hack, A. (2011) Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by *Legionella pneumophila*: do we know the true dimension? *Eurosurveillance* 16(16), 6.

AFNOR (2006) NF T90-431/A1 April 2006 Water quality - Detection and enumeration of *Legionella* spp and *Legionella pneumophila* - Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration or centrifugation.

Bargellini, A., Marchesi, I., Righi, E., Ferrari, A., Cencetti, S., Borella, P. and Rovesti, S. (2011) Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: Association with trace elements and heterotrophic plate counts. *Water Research* 45(6), 2315-2321.

Bartram, J., Chartier, Y., Lee, J.V., Pond, K. and Surman-Lee, S. (2007) *Legionella and the prevention of legionellosis*, World Health Organization 2007, Geneva.

Best, M., Yu, V.L., Stout, J., Goetz, A., Muder, R.R. and Taylor, F. (1983) Legionellaceae in the hospital water-supply: Epidemiological link with disease and evaluation of a method for control of nosocomial legionnaires' disease and Pittsburgh pneumonia. *Lancet* 2(8345), 307-310.

Blanc, D.S., Carrara, P., Zanetti, G. and Francioli, P. (2005) Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: seven years of experience in a university teaching hospital. *The Journal of Hospital Infection* 60(1), 69-72.

Blokker, E., Vreeburg, J., Schaap, P. and van Dijk, J. (2010) *The self-cleaning velocity in practice*, WSDA 2010, Tucson, Arizona, USA.

Bonetta, S., Ferretti, E., Balocco, F. and Carraro, E. (2010) Evaluation of *Legionella pneumophila* contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. *Journal of Applied Microbiology* 108(5), 1576-1583.

BSR/ASHRAE (2013) Standard 188P Prevention of legionellosis associated with building water systems. http://www.r2j.com/wp-content/uploads/2013/08/Std188P_3rdPPRDraftFINAL.pdf

Bujak, J. (2010) Heat consumption for preparing domestic hot water in hospitals. *Energy and Buildings* 42(7), 1047-1055.

Buse, H.Y., Schoen, M.E. and Ashbolt, N.J. (2012) Legionellae in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predict exposure. *Water Research* 46(4), 921-933.

CDC (2003) Guidelines for environmental infection control in health-care facilities, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), United States Department of Health and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC), Atlanta, Georgia, USA.

CSTB (2012) Technical Guide – Controlling the risk of Legionella in sanitary hot water distribution systems - Maîtrise du risque de développement des légionelles dans les réseaux d'eau chaude sanitaire – Faults and recommandations. (In French)

CMMQ/ RBQ (2013) Good plumbing practices – Sanitary hot water recirculation system design (part I), <https://www.rbq.gouv.qc.ca/fileadmin/medias/pdf/Publications/francais/conception-boucle-recirculation-eau-chaude.pdf> (In French).

Cristina, M.L., Spagnolo, A.M., Casini, B., Baggiani, A., Del Giudice, P., Brusaferrero, S., Poscia, A., Moscato, U., Perdelli, F. and Orlando, P. (2014) The impact of aerators on water contamination by emerging gram-negative opportunists in at-risk hospital departments. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 35(2), 122-129.

Darelid, J., Lofgren, S. and Malmvall, B.E. (2002) Control of nosocomial Legionnaires' disease by keeping the circulating hot water temperature above 55°C: experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital. *The Journal of Hospital Infection* 50(3), 213-219.

Department of Health (DH) and Estates and Facilities Division (2006) Water systems : health technical memorandum 04-01 : The control of Legionella, hygiene, "safe" hot water, cold water and drinking water systems. Part B: Operational management, Department of Health (DH), London.

DVGW German Technical and Scientific Association for Gas and Water (2004) Technical Rule: Code of Practice W 551. Drinking water heating and drinking water piping systems; technical measures to reduce *Legionella* growth; design, construction, operation and rehabilitation of drinking water installations.

Dwidjosiswojo, Z., Richard, J., Moritz, M.M., Dopp, E., Flemming, H.-C. and Wingender, J. (2011) Influence of copper ions on the viability and cytotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* under conditions relevant to drinking water environments. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214(6), 485-492.

Epalle, T., Girardot, F., Allegra, S., Maurice-Blanc, C., Garraud, O. and Riffard, S. (2014) Viable but not culturable forms of *Legionella pneumophila* generated after heat shock treatment are infectious for macrophage-like and alveolar epithelial cells after resuscitation on *Acanthamoeba polyphaga*. *Microbial Ecology*, Published ahead of print July 2014.

Ezzeddine, H., Van Ossel, C., Delmee, M. and Wauters, G. (1989) *Legionella* spp. in a hospital hot water system: effect of control measures. *The Journal of Hospital Infection* 13(2), 121-131.

Health and Safety Executive (HSE) (2013) Legionnaires'disease: Technical guidance. Part 2: The control of *Legionella* bacteria in hot and cold water systems, HSE Books, United Kingdom.

Hruba, L. (2009) The colonization of hot water systems by *Legionella*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 16(1), 115-119.

Krojgaard, L., Krogfelt, K., Albrechtsen, H.-J. and Uldum, S. (2011) Detection of *Legionella* by quantitative-polymerase chain reaction (qPCR) for monitoring and risk assessment. *BMC Microbiology* 11(1), 7.

Lautenschlager, K., Boon, N., Wang, Y., Egli, T. and Hammes, F. (2010) Overnight stagnation of drinking water in household taps induces microbial growth and changes in community composition. *Water Research* 44(17), 4868-4877.

Lee, J.V., Lai, S., Exner, M., Lenz, J., Gaia, V., Casati, S., Hartemann, P., Lück, C., Pangon, B., Ricci, M.L., Scaturro, M., Fontana, S., Sabria, M., Sánchez, I., Assaf, S. and Surman-Lee, S. (2011) An international trial of quantitative PCR for monitoring *Legionella* in artificial water systems. *Journal of Applied Microbiology* 110(4), 1032-1044.

Lin, Y.E., Stout, J.E. and Yu, V.L. (2011) Controlling Legionella in hospital drinking water: an evidence-based review of disinfection methods. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 32(2), 166-173.

Mansi, A., Amori, I., Marchesi, I., Proietto, A.R., Marcelloni, A.M., Ferranti, G., Magini, V., Valeriani, F. and Borella, P. (2014) Legionella spp. survival after different disinfection procedures: Comparison between conventional culture, qPCR and EMA-qPCR. *Microchemical Journal* 112, 65-69.

Martinelli, F., Caruso, A., Moschini, L., Turano, A., Scarcella, C. and Speziani, F. (2000) A Comparison of Legionella pneumophila occurrence in hot water tanks and Instantaneous devices in domestic, nosocomial, and community environments. *Current Microbiology* 41(5), 374-376.

Napoli, C., Iatta, R., Fasano, F., Marsico, T. and Montagna, M.T. (2009) Variable bacterial load of Legionella spp. in a hospital water system. *Science of the Total Environment* 408(2), 242-244.

République Française (2005) Ministerial Order, November 30th 2005, modifying the Ministerial order of June 23rd 1978 on sanitary hot water production and distribution stationnary installations for residential, work or public buildings, http://www.sante.gouv.fr/fichiers/bo/2011/11-01/ste_20110001_0100_0130.pdf (In French).

République Française (2010a) Minesterial Order February 1st 2010, Legionella surveillance in sanitary hot water production, storage and distribution installations, <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000021795143&dateTexte=&categorieLien=id>. (In French)

République Française (2010b) Circular DGS/EA4/2010/448, December 21st 2010 regarding the implementation of February 1st 2010 Ministerial Order Legionella surveillance in sanitary hot water production, storage and distribution installations, http://www.sante.gouv.fr/fichiers/bo/2011/11-01/ste_20110001_0100_0130.pdf. (In French)

Serrano-Suarez, A., Dellunde, J., Salvado, H., Cervero-Arago, S., Mendez, J., Canals, O., Blanco, S., Arcas, A. and Araujo, R. (2013) Microbial and physicochemical parameters associated with Legionella contamination in hot water recirculation systems. *Environmental Science and Pollution Research International* 20(8), 5534-5544.

Stout, J.E., Best, M.G. and Yu, V.L. (1986) Susceptibility of members of the family Legionellaceae to thermal stress: implications for heat eradication methods in water distribution systems. *Applied Environmental Microbiology* 52(2), 396-399.

Stout, J.E., Muder, R.R., Mietzner, S., Wagener, M.M., Perri, M.B., DeRoos, K., Goodrich, D., Arnold, W., Williamson, T., Ruark, O., Treadway, C., Eckstein, E.C., Marshall, D., Rafferty, M.E., Sarro, K., Page, J., Jenkins, R., Oda, G., Shimoda, K.J., Zervos, M.J., Bittner, M., Camhi, S.L., Panwalker, A.P., Donskey, C.J., Nguyen, M.H., Holodniy, M., Yu, V.L. and the Legionella Study Group (2007) Role of environmental surveillance in determining the risk of hospital-acquired legionellosis: a national surveillance study with clinical correlations. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 28(7), 818-824.

WHO (2011) Water Safety in Buildings. Resource for the Development of Training and Information Material. WorldHealth Organization, Geneva.

Yee, R.B. and Wadowsky, R.M. (1982) Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap water. *Applied and Environmental Microbiology* 43(6), 1330-1334

Yu, Z. and Mohn, W.W. (1999) Killing two birds with one stone: simultaneous extraction of DNA and RNA from activated sludge biomass. *Canadian Journal of Microbiology* 45(3), 269-272.

FIGURE LEGENDS:

Fig. 1: Hot water distribution system general schematic including temperature control points. Three different types of vertical and horizontal distribution systems are represented: ① recirculation before the last tap; ② recirculation connected after each device; ③ recirculation connected after the last device.

Fig. 2: Heat loss during stagnation of hot water in 1.25 cm diameter copper pipes with and without insulation at room temperature.

Fig. 3: Hot water temperature profiles at points-of-use as a function of volume for a) systems 1, 2 and 3 grouped, n = 7; b) system 4, n = 7; c) system 5, n = 36. Mean temperature at the hot water production unit outlet and at the return loop are shown for each system.

Fig. 4 Variability of *L. pneumophila* concentration measured by qPCR (a) in system 3, for repeat sampling events (Jan, Sept (1 & 2), Oct (1 & 2)) where culture positive samples are marked by a star (b) in system 5, after different water stagnation times for taps A (white) and B (gray).

Fig. 5 Diagnostic flowchart for the initial assessment of *Legionella* risk in an existing HWDS.

Table 1 HWDS Systems characterization through control points temperature and microbiological measurements

Table 2: Proposed risk classification based on temperature control points

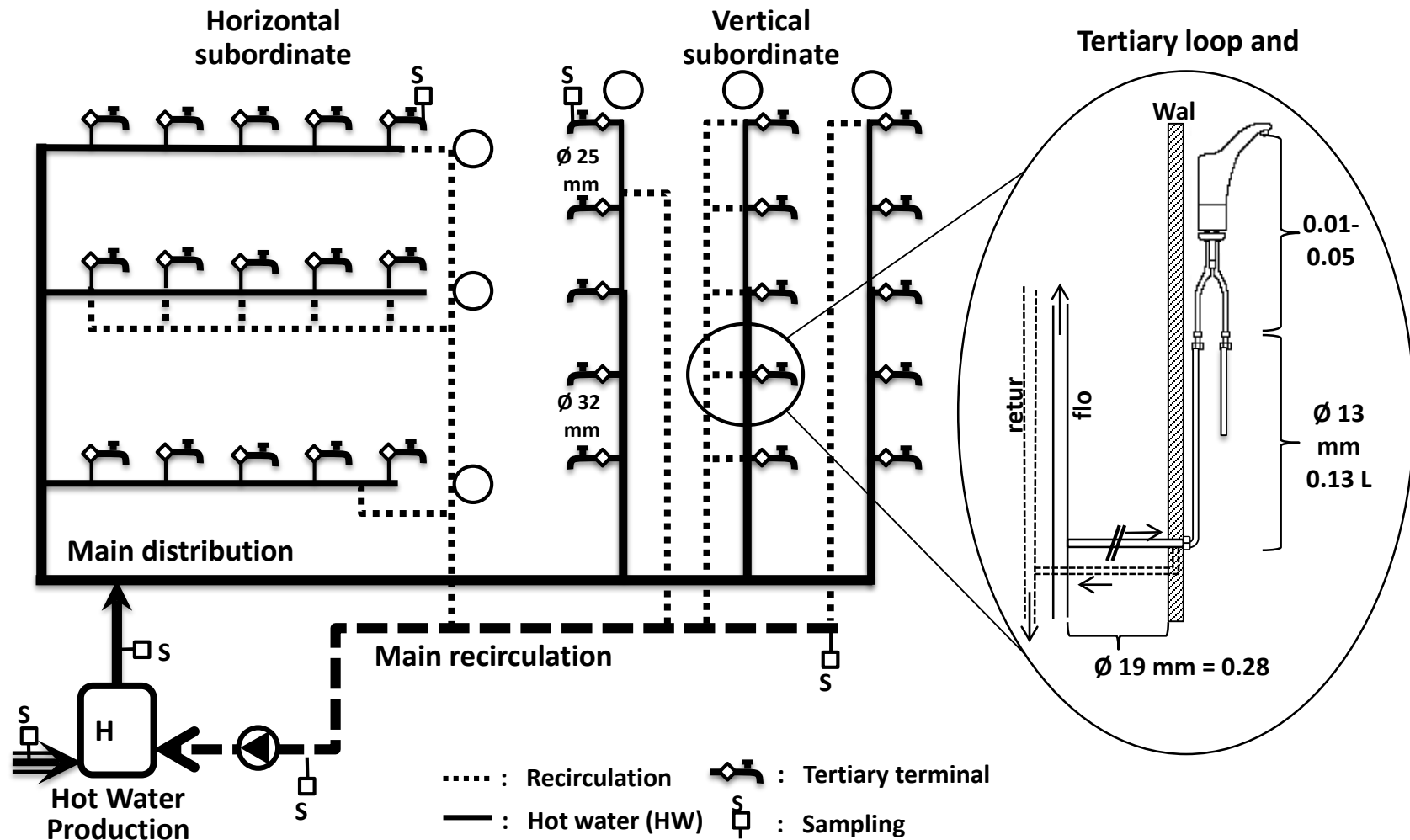


Fig. 1 Hot water distribution system general schematic including temperature control points. Three different types of vertical and horizontal distribution systems are represented: ① recirculation before the last tap; ② recirculation connected after each device; ③ recirculation connected after the last device.

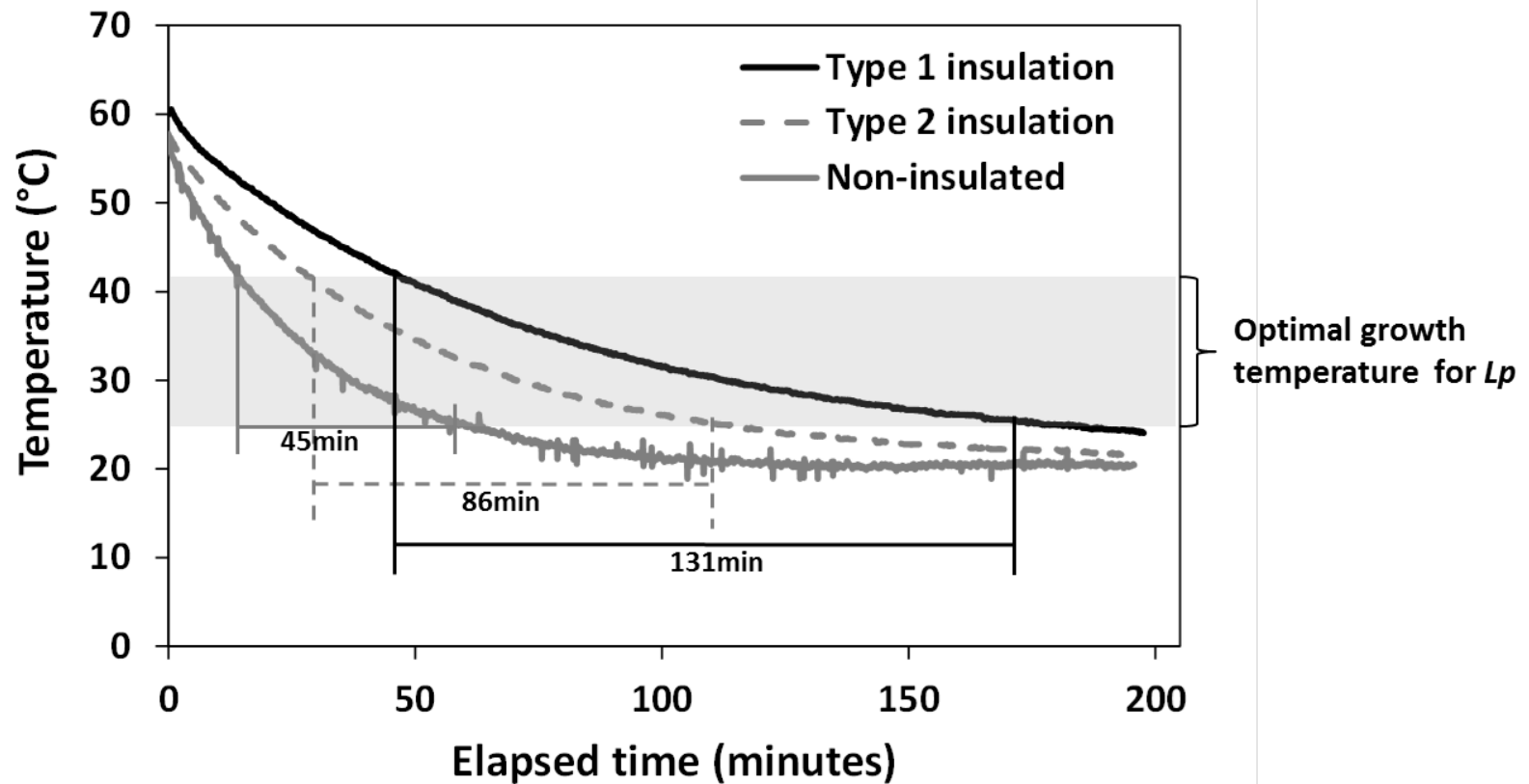


Fig. 2: Heat loss during stagnation of hot water in 1.25 cm diameter copper pipes with and without insulation at room temperature.

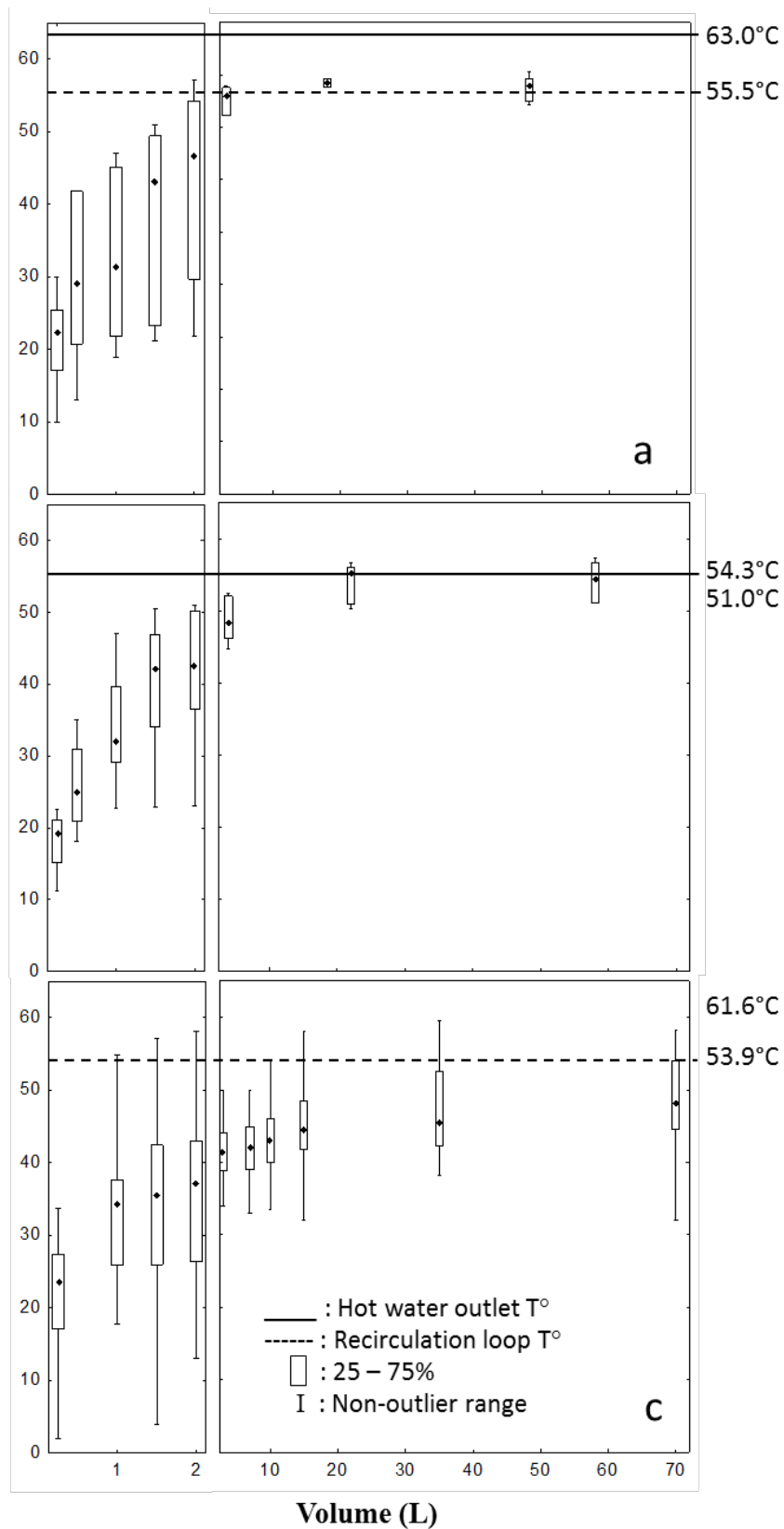


Fig. 3: Hot water temperature profiles at points-of-use as a function of volume for a) systems 1, 2 and 3 grouped, $n = 7$; b) system 4, $n = 7$; c) system 5, $n = 36$. Mean temperature at the hot water production unit outlet and at the return loop are shown for each system.

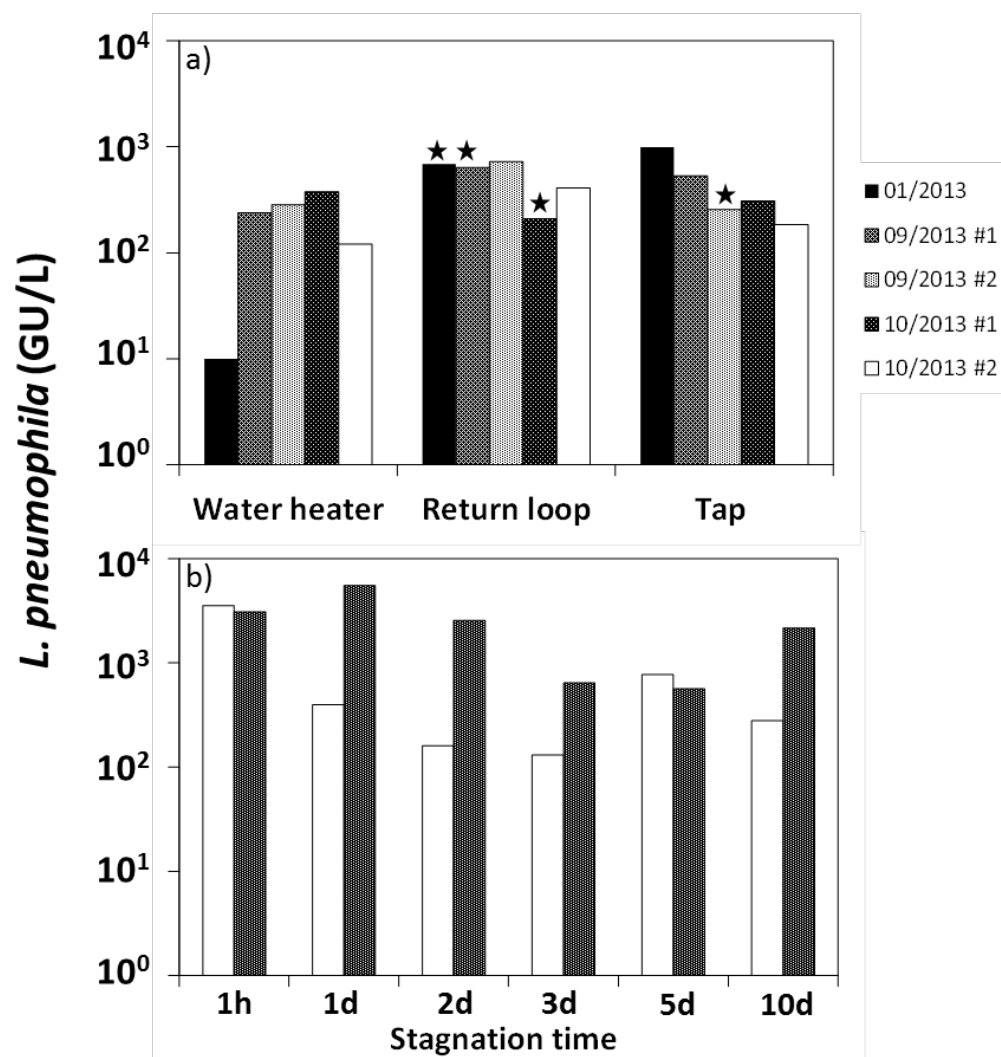


Fig. 4 Variability of *L. pneumophila* concentration measured by qPCR (a) in system 3, for repeat sampling events (Jan, Sept (1 & 2), Oct (1 & 2)) where culture positive samples are marked by a star (b) in system 5, after different water stagnation times for taps A (white) and B (gray).

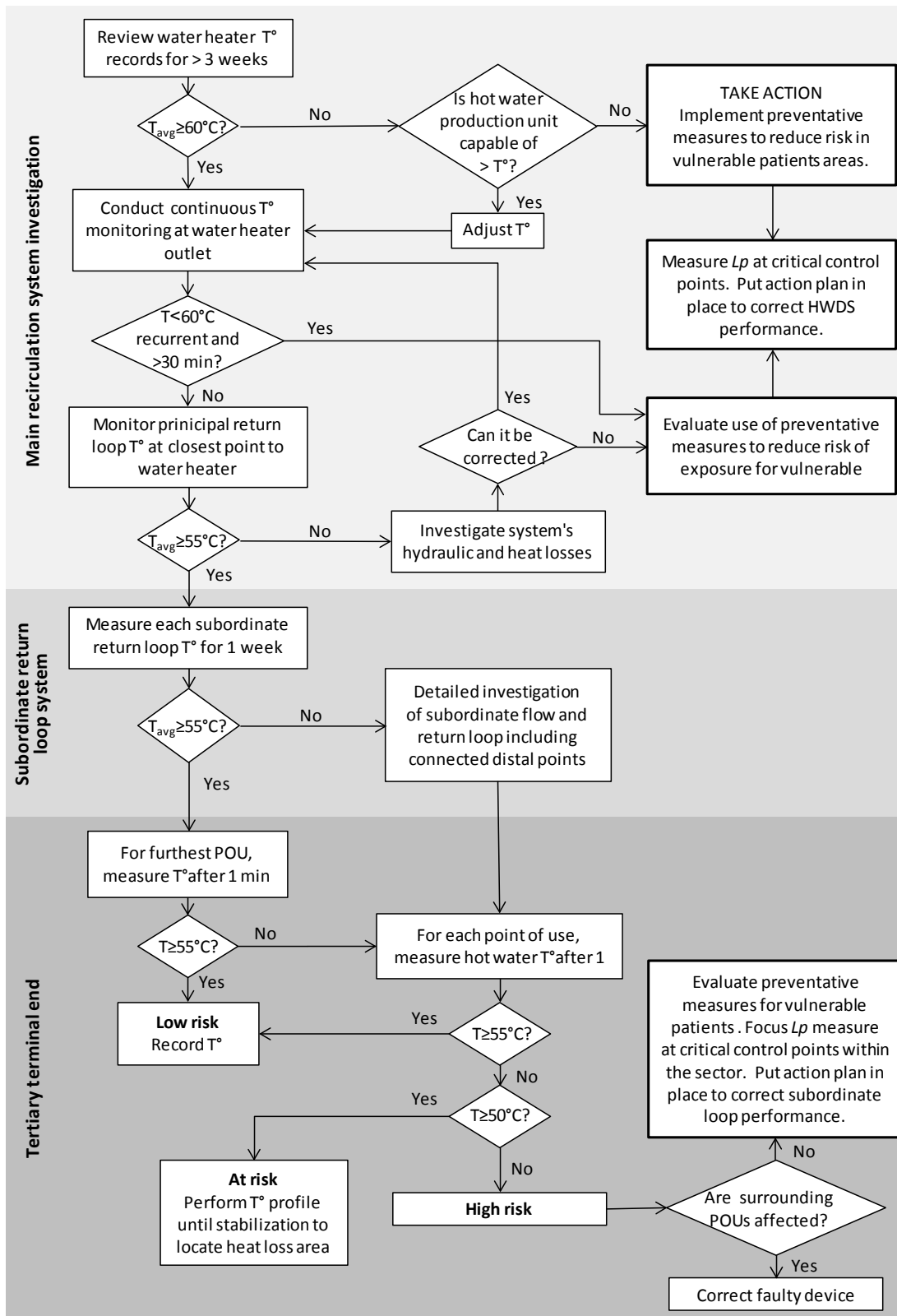


Fig. 5 Diagnostic flowchart for the initial assessment of *Legionella* risk in an existing HWDS

Table 2: Proposed risk classification based on temperature control points

Risk of amplification	Temperature criteria					Studied system classification
	Water heater outlet	Return loop	Taps or points of use	Heat loss		
				Mean	Max	
Very low	≥ 60°C At all times	> 55°C	> 55°C after 1 min	< 5°C	< 5°C	1
Low	≥ 60°C 90%	> 55°C	> 55°C after 1 min	< 5°C	< 10°C	
At risk	≥ 60°C < 90%	> 50°C	> 50°C after 2 min	<10°C	>10°C	2, 3
High risk	≥ 60°C < 50%	< 50°C	< 50°C after 5 min	> 10°C	> 10°C	4, 5