

# Étude de la contamination microbiologique de spas publics au Québec

INSTITUT NATIONAL  
DE SANTÉ PUBLIQUE  
DU QUÉBEC

Québec 



# Étude de la contamination microbiologique de spas publics au Québec

Direction des risques biologiques,  
environnementaux et occupationnels

Mai 2009



Faculté de médecine  
Département de médecine sociale et préventive



## AUTEURS

Nicholas Brousseau, M.D.  
Département de médecine sociale et préventive  
Université Laval  
et  
Institut national de santé publique du Québec

Benoît Lévesque, M.D., M. Sc., FRCPC  
Département de médecine sociale et préventive  
Université Laval  
et  
Institut national de santé publique du Québec

Thibault Guillemet, B. Ing.  
Institut national de santé publique du Québec

Denis Gauvin, M. Sc.  
Institut national de santé publique du Québec

Jean-Philippe Giroux, B. Sc.  
Institut national de santé publique du Québec

Philippe Cantin, Ph. D.  
Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

Suzanne Gingras, M. Sc.  
Institut national de santé publique du Québec

Dany Laverdière  
Centre de recherche du Centre hospitalier universitaire de Québec

*Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.*

*Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : [droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca](mailto:droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca).*

*Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.*

DÉPÔT LÉGAL – 3<sup>e</sup> TRIMESTRE 2009  
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC  
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES CANADA  
ISBN : 978-2-550-56587-1 (VERSION IMPRIMÉE)  
ISBN : 978-2-550-56588-8 (PDF)

©Gouvernement du Québec (2009)

## REMERCIEMENTS

Nous désirons tout d'abord remercier l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail qui a financé cette étude ainsi que tous les gestionnaires de spas qui ont accepté de participer au projet.

Nous voulons également remercier tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin aux différentes étapes de l'étude et à la préparation de ce rapport. En particulier, les supports de M<sup>mes</sup> Michèle Fortin, Nicole Lepage, Lise Simoneau, Denise Mercier, Annie Pellerin ainsi que de M. Daniel Bolduc ont été très appréciés.

Les participations de MM. Pierre-André Côté, François Proulx et Éric Leuenberger ont également été importantes sur le plan de l'expertise qu'ils nous ont apportée.

Finalement, nous remercions les partenaires du ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec ainsi que des directions de santé publique des régions où s'est déroulée la collecte des données. Un grand merci donc à M<sup>me</sup> Sonia Boivin, M. Jean-François Duchesne, M. Fabien Gagnon, M. Marc Gignac, M<sup>me</sup> Lucie Laflamme, M<sup>me</sup> Renée Levaque, M. André Morasse et M<sup>me</sup> Hélène Tremblay pour leur excellente collaboration sans laquelle ce projet n'aurait pu être réalisé.



## RÉSUMÉ

Les spas (aussi appelés bains à remous) constituent, en raison de la température élevée de l'eau, un écosystème particulier concernant la flore microbienne qu'on peut y retrouver. Nous notons, entre autres, une possibilité plus élevée d'identifier deux bactéries bien adaptées à l'eau chaude et résistantes aux désinfectants, *Legionella* spp. et *Pseudomonas aeruginosa*. Plusieurs éclosions de légionellose, une infection qui entraîne souvent une pneumonie sévère, ont été documentées à travers le monde suite à la fréquentation des spas (cependant, jusqu'à maintenant, aucune éclosion de ce type en relation avec les spas n'a été rapportée au Québec). Il est également bien connu que des infections par *P. aeruginosa*, notamment une affection de la peau nommée folliculite, sont associées à la fréquentation de ces bassins. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur la contamination microbiologique des spas, sur les paramètres d'entretien qui permettent d'éviter cette contamination et sur la surveillance de la qualité de l'eau qui doit être faite.

Cette étude visait à déterminer la prévalence de deux bactéries susceptibles d'entraîner des problèmes de santé chez les personnes qui fréquentent les spas, soit *Legionella* spp. et *P. aeruginosa*. La prévalence d'*Escherichia coli* a également été évaluée, un indicateur de salubrité souvent utilisé pour les eaux récréatives. Afin de pallier la lourdeur méthodologique associée à l'analyse de *Legionella* spp. par culture en microbiologie classique, nous voulions également évaluer la possibilité d'utiliser une méthode moléculaire (PCR temps réel) pour la surveillance de la qualité de l'eau des spas. Finalement, le lien entre l'entretien des bassins et leur contamination microbiologique a été étudié.

Afin de répondre à ces objectifs, l'eau de 95 spas publics de trois régions de la province de Québec (Canada) a été analysée durant l'été 2008. En plus des trois bactéries mentionnées précédemment, plusieurs paramètres physicochimiques (pH, concentration de désinfectant, etc.) ont été mesurés et les responsables des spas ont répondu à un questionnaire sur l'entretien de leur bassin. En fonction des résultats, nous avons créé trois variables microbiologiques d'intérêt, soit la détection de l'une ou l'autre des bactéries étudiées, la détection de *P. aeruginosa* et la détection de bactéries en concentrations préoccupantes (*Legionella* spp. supérieure ou égale à 500 unités formant colonie [UFC]/l ou *P. aeruginosa* supérieure ou égale à 51 UFC/100 ml ou *E. coli* supérieure ou égale à 1 UFC/100 ml). Nous avons examiné la relation entre, d'une part, la présence de ces bactéries et, d'autre part, les paramètres physicochimiques ainsi que les variables associées à l'entretien du bassin.

Une proportion de 2 % des spas était contaminée par *E. coli*, 41 % par *P. aeruginosa* et 22 % par *Legionella* spp. Des bactéries ont été détectées dans 51 % des spas et nous en avons retrouvées en concentrations préoccupantes dans 25 % des bassins. Concernant *Legionella* spp., les concentrations obtenues par PCR temps réel et par culture ont été comparées. Une corrélation statistiquement significative a été trouvée entre ces deux méthodes, mais la faible valeur prédictive positive (35 %) du PCR en temps réel limite son utilité pour la surveillance microbiologique.

Les paramètres chimiques variaient beaucoup d'un bassin à l'autre. À titre d'exemple, les étendues des valeurs respectives de chlore libre et de brome total allaient de 0,1 à 33 mg/l et de 0,3 à 35 mg/l, plusieurs résultats étant inférieurs ou supérieurs aux niveaux recommandés. Selon les modèles utilisés, des concentrations de désinfectant  $\geq 2$  mg/l pour le chlore libre ou  $\geq 3$  mg/l pour le brome total, un

potentiel d'oxydoréduction  $> 650$  mV, un pH  $< 7,2$  ainsi que l'utilisation de chlore plutôt que de brome étaient associés significativement ( $p \leq 0,05$ ) à l'absence de *P. aeruginosa*. Des concentrations de désinfectant  $\geq 2$  mg/l pour le chlore libre ou  $\geq 5$  mg/l pour le brome total, un POR  $> 650$  mV ainsi que l'utilisation de chlore plutôt que de brome étaient associées significativement à une absence de contamination microbiologique. Finalement, des concentrations de désinfectant  $\geq 2$  mg/l pour le chlore libre ou  $\geq 3$  mg/l pour le brome total, un POR  $> 650$  mV, une vidange et un nettoyage fréquents du spa et une turbidité faible de l'eau étaient des facteurs de protection contre la présence de bactéries en concentrations préoccupantes. Cependant, nous avons détecté *P. aeruginosa* et *Legionella* spp. dans respectivement 28 % (15/54) et 15 % (8/52) des spas avec des concentrations de désinfectant supérieures ou égales à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total, indiquant ainsi la difficulté de contrôler totalement la flore bactérienne dans ce type de bassin.

Une prévalence de contamination préoccupante dans 25 % des spas n'est pas négligeable. Néanmoins, nous constatons qu'elle peut être prévenue par un entretien et une gestion adéquats axés sur une filtration efficace, un nettoyage fréquent du spa et une bonne concentration de désinfectant. À cet effet, la variation importante des concentrations de chlore libre et de brome total est un autre élément préoccupant qui indique la difficulté de maintenir des concentrations stables dans de telles installations. Seulement quatre spas étaient équipés de systèmes automatisés de désinfection et de contrôle du pH. Il serait pertinent de vérifier quelles sont les barrières à l'utilisation d'une telle technologie.

Puisqu'il semble ardu d'assurer l'absence complète de *Legionella* spp. dans les spas, il serait préférable pour les personnes sévèrement immunodéprimées (entre autres les personnes sous traitement immunosuppresseur suite à un cancer ou une greffe) d'éviter de fréquenter ces bassins.

Par ailleurs, malgré la bonne volonté de la majorité d'entre eux, plusieurs gestionnaires ne connaissaient pas l'existence du règlement en vigueur au Québec relatif à la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels. De plus, seulement quatre responsables affirmaient avoir reçu une formation concernant l'entretien de ces bassins.

À travers le monde, la majorité des règlements traitant des piscines s'applique également aux spas. Considérant la popularité grandissante des spas, des efforts devraient être faits pour adapter les recommandations et les réglementations à ce type de bassin qui abrite un écosystème nettement différent des piscines récréatives. Enfin, des activités d'information, de sensibilisation et de formation des gestionnaires sont nécessaires pour favoriser un meilleur entretien et une meilleure surveillance de la qualité de l'eau de ces installations.



## TABLE DES MATIÈRES

<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>IX</b>
<b>LISTE DES ACRONYMES.....</b>	<b>XI</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>1 RECENSION DES ÉCRITS.....</b>	<b>3</b>
1.1 Précisions sur les types de bassins et leur terminologie.....	3
1.2 Présentation du sujet .....	3
1.3 Risques microbiologiques .....	4
1.3.1 Informations sur <i>Legionella</i> spp.....	4
1.3.2 Informations sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	10
1.3.3 Informations sur <i>Escherichia coli</i> .....	12
1.4 Entretien de la qualité de l'eau des spas.....	12
1.4.1 Désinfection de l'eau .....	13
1.4.2 Filtration de l'eau.....	15
1.4.3 Mesures d'hygiène pour les baigneurs.....	16
1.4.4 Vidange du bassin.....	16
1.4.5 Nettoyage des spas.....	17
1.4.6 Qualité de l'air .....	17
1.5 Surveillance de la qualité de l'eau des spas .....	17
1.5.1 Surveillance des paramètres physiques de l'eau.....	18
1.5.2 Surveillance des paramètres chimiques de l'eau .....	18
1.5.3 Surveillance des paramètres microbiologiques de l'eau.....	20
1.5.4 Tenue d'un registre .....	21
1.5.5 Autres paramètres d'intérêt .....	21
1.5.6 Inspections visant à vérifier la qualité de l'eau des spas .....	21
1.6 Méthode PCR pour la détection et la quantification de <i>Legionella</i> spp.....	23
<b>2 OBJECTIFS GÉNÉRAUX ET SPÉCIFIQUES DE L'ÉTUDE.....</b>	<b>25</b>
<b>3 ÉTUDE DE LA CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE DE SPAS PUBLICS AU QUÉBEC : UNE ANALYSE DES FACTEURS INFLUENÇANT LA PRÉSENCE DE <i>LEGIONELLA</i> SPP., <i>P. AERUGINOSA</i> ET <i>E. COLI</i>.....</b>	<b>27</b>
3.1 Introduction.....	27
3.2 Matériels et méthodes .....	28
3.2.1 Collecte des données.....	28
3.2.2 Prélèvement des échantillons microbiologiques.....	29
3.2.3 Dénombrement de <i>Legionella</i> spp. par culture.....	29
3.2.4 Dénombrement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29
3.2.5 Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> .....	29
3.2.6 Mesures physicochimiques réalisées sur le site de prélèvement .....	30

3.2.7	Mesure des chlorures en laboratoire .....	30
3.2.8	Données sur l'entretien des spas .....	30
3.2.9	Plan d'analyse .....	31
3.3	Résultats .....	32
3.3.1	Taux de participation et caractéristiques des spas échantillonnés.....	32
3.3.2	Contamination microbiologique des spas .....	32
3.3.3	Description des paramètres physicochimiques de l'eau des spas .....	34
3.3.4	Questionnaire sur l'entretien des spas.....	36
3.3.5	Association entre certaines variables d'entretien et la contamination microbiologique des spas .....	37
3.4	Discussion .....	43
<b>4</b>	<b>ÉVALUATION DE LA <i>POLYMERASE CHAIN REACTION</i> EN TEMPS RÉEL POUR LA QUANTIFICATION DE <i>LEGIONELLA</i> SPP. DANS LES EAUX DE SPAS .....</b>	<b>49</b>
4.1	Introduction .....	49
4.2	Matériels et méthodes.....	50
4.3	Résultats .....	51
4.4	Discussion .....	53
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>55</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>57</b>
	<b>ANNEXE 1 QUESTIONNAIRE DE L'ÉTUDE.....</b>	<b>71</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Caractéristiques cliniques respectives de la maladie des légionnaires et de la fièvre de Pontiac.....	5
Tableau 2	Normes et limites de référence microbiologiques pour quelques pays d'Europe et les États-Unis .....	20
Tableau 3	Normes microbiologiques selon chaque province canadienne et nécessité d'effectuer une surveillance périodique des paramètres microbiologiques .....	21
Tableau 4	Sommaire de la HPA pour l'entretien recommandé des spas et la surveillance de la qualité de leur eau .....	22
Tableau 5	Nombre d'établissements et de spas visités .....	32
Tableau 6	Prévalence de <i>Legionella</i> spp., <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i> dans les spas étudiés .....	33
Tableau 7	Prévalence de la présence de l'une ou l'autre des bactéries en relation avec l'importance de la contamination.....	33
Tableau 8	Valeurs des paramètres chimiques reliés à la désinfection selon le produit désinfectant utilisé.....	35
Tableau 9	Étendue, moyenne, médiane et écart-type des principaux paramètres physicochimiques analysés .....	36
Tableau 10	Variables d'intérêt au regard de la relation entre l'entretien des spas et leur contamination microbiologique (associations non ajustées).....	38
Tableau 11	Rapports de prévalence ajustés des variables reliées à la présence de bactéries en concentrations préoccupantes .....	40
Tableau 12	Rapports de prévalence ajustés des variables reliées à la détection de toute bactérie .....	41
Tableau 13	Rapports de prévalence ajustés des variables reliées à la détection de <i>P. aeruginosa</i> .....	41
Tableau 14	Concentrations en <i>Legionella</i> spp. par culture et par PCR en temps réel dans des eaux de spas (n = 101).....	52
Tableau 15	Comparaison de la détection de <i>Legionella</i> spp. par PCR temps réel par rapport à celle par culture (méthode standard) dans des eaux de spas (n = 101) .....	53



## LISTE DES FIGURES

Figure 1	Risques associés aux spas et stratégies pour les réduire .....	4
Figure 2	Proportion respective des types de cas de légionellose en Europe, par année de survenue .....	7
Figure 3	Les proportions de chlore libre et de brome libre efficaces en fonction du pH de l'eau.....	15
Figure 4	Biofilm présent sur la paroi interne de la tuyauterie d'un spa .....	17
Figure 5	Sondes utilisées pour le suivi en continu de la qualité de l'eau d'un bassin.....	19
Figure 6	Comparaison des concentrations en <i>Legionella</i> spp. obtenues par PCR temps réel avec celles obtenues par culture pour des eaux de spas (n = 101) .....	53



## LISTE DES ACRONYMES

AFSSET :	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
BCDMH :	1-bromo-3-chloro-5,5-diméthylhydantoïne
BCYE :	<i>Buffered charcoal yeast extract</i>
CDC :	Centers for Disease Control and Prevention
CEAEQ :	Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
DDASS :	Direction départementale des affaires sanitaires et sociales
DPD :	N-N diéthyl-p-phénylènediamine
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i>
EWGLI :	European Working Group for Legionella Infections
EWGLINET:	European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease
FAM :	<i>6-Carboxyfluorescein</i>
GVPC :	Glycine-vancomycine-polymyxine-cycloheximide
HOB <sub>r</sub> :	Acide hypobromeux
HOCl :	Acide hypochloreux
HPA :	Health Protection Agency
INSPQ :	Institut national de santé publique du Québec
l :	Litre
<i>L. pneumophila</i> :	<i>Legionella pneumophila</i>
MDDEP :	Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec
mg :	Milligramme
ml :	Millilitre
mV :	Millivolt
NaCl :	Chlorure de sodium
OBr <sup>-</sup> :	Ion hypobromite
OCl <sup>-</sup> :	Ion hypochlorite
OMS :	Organisation mondiale de la Santé
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PCR :	<i>Polymerase chain reaction</i>
pH :	Potentiel hydrogène
POR :	Potentiel d'oxydoréduction
ppm :	Partie par million
RP :	Rapport de prévalence
RT-PCR :	<i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>
UFC :	Unité formant colonie
UG :	Unité de génome
UTN :	Unité de turbidité néphélométrique
UV :	Ultraviolet





## INTRODUCTION

Ce rapport a été réalisé grâce à la collaboration de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (AFSSET), de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) et du Département de médecine sociale et préventive de l'Université Laval. Il répond à certaines incertitudes importantes liées à la qualité de l'eau des spas ou bains à remous (le terme spa sera utilisé au cours du présent rapport). Les trois objectifs suivants étaient poursuivis dans le cadre de cette étude :

- Décrire la qualité microbiologique de l'eau des spas publics de trois régions du Québec en caractérisant leur contamination par des organismes pathogènes d'intérêt (*Legionella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*);
- Étudier l'adéquation entre les mesures d'entretien effectuées et la contamination microbiologique de l'eau des spas publics de trois régions du Québec;
- Comparer une méthode rapide de quantification de *Legionella* spp. par PCR en temps réel dans les spas avec le test de référence actuel (méthode par culture).

Dans un premier temps, une revue de littérature décrivant la problématique est présentée. Elle aborde successivement les risques microbiologiques reliés aux spas, l'entretien recommandé de ces bassins et les mesures possibles de surveillance de la qualité de l'eau. Par la suite, les résultats de l'étude sont rapportés sous la forme de deux articles scientifiques. Ces articles seront soumis sous peu à un périodique avec révision par des pairs. Le premier article répond aux deux premiers objectifs. Il décrit la qualité de l'eau des 95 spas étudiés et se penche sur les facteurs les plus importants qui étaient liés à la présence de contamination microbiologique. Le second article répond au troisième objectif : deux méthodes d'identification de la bactérie *Legionella* spp. sont comparées. Enfin, la conclusion résume les points importants et présente quelques recommandations qui découlent de l'analyse des données collectées et de la revue de littérature effectuée.

Bonne lecture!



# 1 RECENSION DES ÉCRITS

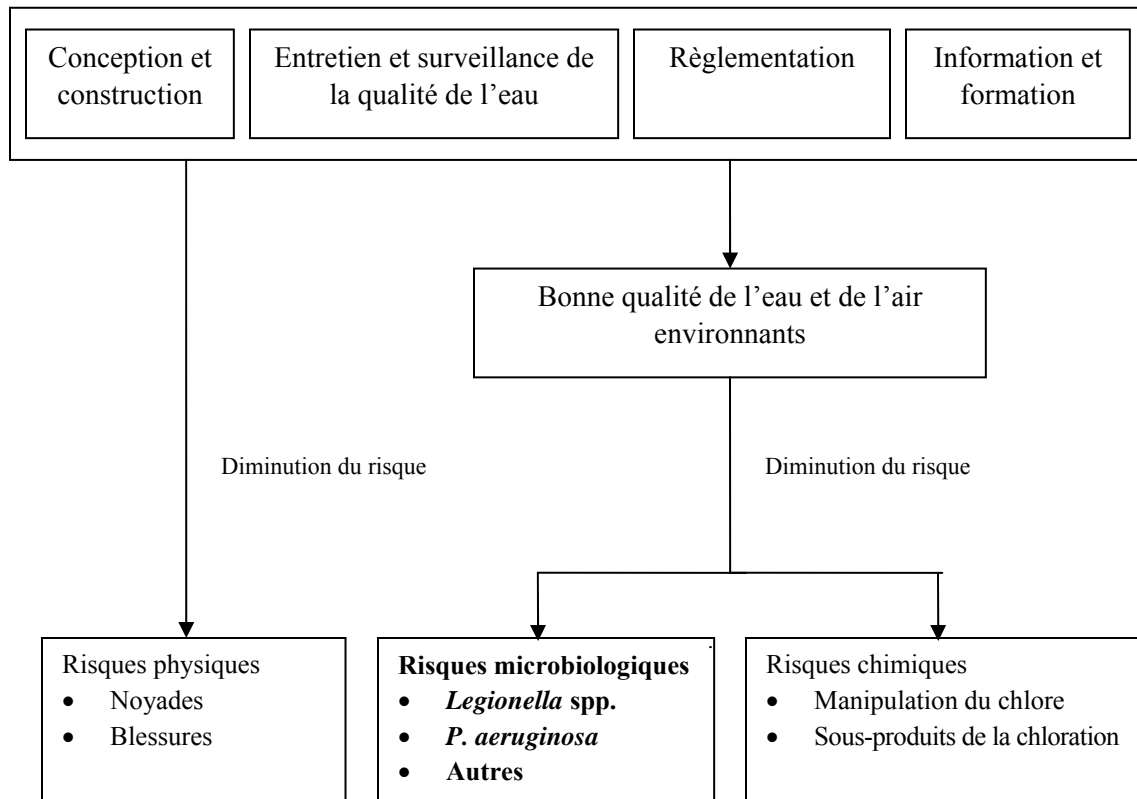
## 1.1 PRÉCISIONS SUR LES TYPES DE BASSINS ET LEUR TERMINOLOGIE

La terminologie des bassins d'eau utilisés à des fins récréatives est parfois confondante. Le terme « spa » est ici l'équivalent français des termes anglais « *hot tub* » ou « *spa pool* », c'est-à-dire un bassin d'eau, intérieur ou extérieur, conçu pour se baigner en position assise plutôt que pour nager. Des jets sont présents et l'eau est chauffée à plus de 32 °C. L'eau est traitée, mais n'est pas systématiquement changée à chaque utilisation<sup>150,155</sup>. Les termes « bain à remous », « jacuzzi » ou « *whirlpool spa* » peuvent également être considérés comme des synonymes. Le terme « bain tourbillon » serait cependant à éviter<sup>115</sup>. Cette étude exclut les sources d'eau thermale en milieu naturel (*natural spas*, *thermal spas* ou *hot springs*) où l'eau fait souvent l'objet d'une désinfection minimale. Elle exclut aussi les baignoires à remous (*whirlpool baths*), installations résidentielles pour une ou deux personnes qui sont vidées après chaque utilisation. Au niveau des écrits scientifiques, le terme « spa » semble celui qui soit le plus souvent rencontré.

Les spas peuvent être considérés comme publics ou privés (résidentiels). Des exemples de spas publics sont ceux situés dans les centres sportifs, les hôtels ou les campings. Les spas publics font souvent l'objet d'une réglementation en lien avec leur entretien, contrairement aux spas privés<sup>63,70</sup>. Dans le cadre de cette étude, l'attention est uniquement portée sur les spas publics.

## 1.2 PRÉSENTATION DU SUJET

Il existe divers types de risques en lien avec les spas. La Figure 1, inspirée d'un document de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS)<sup>150</sup> les illustre de façon schématique. Elle montre aussi les grandes stratégies pour réduire ces risques. Ce rapport s'attarde principalement aux risques microbiologiques reliés aux spas publics.



**Figure 1 Risques associés aux spas et stratégies pour les réduire**

Source : OMS, 2006<sup>150</sup>.

### 1.3 RISQUES MICROBIOLOGIQUES

Les risques liés à trois bactéries sont particulièrement traités dans cette section du fait de leur impact sanitaire significatif : *Legionella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. D'autres microorganismes présents dans les spas peuvent plus rarement causer certains problèmes de santé, par exemple des mycobactéries<sup>102</sup>.

#### 1.3.1 Informations sur *Legionella spp.*

*Legionella spp.* est une bactérie ubiquitaire dans les environnements aquatiques naturels et artificiels et peut survivre dans une grande variété de conditions environnementales<sup>149</sup>. Son nom provient de la première éclosion de pneumonies qui lui fut associée, où plusieurs anciens légionnaires de l'armée américaine furent infectés lors d'un congrès à Philadelphie<sup>56</sup>. Le genre *Legionella* regroupe au moins 50 espèces et 70 sérogroupe différents<sup>14,51,149</sup>. Le terme « spp. » est utilisé lorsqu'on traite de toutes ces espèces. *Legionella pneumophila* est l'espèce la plus souvent en cause lors d'éclosions<sup>14,51</sup>.

### 1.3.1.1 Présentation clinique

L'infection causée par *Legionella* spp., la légionellose, peut se présenter sous deux formes cliniques au profil différent : la fièvre de Pontiac et la maladie des légionnaires. La fièvre de Pontiac est une maladie qui imite un syndrome grippal. Les symptômes apparaissent souvent en moins de 24 heures et se résolvent sans traitement après quelques jours. Son taux d'attaque, très élevé, varie souvent entre 50 et 80 %<sup>110</sup>. La physiopathologie liée à la fièvre de Pontiac fait l'objet de plusieurs hypothèses, mais n'est pas encore élucidée complètement<sup>52,88,106,127</sup>.

La maladie des légionnaires, une infection beaucoup plus sévère, se manifeste sous la forme d'une pneumonie. Sa létalité, dont la tendance est à la baisse, se situe autour de 12 %<sup>14,149</sup>. La diminution de la létalité peut possiblement s'expliquer par l'arrivée de nouveaux tests diagnostiques et de traitements antibiotiques plus efficaces<sup>149</sup>. La maladie des légionnaires atteint surtout les personnes vulnérables, par exemple les personnes âgées chez qui la létalité est beaucoup plus élevée. La période d'incubation, plus longue que celle de la fièvre de Pontiac, est généralement de 2 à 10 jours, ce qui peut représenter un défi pour l'investigation d'éclosions<sup>17</sup>. Le taux d'attaque est beaucoup plus faible que pour la fièvre de Pontiac, soit de 0,1 à 5 %<sup>20</sup>.

Une éclosion n'implique généralement qu'une des deux formes cliniques de la légionellose, ce qui peut s'expliquer par leur physiopathologie différente. Des éclosions où les deux présentations cliniques sont présentes ont cependant été décrites<sup>13</sup>. Par ailleurs, une proportion importante des personnes exposées à cette bactérie peut demeurer asymptomatique<sup>20</sup>.

Le Tableau 1 résume les caractéristiques respectives de la maladie des légionnaires et de la fièvre de Pontiac<sup>149</sup>.

**Tableau 1** Caractéristiques cliniques respectives de la maladie des légionnaires et de la fièvre de Pontiac

Caractéristiques cliniques	Maladie des légionnaires	Fièvre de Pontiac
Période d'incubation	2 à 10 jours, rarement plus de 20	5 heures à 3 jours, plus souvent 24 à 48 heures
Durée de la maladie	Semaines	2 à 5 jours
Létalité	Environ 12 %, mais variable selon la susceptibilité (jusqu'à 40 à 80 % dans les hôpitaux)	Nulle
Taux d'attaque	Population générale : 0,1 à 5 % Hôpitaux : 0,4 à 14 %	Habituellement entre 50 et 80 % (jusqu'à 95 %)
Symptômes	Non spécifiques : Faiblesse, fièvre élevée, céphalées, toux sèche, frissons, douleurs musculaires, dyspnée, douleur à la poitrine, diarrhée, nausées et vomissements, confusion, delirium, insuffisance rénale, hyponatrémie et augmentation des niveaux de lactate déshydrogénase Résistance fréquente de la maladie à plusieurs antibiotiques	Syndrome grippal, fatigue, fièvre élevée, frissons, douleurs musculaires, céphalées, arthralgies, diarrhée, nausées et vomissements, dyspnée et toux sèche

Source : OMS, 2007<sup>149</sup>.

### 1.3.1.2 Sources d'infection possibles

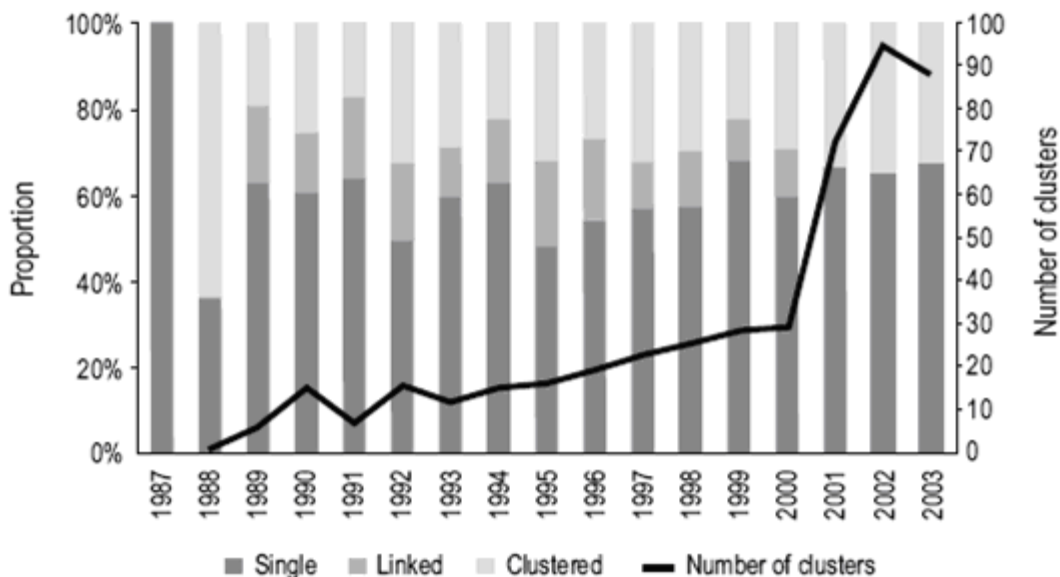
La légionellose résulte de l'inhalation d'aérosols contaminés ou de l'aspiration d'eau contaminée par *Legionella* spp.<sup>51</sup>. Les aérosols émanant des spas en sont un bon exemple. Les eaux de tours aéroréfrigérantes (tours de refroidissement) ont tout d'abord été associées à des éclosions de légionellose<sup>56</sup>. Différents réseaux d'eau (milieux hospitalier, hôtelier, résidentiel, etc.) ont ensuite été incriminés<sup>1</sup>. Des éclosions ont aussi été liées à des condenseurs à évaporation, des humidificateurs, des équipements de thérapie respiratoire et des fontaines<sup>15,116</sup>. La plus grande éclosion de maladie des légionnaires, causée par une tour aéroréfrigérante, est survenue en Espagne en 2001. Plus de 800 cas furent suspectés et 449 furent confirmés<sup>57</sup>.

### 1.3.1.3 Épidémiologie de la légionellose

L'incidence rapportée de la légionellose, qui est variable selon les pays, oscille généralement entre 0,1 et 2,4 par 100 000 personnes-années<sup>149</sup>. Cependant, Marston *et al.*<sup>103</sup> mentionnent que moins de 5 % des cas de maladie des légionnaires seraient rapportés aux Centers for Disease Control and Prevention (CDC). En plus de la nature imparfaite des tests diagnostiques utilisés, un manque d'attention clinique, où une antibiothérapie est donnée aux patients atteints de pneumonie sans investigation pour *Legionella* spp., expliqueraient en bonne partie la sous-évaluation de l'incidence<sup>51</sup>. En France et au Danemark, où un système de surveillance est bien implanté, l'incidence de la maladie des légionnaires est près de trois fois plus élevée que la moyenne européenne<sup>149</sup>. Le même phénomène est observé aux Pays-Bas où une éclosion importante de maladie des légionnaires en 1999 a entraîné un renforcement des méthodes de surveillance et de diagnostic<sup>135</sup>. L'incidence de la maladie des légionnaires en Europe est passée de 0,4 à 0,8 par 100 000 personnes-années entre 1993 et 2004, ce qui peut refléter l'attention plus grande portée à cette infection<sup>149</sup>. Par ailleurs, il y aurait également des différences nationales au niveau de la proportion des pneumonies causées par *Legionella* spp.<sup>82,104</sup>.

Les hommes, les fumeurs, les personnes âgées et les personnes atteintes de maladies chroniques ou d'immunosuppression sont particulièrement à risque de développer la maladie des légionnaires<sup>14,51,103</sup>.

Il ne semble pas y avoir de transmission de personne à personne pour les deux entités cliniques, soit la fièvre de Pontiac et la maladie des légionnaires<sup>136</sup>. Bien que des éclosions de légionellose soient fréquemment décrites, la plupart des cas, de 46 à 74 %, seraient sporadiques<sup>13,44</sup>. Par contre, étant donné la sous-estimation importante de l'incidence de la légionellose, chaque cas sporadique pourrait être le signe d'une éclosion sous-jacente<sup>51</sup>. La Figure 2 montre l'augmentation du nombre d'éclosions (*clusters*) de légionellose rapportées annuellement à l'European Working Group for Legionella Infections (EWGLI) et la proportion des cas survenant lors d'éclosions (*clustered*)<sup>149</sup>.



**Figure 2 Proportion respective des types de cas de légionellose en Europe, par année de survenue**

Source : OMS, 2007<sup>149</sup>.

Entre 20 et 50 % des cas de maladie des légionnaires surviennent en contexte de voyage, comme ce fut le cas lors de la première écloison décrite chez des anciens combattants à l'occasion d'un congrès<sup>13,149</sup>. Les spas sont un exemple de source d'infection qui implique fréquemment des voyageurs<sup>13,84,136</sup>. Ce phénomène représente un défi pour l'investigation d'écloisions puisque les cas symptomatiques sont souvent dispersés, une conséquence de l'incubation longue de la maladie<sup>13</sup>. D'autres embûches à l'investigation d'une écloison de maladie des légionnaires sont son taux d'attaque faible, le diagnostic peu fréquent des cas et les faiblesses des systèmes de surveillance<sup>13,51</sup>. Un système européen, nommé EWGLINET (European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease), est actuellement en place pour faciliter l'investigation d'écloisions de légionellose chez des touristes de différentes nationalités<sup>149</sup>. Ce système permet également de fournir des données de surveillance exhaustives sur les cas de légionellose en Europe.

#### 1.3.1.4 Facteurs favorisant la prolifération de *Legionella* spp.

La survie et la prolifération de *Legionella* spp. (et d'autres bactéries comme *P. aeruginosa*) dans les milieux aquatiques sont grandement favorisées par la présence d'un biofilm<sup>7</sup>. Un biofilm est un écosystème microbien hétérogène qui se développe sur les parois, conduits et filtres d'installations comme les spas<sup>149</sup>. La présence concomitante d'amibes au sein de ces biofilms profite également à *Legionella* spp. puisqu'elle se multiplie facilement à l'intérieur de ces dernières<sup>7</sup>. Ces deux facteurs sont un frein à l'efficacité des désinfectants, car ils protègent habilement *Legionella* spp. contre leur effet bactéricide<sup>7</sup>. L'éradication de ces biofilms pourrait donc être une mesure efficace pour le contrôle de la prolifération de *Legionella* spp. dans les systèmes d'eau<sup>51</sup>. Le nettoyage des parois d'un spa est un exemple de mesure pour restreindre l'étendue de ces biofilms. Par ailleurs, une température de l'eau entre 25 et 42 °C favorise la croissance de *Legionella* spp. dans les milieux aquatiques<sup>51</sup>. Les spas, où l'on retrouve l'ensemble de ces facteurs, peuvent donc être considérés comme des milieux idéaux pour la prolifération de *Legionella* spp.

#### 1.3.1.5 *Légionellose et spas*

Au cours des dernières années, plusieurs éclosions de maladie des légionnaires et de fièvre de Pontiac ayant comme source un spa ont été identifiées<sup>15,17,39,41,50,52,83,84,106,112,136,137</sup>. Pour les années 2005-2006, les CDC<sup>154,156</sup> rapportent que 35 % (8/23) des éclosions d'origine hydrique causées par *Legionella* spp. étaient reliées à un spa. Pour les années 2003-2004, les CDC rapportent seulement quatre éclosions de légionellose liées aux spas, mais l'une d'elles a provoqué six cas de maladie des légionnaires et 101 cas de fièvre de Pontiac<sup>50</sup>.

La première éclosion de fièvre de Pontiac liée à un spa, où 34 cas ont été rapportés, est survenue en 1981<sup>136</sup>. Une éclosion importante de maladie des légionnaires s'est produite aux Pays-Bas en 1999 : 133 cas ont été confirmés et 21 personnes sont décédées<sup>41</sup>. Cette éclosion ne fut pas secondaire à la baignade dans le bassin, mais au simple fait de marcher à proximité. Une éclosion similaire a causé cinq décès en Belgique en 1999<sup>75</sup>. Au Japon, 295 cas de légionellose liés à un spa ont été suspectés en 2002, une éclosion importante par rapport à d'autres décrites dans ce pays<sup>89,112</sup>. Des éclosions ayant comme source un spa sont également survenues sur des bateaux de croisière. L'une d'elles a été associée à 50 cas de maladie des légionnaires en 1994<sup>84</sup>.

Au Canada, aucune éclosion de légionellose liée aux spas n'a été identifiée dans le cadre de notre revue de littérature. Il semble cependant que l'incidence déclarée de la maladie soit fortement liée à l'attention qui y est portée<sup>103,135</sup>. Considérant la popularité croissante de ces bassins, cette infection pourrait représenter un risque notable du point de vue sanitaire<sup>29</sup>.

#### 1.3.1.6 *Contamination microbiologique des spas par Legionella spp.*

Groothuis *et al.*<sup>71</sup> ont retrouvé l'espèce *L. pneumophila* dans 39 % (11/28) des spas échantillonnés lorsque l'eau contenait moins de 0,3 mg/l de chlore libre et dans aucun spa (0/23) lorsque l'eau contenait plus de 0,3 mg/l de chlore libre, ce qui les a amenés à suggérer cette limite pour éliminer le risque de légionellose en lien avec ces bassins. Heng *et al.*<sup>76</sup> ont quant à eux retrouvé la bactérie dans 2 % (1/48) des spas échantillonnés, ce qui était une proportion moindre que pour les tours aéroréfrigérantes (36 %), les fontaines (15-29 %) et les chutes d'eau (15 %). Par contre, aucune information n'était donnée sur les caractéristiques des spas et sur leur entretien. À notre connaissance, aucune étude récente regroupant un grand nombre de bassins n'a été publiée dans la littérature au regard de la prévalence de *Legionella* spp. dans les spas. Quelques études se sont penchées sur la prévalence de *Legionella* spp. dans des sources thermales, mais la méthodologie utilisée de même que les résultats étaient fort variables. Globalement, entre 5 et 72 % des endroits échantillonnés contenaient la bactérie<sup>79,100,134,143</sup>.

#### 1.3.1.7 *Relation dose-réponse pour Legionella spp.*

La relation entre le degré de contamination microbiologique par *Legionella* spp. et les risques pour la santé humaine est mal connue<sup>149</sup>. Pour les réseaux d'eau hospitaliers, certains auteurs affirment que le risque est davantage lié au pourcentage de sites qui sont positifs qu'à la concentration de *Legionella* spp. retrouvée<sup>140</sup>. Pour les réseaux d'eau en général, Miller et Kenepp ont avancé qu'il y



avait un risque à partir de 1 000 000 UFC<sup>a</sup>/l<sup>125</sup>. Quant aux éclosions liées aux tours aéroréfrigérantes, les concentrations de *Legionella* spp. retrouvées sont habituellement au-delà de 100 000 UFC/l<sup>149</sup>.

Peu de données sur ce sujet sont disponibles en lien avec les spas. Lorsque mesurées lors d'éclosions, des concentrations élevées de *Legionella* spp., soit plus de 10 000 microorganismes par litre, sont fréquemment retrouvées dans ces bassins<sup>39,52,84,112</sup>. Par contre, le délai entre l'éclosion et les prélèvements fait en sorte qu'on ne connaît pas la concentration de *Legionella* spp. au moment de l'exposition.

Le degré de contamination microbiologique n'est qu'un des facteurs pouvant jouer un rôle dans le risque d'infection. La susceptibilité de l'hôte et la virulence de l'espèce de *Legionella* retrouvée sont d'autres facteurs importants<sup>92</sup>. La quantité d'aérosols produite par un spa est un exemple d'un élément dont il faut tenir compte. Certains auteurs tentent actuellement de mieux comprendre la relation entre l'exposition à *Legionella* spp. dans les spas et les risques pour la santé à l'aide d'outils novateurs tels des *quantitative microbial risk assesment (QMRA) models*<sup>3</sup>. D'autres travaux sont cependant nécessaires pour rendre ces modèles précis et utiles.

#### 1.3.1.8 Limites de référence et normes pour *Legionella* spp. dans les spas

Malgré le manque de données disponibles sur la relation entre le degré de contamination des spas par *Legionella* spp. et les risques pour la santé, plusieurs pays et organisations proposent des limites de référence ou encore des normes, assez variables, pour la concentration de *Legionella* spp. dans ces bassins<sup>149</sup>. Par exemple, la Health Protection Agency (HPA)<sup>75</sup> au Royaume-Uni recommande de fermer un spa immédiatement lorsqu'on y retrouve plus de 1 000 UFC/l de *Legionella* spp. Quant à l'OMS<sup>150</sup>, elle propose une limite de référence de 10 UFC/l. À notre connaissance, au Québec et au Canada, aucune norme ou limite de référence concernant *Legionella* spp. ne fait l'objet d'un règlement ou d'un guide de pratique pour les eaux récréatives. En France, *Legionella* spp. ne doit pas être détectée dans les établissements thermaux, mais aucune norme n'est proposée pour les spas<sup>35</sup>.

Pour les réseaux d'eau, les recommandations varient selon les pays et se situe généralement entre 100 et 1 000 UFC/l<sup>149</sup>. La France propose une valeur limite de 1 000 UFC/l pour les réseaux d'eau chaude et les tours aéroréfrigérantes<sup>35</sup>.

#### 1.3.1.9 Surveillance microbiologique de *Legionella* spp. dans les spas

La pertinence d'effectuer des mesures microbiologiques de routine pour *Legionella* spp. est l'objet de débats, et ce, peu importe le type d'installation<sup>16,140</sup>. L'Organisation mondiale de la Santé<sup>149</sup> mentionne que le suivi étroit de la concentration de *Legionella* spp. par culture, technique longue et complexe, est moins pertinent que l'utilisation de mesures de contrôle disponibles en temps réel, par exemple le suivi de la concentration de désinfectant. Il est cependant mentionné que l'analyse de la présence de *Legionella* spp. peut être effectuée à l'occasion, par exemple trimestriellement, pour valider que les méthodes de traitement d'eau utilisées sont efficaces.

---

<sup>a</sup> Les UFC correspondent au nombre d'unités bactériennes viables présentes dans un volume donné et se mesurent par une méthode de culture sur gélose.

En lien avec les spas, l'OMS et la HPA<sup>75,150</sup> proposent de mesurer périodiquement la concentration de *Legionella* spp., mensuellement pour l'OMS et trimestriellement pour la HPA. Par contre, peu de réglementations imposent le contrôle périodique de cette bactérie dans ces bassins<sup>34,65,67</sup>. Le Québec n'a inclus que le contrôle régulier de *E. coli* dans son *Règlement sur les piscines et autres bassins artificiels*<sup>63</sup>. En France, la surveillance de *Legionella* spp. n'est pas prescrite dans la section du Code de la santé publique traitant des bassins artificiels<sup>124</sup>.

### 1.3.2 Informations sur *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire dans l'eau, la végétation et le sol. Elle se caractérise par une résistance importante aux antibiotiques et aux désinfectants. Dans les spas, ce microorganisme pathogène opportuniste peut provenir de l'environnement immédiat ou d'usagers infectés par la bactérie<sup>150</sup>. Le risque sanitaire principal lié à la présence de *P. aeruginosa* dans les spas est une infection de la peau nommée folliculite.

#### 1.3.2.1 Présentation clinique

L'infection des follicules de la peau (folliculite) causée par *P. aeruginosa* est un problème fréquent, mais habituellement bénin. La folliculite apparaît environ 48 heures après l'exposition<sup>150</sup>. Elle se manifeste typiquement par des papules ou pustules érythémateuses et prurigineuses sur le tronc, l'abdomen, les aisselles et les fesses<sup>81</sup>. L'infection se résout spontanément en moins d'une semaine dans la plupart des cas, mais de nouvelles lésions peuvent réapparaître pendant deux mois sans fréquentation de nouveaux bassins d'eau à risque<sup>119</sup>. Le taux d'attaque lors d'éclosions est variable. Une revue de Gustafson *et al.*<sup>72</sup> rapportait des taux d'attaque de 7 à 100 %.

L'otite externe est également une conséquence possible d'une exposition à *P. aeruginosa* dans un spa, même si cette infection est plus souvent associée aux piscines où il y a immersion de la tête. Un spa aurait été associé à 300 cas d'otites externes aux Pays-Bas<sup>148</sup>. Dans ce type de bassin, *P. aeruginosa* a aussi été liée à des infections urinaires<sup>129</sup>, des pneumonies<sup>126</sup>, une kératite<sup>122</sup> et au *hot hand-foot syndrome*<sup>157</sup>.

#### 1.3.2.2 Épidémiologie

La folliculite à *P. aeruginosa* est un problème fréquent et relativement spécifique à l'exposition à l'eau contaminée de bassins chauffés. Elle peut cependant survenir dans d'autres milieux comme les piscines conventionnelles et les glissades d'eau<sup>72,120,145</sup>. Aux États-Unis, pour les années 2003-2004, 8 éclosions de folliculites à *P. aeruginosa* associées aux spas ont été rapportées, dont une touchant 119 personnes<sup>50</sup>. Deux autres furent suspectées, mais non confirmées. Pour les années 1972-1982 aux États-Unis, 72 éclosions où *P. aeruginosa* était suspectée furent rapportées<sup>137</sup>. Au Québec, trois éclosions associées à *P. aeruginosa* ont été rapportées de 2005 à 2007 et 15 personnes ont été affectées<sup>26</sup>. Considérant la popularité croissante des spas, l'incidence de cette infection risque d'augmenter au cours des prochaines années<sup>29,81</sup>.

Une durée de baignade élevée (plus de 30 minutes) et le port d'un maillot de grande taille seraient des facteurs de risque pour développer cette folliculite<sup>80,81</sup>. La prise d'une douche après la baignade ne serait pas protectrice<sup>120,145,157</sup>.

### 1.3.2.3 Prévalence de *Pseudomonas aeruginosa* dans les spas

*Pseudomonas aeruginosa* semble très fréquemment retrouvée dans les spas<sup>97,108,122</sup>. En Irlande du Nord, 16 % des échantillons prélevés dans des spas privés et 8 % des échantillons prélevés dans des spas publics dépassaient 1 UFC/100 ml<sup>108</sup>. Price et Ahearn<sup>122</sup> et Kush et Hoadley<sup>97</sup> ont respectivement détecté cette bactérie dans 93 % (14/15) et 63 % (15/24) des échantillons de spas commerciaux étudiés. Dans la littérature scientifique, nous n'avons cependant recensé aucune étude ayant documenté la prévalence de *P. aeruginosa* dans un nombre élevé de spas publics.

*Pseudomonas aeruginosa* est parfois retrouvée dans les spas malgré la présence de 2 à 3 mg/l de chlore libre, une concentration qui respecte la limite minimale de référence de l'OMS<sup>77,122,137,150</sup>. Des éclosions de folliculites à *P. aeruginosa* peuvent aussi survenir lorsque la concentration de désinfectant et le pH du spa sont adéquats<sup>137</sup>. Enfin, *P. aeruginosa* peut se multiplier et occasionner des folliculites malgré une fréquence de vidange complète du bassin aussi élevée qu'aux 48 heures<sup>81</sup>. Malgré tout, les éclosions sont généralement liées à un entretien inadéquat des spas<sup>72,156</sup>. Moore *et al.*<sup>108</sup> rapportent que la température élevée de l'eau de ces bassins et la chute fréquente de la concentration de désinfectant (causée par l'aération de l'eau par les jets d'air et par l'arrivée subite de plusieurs baigneurs) favorisent la prolifération de cet agent pathogène. Shaw<sup>131</sup> mentionne la résistance importante de *P. aeruginosa* malgré de hautes concentrations de désinfectant. Cette résistance serait surtout due au fait que les désinfectants pénètrent mal les biofilms colonisés par des bactéries comme *P. aeruginosa* et *Legionella* spp. Les spas font souvent l'objet d'une désinfection périodique, ce qui amène des pics et des creux importants au regard des concentrations de désinfectant. Ceci favorise grandement la prolifération de biofilms<sup>156</sup>. *P. aeruginosa* parvient ainsi à coloniser différentes composantes du spa, tels les filtres et la tuyauterie<sup>122,130</sup>.

Concernant la prévention, il est recommandé de porter l'accent sur un entretien et une désinfection adéquats, mesures qui permettent d'éviter les risques pour la santé des utilisateurs dans la vaste majorité des cas<sup>150</sup>. Pour *P. aeruginosa*, des concentrations adéquates de chlore ou de brome doivent être maintenues en continu puisque cette bactérie prolifère facilement suite à un manque de désinfectant<sup>97,122</sup>.

### 1.3.2.4 Relation dose-réponse pour la folliculite à *P. aeruginosa*

Dans l'eau des spas, la concentration de *P. aeruginosa* qui représente un risque pour la santé n'est pas clairement établie. Pour cause, un long délai est généralement présent entre une éclosion et l'investigation environnementale, ce qui limite la portée de l'analyse. Certains auteurs affirment que toute présence de *P. aeruginosa* pourrait comporter un risque pour la santé<sup>37,137</sup>. La HPA<sup>75</sup> avance qu'une concentration supérieure à 50 UFC/100 ml pourrait être suffisante pour infecter les baigneurs et qu'il faut fermer un bassin dans cette situation. Price et Ahearn<sup>122</sup> évoquent quant à eux un risque réel à plus de 100 000 UFC/100 ml. En général, on peut affirmer que les éclosions de folliculites causées par cette bactérie semblent reliées à des concentrations de *P. aeruginosa* supérieures à 10 000 UFC/100 ml<sup>37,123,126</sup>.

### 1.3.2.5 Limites de référence et normes pour *P. aeruginosa* dans les spas

Au Québec, le *Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels* indique une norme maximale inférieure à 1 UFC/100 ml pour *P. aeruginosa*, sans obligation d'échantillonnage périodique<sup>63</sup>. Lorsque cette concentration est dépassée, un deuxième prélèvement doit être effectué en moins de 24 heures et ceci peut conduire à la fermeture du bassin. L'OMS<sup>150</sup> suggère la même concentration comme limite de référence, mais ne recommande une mesure microbiologique supplémentaire que si la concentration de *P. aeruginosa* dépasse 100 UFC/100 ml. Plusieurs pays européens proposent également une norme ou une limite de référence pour la concentration de cette bactérie dans les spas (voir Tableau 2 plus bas)<sup>149</sup>. Les autorités françaises ne fixent pas de seuil pour *P. aeruginosa*, mais proposent des normes pour les bactéries aérobies revivifiables, les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les staphylocoques pathogènes<sup>124</sup>.

Il existe un débat à savoir si *P. aeruginosa* est un bon indicateur de la qualité de l'eau<sup>21,77,123</sup>. Certaines réglementations, celle de l'Alberta au Canada par exemple, imposent l'analyse hebdomadaire de *P. aeruginosa*<sup>65</sup>. Ceci est en accord avec les recommandations de l'OMS<sup>150</sup>. La HPA<sup>75</sup> propose quant à elle une analyse mensuelle. Par contre, la plupart des réglementations n'imposent pas la vérification périodique de *P. aeruginosa* dans les spas<sup>67,124</sup>.

### 1.3.3 Informations sur *Escherichia coli*

La recherche de la bactérie *E. coli* dans les eaux récréatives est un paramètre reconnu pour la surveillance de la contamination fécale. Sa présence suggère un mauvais entretien des bassins et la présence probable d'organismes pathogènes pouvant causer des infections digestives ou oto-rhino-laryngologiques. Au Québec, elle doit être mesurée aux deux semaines pour les spas publics intérieurs et aux quatre semaines lorsqu'ils sont extérieurs<sup>63</sup>. Le risque d'infection par des microorganismes d'origine fécale est beaucoup plus faible pour les spas que pour les piscines puisque l'ingestion d'eau est rare<sup>75</sup>. On ne dispose d'aucune donnée au Québec concernant la prévalence de la contamination fécale des spas même s'il existe une norme pour *E. coli* (< 1 UFC/100 ml) et que le suivi périodique est exigé.

Hoadley<sup>77</sup> a avancé que la mesure de *E. coli* présente peu d'intérêt pour le suivi de la qualité de l'eau des spas. L'OMS et la HPA<sup>75,150</sup> recommandent d'analyser périodiquement ce paramètre microbiologique (limite de référence < 1 UFC/100 ml). Il existe donc des incertitudes quant à la pertinence de la surveillance de cette bactérie. La présence de *E. coli* révèle des problèmes sévères quant à l'entretien de ces bassins puisqu'elle est très sensible à la présence de désinfectant comme le chlore<sup>75</sup>.

## 1.4 ENTRETIEN DE LA QUALITÉ DE L'EAU DES SPAS

Malgré le risque lié aux agents infectieux décrits précédemment, un entretien adéquat des spas est reconnu efficace pour prévenir la majorité des problèmes de santé reliés à ces bassins<sup>150</sup>. Ainsi, les éclosions de légionellose ont fréquemment été reliées à un entretien sous-optimal du spa en cause<sup>13,15,112,136</sup>. Le nettoyage (particulièrement le retrait des biofilms), le renouvellement de l'eau, la filtration, la ventilation (si le spa est intérieur) et la désinfection sont des mesures préventives essentielles dont l'efficacité n'est pas contestée<sup>51,149</sup>. La HPA<sup>75</sup> a publié un document qui décrit bien l'entretien recommandé des spas. Il existe également plusieurs autres guides relatifs à leur entretien<sup>60</sup>.

Les principales recommandations traitant de l'entretien des spas sont présentées au cours de cette section. Il est important de noter qu'il y a peu de données probantes sur les facteurs les plus déterminants qui permettent de limiter la prolifération bactérienne, la plupart étant des opinions d'experts<sup>97,150</sup>.

La section qui suit s'applique aux spas publics. Les spas privés ou résidentiels, habituellement destinés à un usage familial, font l'objet de recommandations généralement moins sévères au regard de leur entretien<sup>21</sup>.

#### 1.4.1 Désinfection de l'eau

La désinfection permet d'inactiver les microorganismes présents dans l'eau malgré les autres mesures d'entretien utilisées. Au Québec, la grande majorité des responsables de spas utilisent du chlore ou du brome, deux halogènes, pour la désinfection<sup>59</sup>.

##### 1.4.1.1 Chlore

Les produits du chlore disponibles au Québec sont de deux ordres : le chlore conventionnel et le chlore stabilisé<sup>59</sup>. Le chlore conventionnel peut être de l'hypochlorite de sodium, de calcium ou de lithium ou être produit à partir de chlorure de sodium (NaCl). Le chlore libre libéré dans l'eau, qui comprend à la fois l'acide hypochloreux (HOCl), une molécule très désinfectante, et l'ion hypochlorite (OCl<sup>-</sup>), une molécule moins active, permet la désinfection du spa.

Le chlore stabilisé l'est par l'acide cyanurique qu'il contient, une molécule qui protège le chlore de sa destruction par les rayons ultraviolets (UV) du soleil (l'acide cyanurique est aussi appelé « stabilisant »)<sup>150</sup>. Par conséquent, ce produit n'est recommandé que pour les bassins extérieurs<sup>21</sup>. Lorsque l'acide cyanurique s'accumule dans l'eau, le chlore stabilisé perd de son efficacité<sup>18,53,77,133,141</sup>. À des concentrations d'acide cyanurique inférieures à environ 100 mg/l, le pouvoir désinfectant de l'eau semble par contre maintenu<sup>95,150</sup>. Le contrôle de la concentration d'acide cyanurique doit se faire par ajout d'eau fraîche dans le bassin puisqu'il s'accumule très rapidement<sup>150</sup>. Le chlore stabilisé est interdit pour la désinfection des spas dans certains États américains et en Australie du Sud<sup>11,170</sup>.

Les recommandations officielles pour la concentration de chlore libre dans les spas varient généralement de 1 à 5 mg/l<sup>21,28,63,75,150</sup>. Au Québec, les bassins chauffés à plus de 35 °C doivent avoir une concentration de chlore libre de 2 à 3 mg/l<sup>63</sup>. En France, une concentration entre 0,4 et 1,4 mg/l (chlore non stabilisé) ou de  $\geq 2$  mg/l (chlore stabilisé) est recommandée<sup>38</sup>.

Le chlore peut facilement se lier à de la matière organique présente dans les spas. Ceci conduit à la formation de différents composés, notamment les chloramines qui sont aussi désignées par le terme « chlore combiné »<sup>149</sup>. Ces composés provoquent des effets irritatifs chez les baigneurs (toux, irritation des yeux, etc.) de même qu'une odeur désagréable. Plusieurs réglementations prescrivent une norme pour la concentration de chloramines dans les bassins artificiels<sup>34,70</sup>. Au Québec, la valeur maximale est de 0,5 mg/l pour les bassins intérieurs et de 1 mg/l pour les bassins extérieurs<sup>63</sup>. Bien qu'indésirables dans les spas, la monochloramine est utilisée avec un certain succès pour le contrôle de la prolifération de *Legionella* spp. dans certains réseaux d'eau<sup>7,51,92</sup>.

L'utilisation de traitements chocs à l'aide du chlore, c'est-à-dire l'augmentation de la concentration de chlore libre au-dessus de 10 mg/l pour quelques heures, est fréquente dans les spas au Québec<sup>59</sup>. Ces traitements permettent entre autres de transformer les chloramines en chlore libre actif, phénomène associé au concept de *break point chlorination*<sup>59</sup>. Ils représentent également un moyen efficace d'éliminer les algues présentes dans les bassins d'eau<sup>21</sup>. Cette pratique ne peut cependant remplacer une désinfection continue adéquate de l'eau du spa<sup>150</sup>.

#### 1.4.1.2 Brome

Le produit le plus souvent utilisé par les responsables de spas qui choisissent la désinfection au brome est le 1-bromo-3-chloro-5,5-diméthylhydantoïne, plus communément appelé BCDMH<sup>59</sup>. Cette molécule libère à la fois du chlore libre et du brome libre, soit du HOCl et de l'acide hypobromeux (HOBr)<sup>150</sup>. Toutefois, la concentration de brome dépasse largement celle du chlore libre<sup>22,23</sup>. Au même titre que le chlore libre, le brome libre peut se lier à de la matière organique et former des bromamines, aussi désignées par le terme « brome combiné ». Les formes libres et combinées de brome sont mesurées puisque les bromamines possèdent une activité désinfectante intéressante<sup>43,85</sup>. Les exigences réglementaires et les limites de référence portent donc sur le brome total. Pour le chlore, la forme libre seulement est mesurée puisque les formes combinées (ou chloramines) offrent un pouvoir désinfectant très faible.

Le brome provoquerait moins de symptômes irritatifs que le chlore, même à des concentrations quatre fois supérieures à ce dernier<sup>23,43</sup>. Les formes combinées de désinfectants, qui sont responsables d'effets irritatifs, sont plus instables dans le cas du brome et ont donc moins tendance à s'accumuler dans les bassins<sup>43</sup>. Par contre, le brome peut occasionner des réactions cutanées allergiques<sup>128</sup>. L'allergie au brome fait donc partie du diagnostic différentiel des problèmes de peau reliés aux spas, qui inclut également la folliculite à *P. aeruginosa*.

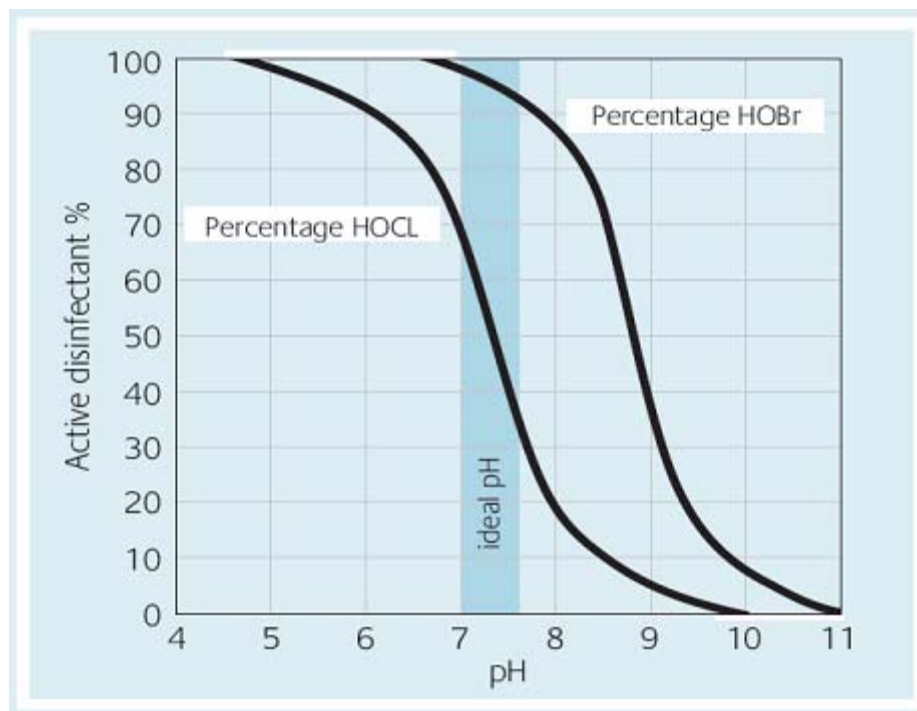
Pour différentes raisons, telles que le poids élevé de l'atome de brome et la mesure du brome total plutôt que du brome libre, une plus grande concentration (en mg/l) de brome que de chlore est nécessaire pour obtenir le même pouvoir désinfectant, soit environ le double<sup>21</sup>. Clark et Smith<sup>33</sup> mentionnent qu'une concentration d'au moins 2,2 mg/l de brome serait requise pour contrôler la prolifération de *P. aeruginosa* dans les spas. Certains auteurs ont remis en question l'efficacité du brome dans les piscines et les spas, plus particulièrement en lien avec *P. aeruginosa*<sup>60,94,122,131</sup>. Goeres *et al.*<sup>60</sup> mentionnent cependant que du travail reste à faire pour comprendre l'efficacité des désinfectants dans les spas. Par ailleurs, le brome actif est très rapidement détruit par l'action des rayons UV du soleil, ce qui limite son utilité pour les spas extérieurs<sup>21</sup>.

La concentration recommandée de brome total est plus variable selon les pays que celle du chlore libre. Au Québec, elle est de 3 à 5 mg/l<sup>63</sup>. Toutefois, une concentration de brome aussi élevée que 10 mg/l est souvent acceptée dans certaines réglementations<sup>34,67</sup>. La concentration minimale de brome tolérée en Australie du Sud est de 8 mg/l, ce qui représente la norme la plus élevée qui a été trouvée dans le cadre de cette recension des écrits<sup>70</sup>.

À l'image de l'acide cyanurique libéré par le chlore stabilisé, le BCDMH libère du diméthylhydantoïne. Sa concentration ne doit pas dépasser 200 mg/l puisque cette molécule peut nuire à la désinfection. Par contre, aucune technique simple et accessible n'existe pour effectuer cette analyse<sup>42,150</sup>.

### 1.4.1.3 pH

Afin que le désinfectant utilisé soit efficace, le pH de l'eau doit être bien contrôlé. Selon le pH, la forme prédominante de chlore peut être le HOCl, une molécule très désinfectante, ou l'OCl<sup>-</sup>, un ion beaucoup moins efficace<sup>21</sup>. Si le pH d'une eau passe de 7 à 8, le pourcentage de chlore efficace (HOCl) passe de 75 à 23 %, une différence importante<sup>21</sup>. La Figure 3 illustre la proportion de désinfectant efficace (*active disinfectant*) en fonction du pH. Comparativement au chlore, les produits du brome conservent leur efficacité à des pH plus élevés, ce qui constitue un avantage<sup>21,85</sup>. La forme active HOBr passe à la forme d'ion hypobromite (OBr<sup>-</sup>) à un pH autour de 9.



**Figure 3** Les proportions de chlore libre et de brome libre efficaces en fonction du pH de l'eau

Source : HPA, 2006<sup>75</sup>.

Un pH entre 7,2 et 7,8 semble représenter un juste équilibre entre l'efficacité désinfectante et le confort du baigneur, tout en évitant la corrosion du spa de même que la formation excessive de chloramines<sup>21,149</sup>. Le Québec et l'OMS proposent d'ailleurs cette fenêtre optimale de pH<sup>63,150</sup>. La France prescrit quant à elle un pH entre 6,9 et 8,2 pour les bassins artificiels<sup>124</sup>.

### 1.4.2 Filtration de l'eau

La filtration, en plus d'offrir aux baigneurs une eau plus claire, améliore l'efficacité des désinfectants utilisés en retirant les particules nuisibles des bassins<sup>75</sup>. La matière organique non filtrée réagit avec les désinfectants présents dans l'eau, ce qui diminue leur capacité à inactiver les microorganismes pathogènes<sup>130,150</sup>. Au Québec, les deux principaux types de filtres utilisés pour les spas sont les filtres à sable et les filtres à cartouches<sup>59</sup>. Leur importance est capitale afin de limiter l'accumulation de matière organique dans les spas, compte tenu du rapport du volume d'eau sur le nombre de baigneurs

qui est le plus souvent très faible<sup>21</sup>. L'efficacité de la filtration peut être améliorée par l'utilisation de coagulants qui rendent certains contaminants moins solubles<sup>150</sup>.

La mesure de la turbidité permet de connaître la quantité de particules en suspension dans l'eau, un reflet de l'efficacité de la filtration<sup>150</sup>. Certains appareils mesurent la turbidité par néphélogéométrie, l'unité de mesure étant l'unité de turbidité néphélogéométrique (UTN). Au Québec, la turbidité des bassins artificiels ne doit pas dépasser 1 UTN<sup>63</sup>.

La circulation de l'eau est un autre élément important. Il est essentiel qu'elle soit efficace afin d'assurer la filtration régulière de l'eau du bassin. De plus, la stagnation de l'eau favorise le développement de biofilms sur les parois et dans la tuyauterie du spa. La HPA<sup>75</sup> recommande que le cycle de l'eau ne dépasse pas six minutes alors que pour d'autres organisations, la limite fixée peut aller jusqu'à une heure<sup>42</sup>.

### 1.4.3 Mesures d'hygiène pour les baigneurs

Au-delà d'un système de traitement efficace, prendre des mesures pour éviter la contamination de l'eau par de la matière organique est considéré comme essentiel. La douche avant la baignade est une action qui permet de maintenir une eau de bonne qualité dans les spas puisque qu'elle libère les usagers de plusieurs contaminants, comme les cosmétiques ou la crème solaire<sup>150</sup>. Des mesures comme les bains de pieds ou pédiluves limitent aussi la contamination de l'eau<sup>36,150</sup>. La limitation du temps de baignade et l'accessibilité des toilettes sont d'autres exemples de mesures permettant d'améliorer la qualité de l'eau d'un spa<sup>75,150</sup>. Enfin, il est important d'interdire l'accès au bassin à des personnes souffrant de maladies pouvant être propagées par l'eau, la gastro-entérite par exemple.

### 1.4.4 Vidange du bassin

Toutes les mesures précédemment mentionnées ne suffisent pas à assurer à long terme une eau dépourvue de microorganismes nuisibles et d'autres contaminants. L'OMS<sup>150</sup> et la HPA<sup>75</sup> recommandent qu'un changement d'eau complet soit effectué hebdomadairement. De plus, la moitié de l'eau devrait être changée quotidiennement<sup>149</sup>. Ces mesures visent surtout à contrôler le risque que représente la prolifération de *Legionella* spp.

D'autres organisations proposent d'estimer le délai correct entre les vidanges à l'aide de formules tenant compte du volume du spa et de son achalandage<sup>60</sup>.

**(Volume du spa [gallons américains]/achalandage quotidien) = période entre les vidanges (jours)**

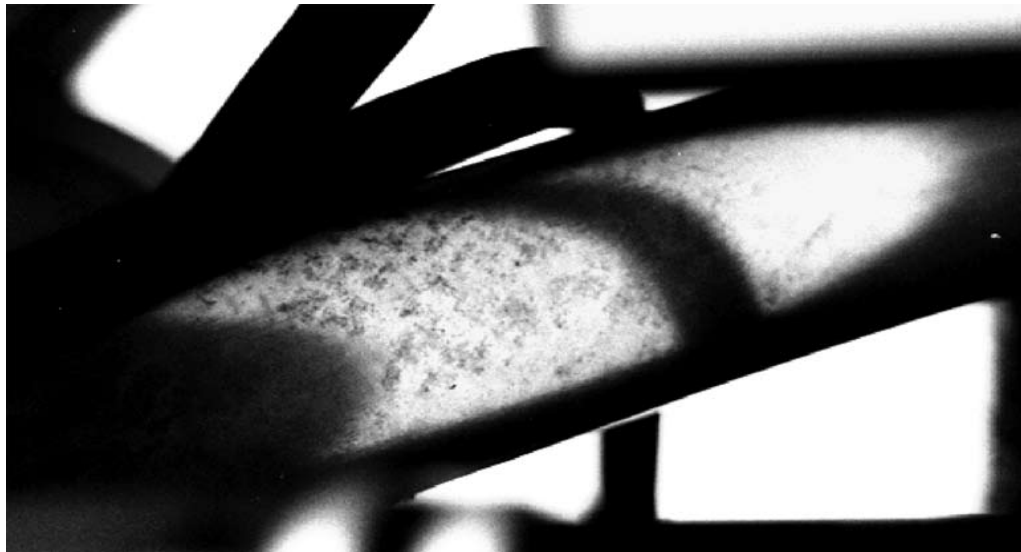
**3**

Pour un spa conventionnel (environ 1 500 litres ou 396 gallons américains), ceci correspond à une vidange du spa après la visite de 132 baigneurs. Si l'achalandage est d'environ 10 baigneurs par jour, l'intervalle entre les vidanges ne devra pas dépasser deux semaines.



#### 1.4.5 Nettoyage des spas

Le nettoyage efficace des spas représente un défi puisqu'un biofilm peut se développer rapidement dans leur tuyauterie. Celle-ci est souvent peu accessible à des fins de nettoyage<sup>75</sup>. La Figure 4 montre un biofilm visible sur la paroi interne d'une conduite d'un spa deux semaines seulement après son installation<sup>149</sup>. L'Organisation mondiale de la Santé<sup>150</sup> recommande de nettoyer le bassin de même que la tuyauterie chaque semaine afin d'éviter le développement de biofilms qui peuvent abriter des bactéries pathogènes. Il est également suggéré de changer la tuyauterie du spa chaque année<sup>149</sup>. Ces recommandations sévères sont habituellement proposées dans des documents qui traitent plus particulièrement du risque lié à la prolifération de *Legionella* spp.



**Figure 4 Biofilm présent sur la paroi interne de la tuyauterie d'un spa**

Source : HPA, 2006<sup>75</sup>.

Par ailleurs, le filtre du spa peut devenir un réservoir pour *Legionella* spp.<sup>21,106,150</sup>. Il est donc suggéré de nettoyer ce filtre chaque jour. Finalement, la HPA<sup>75</sup> recommande un nettoyage quotidien des surfaces du spa qui ne touchent pas à l'eau à l'aide d'une solution de chlore libre de 5 à 10 mg/l.

#### 1.4.6 Qualité de l'air

Une ventilation adéquate est très importante pour les spas intérieurs puisqu'elle limite la quantité d'aérosols inhalés par les usagers, un facteur de risque pour la légionellose<sup>150</sup>. Une bonne ventilation limite aussi les effets irritatifs provoqués par les formes combinées de chlore ou de brome<sup>21</sup>. L'OMS<sup>150</sup> recommande une ventilation minimale de 10 litres d'air frais par mètre carré de surface d'eau et par seconde.

### 1.5 SURVEILLANCE DE LA QUALITÉ DE L'EAU DES SPAS

Il est recommandé de créer un plan global d'entretien et de suivi (*water safety plan*) qui documente toutes les mesures à prendre pour assurer une exploitation sécuritaire de bassins d'eau comme les

spas<sup>149</sup>. Les divers éléments permettant d'effectuer la surveillance de la qualité de l'eau d'un spa sont décrits plus bas.

## **1.5.1 Surveillance des paramètres physiques de l'eau**

### *1.5.1.1 Turbidité et température*

La mesure de la turbidité est un moyen simple de savoir s'il y a eu détérioration de la qualité de l'eau et si la filtration fonctionne adéquatement<sup>150</sup>. Au Québec, elle doit être mesurée bimensuellement (mensuellement pour un spa intérieur) par un laboratoire accrédité<sup>63</sup>. Plus de détails sur la turbidité sont donnés à la section 1.4.2. L'inspection visuelle du bassin permet aussi de noter certains problèmes importants au niveau de la qualité de l'eau du spa<sup>75,149</sup>.

En ce qui concerne la température, il est recommandé qu'elle ne dépasse pas 40 °C. Le dépassement d'une telle valeur peut occasionner des coups de chaleur et des décès secondaires à un évanouissement dans le bassin<sup>150</sup>.

## **1.5.2 Surveillance des paramètres chimiques de l'eau**

### *1.5.2.1 Concentration de désinfectant*

Deux approches sont possibles pour surveiller la concentration de désinfectant : les mesures manuelles et les systèmes automatisés. La désinfection avec des systèmes automatisés est fortement recommandée, surtout dans le cas de spas plus achalandés<sup>149,150</sup>. La concentration de désinfectant est suivie en temps réel et affichée sur un moniteur. Ceci exclut donc les petits appareils flottant à la surface des spas qui libèrent du chlore ou du brome<sup>42</sup>. Par contre, l'emploi d'un système automatisé n'élimine pas la nécessité de faire des mesures manuelles périodiques<sup>63,150</sup>. Certaines législations imposent ces systèmes automatisés<sup>65,70</sup> alors que d'autres demandent une mesure manuelle fréquente de la concentration de désinfectant, par exemple à chaque période de deux heures<sup>34,63,67</sup>. La mesure de la concentration de désinfectant est simple et rapide. La méthode la plus courante est celle qui utilise le N-N diéthyl-p-phénylènediamine (DPD) comme réactif<sup>150</sup>. Malgré la mesure manuelle fréquente de la concentration de désinfectant, une prolifération microbienne peut survenir, sachant que 3 mg/l de chlore peuvent se dissiper en 30 minutes dans certaines circonstances<sup>122</sup>.

Certains équipements couramment appelés « systèmes au sel » produisent du chlore libre par l'électrolyse du NaCl<sup>42</sup>. La concentration de NaCl est constamment indiquée, mais celle de chlore libre ne l'est pas. Il est donc important d'effectuer des mesures manuelles régulières de chlore libre pour ces systèmes.

### *1.5.2.2 pH*

Les systèmes automatisés incluent fréquemment la mesure du pH en continu<sup>59</sup>. Pour des bassins plus petits comme les spas, il peut être acceptable de mesurer manuellement le pH de l'eau afin de s'assurer qu'il favorise une bonne activité désinfectante<sup>150</sup>. La Figure 5 montre un exemple d'un appareillage permettant un suivi en continu de la qualité de l'eau à l'aide de deux sondes, une mesurant le chlore libre et l'autre le pH.



**Figure 5** Sondes utilisées pour le suivi en continu de la qualité de l'eau d'un bassin

Source : HPA, 2006<sup>150</sup>.

### 1.5.2.3 Potentiel d'oxydoréduction

Les halogènes (le brome et le chlore) utilisés pour la désinfection de l'eau agissent entre autres en oxydant les bactéries présentes<sup>42</sup>. Le potentiel d'oxydoréduction ou potentiel redox (POR) mesure l'activité oxydante de l'eau, dont le chlore et le brome sont en grande partie responsables. En plus de la concentration de désinfectant, le pH, la concentration d'acide cyanurique, les contaminants présents et les autres oxydants utilisés influencent la mesure du POR, ce qui en fait un paramètre intégrateur du pouvoir désinfectant de l'eau<sup>138</sup>. La mesure du POR se fait habituellement en continu à l'aide d'un système automatisé. Cette mesure continue ne libère pas le responsable du spa d'effectuer des mesures manuelles de la concentration de désinfectant<sup>63</sup>.

L'Organisation mondiale de la Santé<sup>150</sup> mentionne qu'un POR d'au moins 680 millivolts (mV) (ce seuil peut aller jusqu'à 720 mV selon le type de sonde utilisé) réfère à une eau au pouvoir oxydant adéquat. La province de l'Ontario propose un seuil de 700 mV pour les spas<sup>67</sup>. Au Québec, un POR de plus de 750 mV est recommandé pour ces bassins<sup>63</sup>. Le POR a cependant fait l'objet de beaucoup moins de recherche que d'autres paramètres en ce qui concerne les piscines et les spas<sup>42</sup>.

### 1.5.3 Surveillance des paramètres microbiologiques de l'eau

À la lumière des réglementations et documents consultés, les microorganismes faisant l'objet de normes ou limites de référence et leur seuil maximal toléré sont assez variables selon l'État, la province ou le pays. Au Canada, certaines provinces ne fixent aucune norme microbiologique pour les piscines ou les spas alors que d'autres en incluent plusieurs<sup>63,65-67</sup>. Le Tableau 2 présente les normes et limites associées à divers paramètres microbiologiques pour quelques pays d'Europe et les États-Unis. Celui-ci est inspiré d'un tableau provenant d'un document de l'OMS<sup>149</sup> et des recommandations de la HPA<sup>75</sup>. La France n'est pas incluse dans ce tableau. La réglementation française traitant des bassins artificiels fixe une norme pour les bactéries aérobies revivifiables (< 100/ml), les coliformes totaux (< 10/100 ml), les coliformes fécaux (0/100 ml) et les staphylocoques pathogènes (0/100 ml). Il est également mentionné que tout germe pathogène doit être absent du bassin<sup>124</sup>.

**Tableau 2 Normes et limites de référence microbiologiques pour quelques pays d'Europe et les États-Unis**

Pays	<i>Legionella</i> spp. (UFC)	Décompte des bactéries aérobies (UFC/ml)	Coliformes (UFC/100 ml)	<i>E. coli</i> (UFC/100 ml)	Entérocoques (UFC/100 ml)	<i>P. aeruginosa</i> (UFC/100 ml)	<i>S. aureus</i> (UFC/100 ml)
République tchèque	< 1 000/l	100		0		0	0
Autriche	0/100 ml	100		0		0	
Portugal		< 100		0	0	0	0
Espagne	100-1 000/l	100	50	0	10	0	0
Suisse	0/ml	< 1 000		0		0	
États-Unis	0	< 20 (bassin) < 100 (sortie du filtre)		0		0	
Allemagne	1 000/l			0		0	
Hongrie				1		2	2
Royaume-Uni	< 100/l	<10	< 10	0		10	

Source : OMS, 2007<sup>149</sup>, HPA, 2006<sup>75</sup>.

Plusieurs approches sont utilisées pour diminuer les risques microbiologiques associés aux spas. D'un côté, plusieurs administrations recommandent ou imposent l'emploi d'indicateurs microbiologiques pour surveiller la qualité de l'eau des spas<sup>63,65,75,150</sup>. D'un autre côté, certaines régions axent plutôt la surveillance de la qualité de l'eau sur des mesures dont le résultat est immédiatement disponible, comme la concentration de chlore libre donnée par un système automatisé<sup>70</sup>.

Au Québec, une surveillance microbiologique des bassins par l'analyse de la bactérie *E. coli* doit être effectuée périodiquement<sup>63</sup>. Certaines provinces canadiennes utilisent également des indicateurs microbiologiques pour la surveillance de la qualité de l'eau des spas<sup>65</sup> tandis que pour d'autres, aucune surveillance microbiologique n'est imposée pour les bassins artificiels<sup>67</sup>. Le Tableau 3 résume les normes microbiologiques pour 10 provinces et territoires et précise si une surveillance

microbiologique doit être effectuée ou non<sup>61-69</sup>. En France, un arrêté préfectoral fixe la nature et la fréquence des analyses de surveillance que doivent réaliser les responsables des bassins<sup>124</sup>.

**Tableau 3 Normes microbiologiques selon chaque province canadienne et nécessité d'effectuer une surveillance périodique des paramètres microbiologiques**

Province	Normes microbiologiques dans les piscines et spas	Surveillance microbiologique nécessaire
Terre-Neuve	Non	Non
Québec	<i>E. coli</i> < 1 UFC/100 ml <i>P. aeruginosa</i> < 1 UFC/100 ml Coliformes fécaux < 1 UFC/100 ml <i>Staphylococcus aureus</i> < 30 UFC/100 ml	Un prélèvement aux deux à quatre semaines pour <i>E. coli</i> , selon l'emplacement du bassin (intérieur ou extérieur)
Alberta	Décompte des bactéries hétérotrophes : < 100/ml Absence de <i>P. aeruginosa</i> Absence de <i>E. coli</i> dans 100 ml	Un prélèvement par semaine
Ontario	Non	Non
Saskatchewan	Absence de coliformes totaux dans 100 ml	Non
Manitoba	Coliformes totaux < 1 UFC/100 ml Absence de <i>P. aeruginosa</i> dans 100 ml	Selon l'inspecteur d'hygiène publique
Île-du-Prince-Édouard	Coliformes totaux < 1 UFC/100 ml Absence de <i>P. aeruginosa</i> dans 100 ml	Selon le <i>health officer</i> (inspections)
Yukon	Absence de coliformes totaux Absence de <i>P. aeruginosa</i>	Un prélèvement aux deux semaines
Territoires du Nord-Ouest et Nunavut	Coliformes totaux < 3 UFC/100 ml	Un prélèvement par semaine

#### 1.5.4 Tenue d'un registre

Plusieurs réglementations prescrivent la tenue d'un registre incluant divers paramètres à documenter<sup>34,63</sup>. Celui-ci peut supporter le responsable d'un spa pour le suivi de la qualité de l'eau<sup>149</sup>. Ce registre peut également permettre aux autorités compétentes de prendre connaissance de la qualité de l'eau d'un bassin situé sur leur territoire. Il est souvent recommandé de le conserver pendant deux ans<sup>63,75</sup>.

#### 1.5.5 Autres paramètres d'intérêt

Plusieurs autres paramètres peuvent donner des informations utiles sur la qualité de l'eau. L'alcalinité, la dureté calcique, les solides totaux dissous et la concentration en chlorures de l'eau ne sont que quelques exemples<sup>150</sup>.

#### 1.5.6 Inspections visant à vérifier la qualité de l'eau des spas

Dans certaines régions, des vérifications périodiques sont effectuées auprès des exploitants afin d'assurer que les installations ne présentent pas de risques significatifs pour les usagers<sup>149</sup>. En 2002, les CDC<sup>29</sup> ont décelé plusieurs problèmes dans l'entretien des spas et ont dû fermer temporairement plus de 10 % de ceux-ci. Aucune étude ou suivi n'a été fait sur le sujet au Québec. Une seule recherche a été recensée, mais elle se penchait principalement sur les éléments reliés à la sécurité lors

de l'entretien des piscines et des spas, par exemple la manipulation des produits chlorés<sup>24</sup>. Ni l'état de contamination ni la qualité de l'entretien de ces bassins ne sont connus. Au Québec, le ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs est responsable du *Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels*<sup>63</sup>. En France, les directions départementales des affaires sanitaires et sociales (DDASS) ont un rôle à jouer pour le suivi microbiologique des piscines et des spas<sup>48</sup>.

Le Tableau 4, inspiré principalement des recommandations de la HPA<sup>75</sup>, résume certains aspects importants de l'entretien des spas et de la surveillance de la qualité de leur eau afin de diminuer les risques microbiologiques qui les accompagnent. Il est à noter que l'entretien recommandé varie selon les documents de référence, ce tableau n'est donc montré qu'à titre d'exemple.

**Tableau 4 Sommaire de la HPA pour l'entretien recommandé des spas et la surveillance de la qualité de leur eau**

Intervalle de temps	Élément d'entretien ou de suivi
Au début de la journée	<ul style="list-style-type: none"> <li>Observer la clarté de l'eau</li> <li>Vérifier le fonctionnement des systèmes de désinfection automatisés, si pertinent</li> <li>Vérifier s'il reste des produits chimiques dans les réservoirs, si pertinent</li> <li>Faire une mesure du pH et de la concentration de désinfectant résiduel.</li> </ul>
Au cours de la journée	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vérifier le fonctionnement des systèmes de désinfection automatisés, si pertinent</li> <li>Faire une mesure du pH et de la concentration de désinfectant résiduel à chaque période de deux heures</li> <li>Vérifier la valeur des solides totaux dissous, si utilisé<sup>a</sup>.</li> </ul>
À la fin de la journée	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nettoyer l'ensemble des structures entourant le spa</li> <li>Faire l'entretien du filtre (nettoyage si filtre à cartouches ou lavage à contre-courant<sup>b</sup> si filtre à sable)</li> <li>Inspecter les préfiltres (<i>strainers</i>)</li> <li>Inscrire les données pertinentes sur le registre, par exemple le nombre de baigneurs.</li> </ul>
À chaque vidange du bassin (généralement chaque semaine)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nettoyer l'ensemble du spa, ses jets et sa tubulure accessible</li> <li>Nettoyer les préfiltres (<i>strainers</i>)</li> <li>S'assurer de l'équilibre des paramètres chimiques de l'eau.</li> </ul>
Chaque mois	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prélever de l'eau pour la mesure de <i>E. coli</i> et de <i>P. aeruginosa</i></li> <li>Effectuer certaines mesures de paramètres physiques et chimiques de l'eau (ex. : turbidité ou alcalinité)</li> <li>Nettoyer et calibrer les sondes des appareils de désinfection automatisés, si pertinent.</li> </ul>
Chaque trimestre	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vérifier le bon fonctionnement du filtre utilisé</li> <li>Prélever de l'eau pour la mesure de <i>Legionella</i> spp.</li> </ul>
Chaque année	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vérifier toutes les procédures écrites pour l'entretien du spa et le suivi de la qualité de son eau.</li> </ul>

a La mesure des solides totaux dissous permet de savoir si une vidange du bassin est nécessaire.

b Un lavage à contre-courant consiste à inverser la circulation afin de nettoyer un filtre à sable<sup>21</sup>.

Source : HPA, 2006<sup>75</sup>.

## 1.6 MÉTHODE PCR POUR LA DÉTECTION ET LA QUANTIFICATION DE *LEGIONELLA* SPP.

Certaines organisations recommandent de surveiller la qualité de l'eau des spas par un contrôle microbiologique périodique des trois microorganismes mentionnés plus haut<sup>75,149,150</sup>. Concernant *Legionella* spp., un contrôle périodique pour les réseaux d'eau hospitaliers semble pouvoir être fait avec un certain succès<sup>140</sup>. Cependant, pour cette bactérie, le long délai d'analyse et les faibles taux de récupération de la technique par culture, la méthode de référence actuelle, nuisent à la possibilité de réaliser un suivi dans les spas<sup>144</sup>. Pour certains milieux tels que les systèmes d'alimentation en eau chaude, de plus en plus d'études suggèrent la pertinence de la méthode PCR comme complément ou alternative à la méthode par culture, la PCR étant beaucoup plus rapide<sup>27,87,147,153</sup>.

La méthode PCR détecte plus d'échantillons contaminés par *Legionella* spp. que la méthode par culture<sup>87,147</sup>. Un débat existe à savoir si la culture a une faible sensibilité ou si c'est plutôt la méthode PCR qui détecte des bactéries non viables<sup>74,87,101,132</sup>. Il a cependant été montré que *Legionella* spp., même non cultivable, peut être pathogène pour l'homme<sup>113</sup>. Joly *et al.*<sup>87</sup> ont mis en évidence que la corrélation entre la culture et la PCR pouvait dépendre du type d'eau prélevé. Un lien assez étroit entre les deux méthodes a été démontré pour les réseaux d'eau chaude ( $r^2 = 0,53$ ), mais ce n'était pas le cas pour les eaux de tours aéroréfrigérantes (absence de corrélation).

Plusieurs gènes sont utilisés comme cible pour la détection de *Legionella* spp. par PCR. L'amplification du gène de l'ARN ribosomique 16S est notamment très sensible<sup>78,87</sup>. Le gène *mip*, spécifique à l'espèce *L. pneumophila*, est aussi fréquemment utilisé. Les gènes *dnaJ* et *dotA* sont également utilisés pour la détection de *L. pneumophila*<sup>78,152</sup>. Cependant, certaines éclosions en lien avec les spas impliquaient des espèces autres que *L. pneumophila*, souche responsable de la majorité des cas de maladie des légionnaires<sup>52</sup>. Le gène de l'ARN ribosomique 16S est donc avantageux puisqu'il permet de détecter tous les types de *Legionella* spp.<sup>51</sup>. De plus, les recommandations internationales sont faites en fonction de *Legionella* spp. Puisque l'adéquation de la méthode PCR avec celle par culture semble varier en fonction du type d'eau<sup>87</sup>, il est fort pertinent d'étudier leur corrélation dans les spas, des bassins aux conditions favorables pour la croissance de *Legionella* spp.





## 2 OBJECTIFS GÉNÉRAUX ET SPÉCIFIQUES DE L'ÉTUDE

Les objectifs généraux et spécifiques de cette étude sont :

- Décrire la qualité microbiologique de l'eau des spas publics<sup>b</sup> de trois régions du Québec en caractérisant leur contamination par des organismes pathogènes d'intérêt :
  - Décrire la contamination de ces spas par la bactérie *Legionella* spp.,
  - Décrire la contamination de ces spas par la bactérie *P. aeruginosa*,
  - Décrire la contamination de ces spas par la bactérie *E. coli*;
- Étudier l'adéquation entre les mesures d'entretien effectuées et la contamination microbiologique de l'eau des spas publics de trois régions du Québec :
  - Dresser un portrait de la qualité de l'entretien des spas effectué par leurs responsables,
  - Déterminer les paramètres d'entretien les plus déterminants au regard de la contamination microbiologique de l'eau des spas;
- Comparer une méthode rapide de quantification de *Legionella* spp. par PCR en temps réel dans les spas avec le test de référence actuel (méthode par culture) :
  - Évaluer la pertinence de l'implantation de la méthode par PCR dans la surveillance microbiologique des spas.

Les deux prochaines sections répondent à ces trois objectifs. Chacune de ces sections est présentée sous la forme d'un article scientifique. Le premier article répond aux deux premiers objectifs et le second, au troisième objectif. Ces articles seront prochainement soumis à des revues scientifiques dont les textes sont révisés par des pairs.

---

<sup>b</sup> Le terme « public » réfère à un spa accessible au public ou à un groupe restreint du public. Des exemples sont des spas situés dans les centres sportifs, les hôtels ou les campings. Les spas résidentiels ne sont pas inclus sous ce terme.



### 3 ÉTUDE DE LA CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE DE SPAS PUBLICS AU QUÉBEC : UNE ANALYSE DES FACTEURS INFLUENÇANT LA PRÉSENCE DE *LEGIONELLA* SPP., *P. AERUGINOSA* ET *E. COLI*

#### 3.1 INTRODUCTION

Plusieurs risques microbiologiques existent en relation avec les eaux récréatives<sup>155</sup>. En particulier, les éclosions de légionellose mettant en cause un spa (aussi appelé bain à remous, *whirlpool* ou *hot tub*) ont attiré l'attention des autorités de santé publique au cours des dernières années<sup>135</sup>. Cette maladie, causée par une bactérie du genre *Legionella*, entraîne typiquement une infection pulmonaire appelée maladie des légionnaires. Il existe aussi une forme plus bénigne de légionellose appelée fièvre de Pontiac. Par ailleurs, un autre problème fréquemment associé aux spas est la folliculite à *Pseudomonas aeruginosa*<sup>29</sup>. Elle se manifeste typiquement par des papules ou pustules érythémateuses et prurigineuses sur le tronc, l'abdomen, les aisselles et les fesses<sup>81</sup>.

La maladie des légionnaires entraîne entre 8 000 et 18 000 hospitalisations annuellement aux États-Unis<sup>104</sup>. Son incidence en Europe est passée de 0,4 à 0,8 par 100 000 personnes-années entre 1993 et 2004, ce qui peut refléter l'attention plus grande portée à cette infection<sup>149</sup>. Une crainte importante est liée à la létalité élevée de la maladie des légionnaires, soit environ 12 % pour la population générale et davantage pour les personnes fragiles, notamment la population âgée et les personnes immunodéprimées<sup>14</sup>.

Depuis l'identification de *Legionella* spp. en 1977<sup>56</sup>, plusieurs éclosions de légionellose causées par l'exposition aux aérosols d'un spa ont été rapportées à travers le monde<sup>15,17,39,41,50,52,83,84,106,112,136,137</sup>. À titre d'exemple, une éclosion importante de maladie des légionnaires liée à un spa s'est produite aux Pays-Bas en 1999 : 133 cas ont été confirmés et 21 personnes sont décédées<sup>41</sup>. Aux États-Unis, les CDC<sup>156</sup> ont recensé huit éclosions de légionellose liées aux spas pour les années 2005-2006, pour un total de 124 cas et 3 décès.

Les Centers for Disease Control and Prevention<sup>156</sup> rapportent que *P. aeruginosa* et *Legionella* spp. retrouvées dans les spas étaient responsables de plus de 20 % des éclosions associées aux eaux récréatives pour les années 2005-2006. Pendant cette même période, 35 % (8/23) des éclosions d'origine hydrique causées par *Legionella* spp. étaient reliées à un spa<sup>154,156</sup>. Considérant la popularité croissante de ces bassins, l'incidence de ces infections risque d'augmenter au cours des prochaines années<sup>81</sup>.

De nombreuses incertitudes existent quant à la contamination microbiologique des spas et à la façon de la contrôler adéquatement. Heng *et al.*<sup>76</sup> ont retrouvé *Legionella* spp. dans seulement 2 % (1/48) des spas échantillonnés. Groothuis *et al.*<sup>71</sup> ont quant à eux retrouvé *Legionella pneumophila*, l'espèce la plus souvent mise en cause chez les personnes atteintes de légionellose, dans 22 % (11/51) des spas prélevés. Pour *P. aeruginosa*, 7,7 % (75/978) des échantillons prélevés dans 25 spas publics d'Irlande du Nord étaient positifs<sup>108</sup>. Price et Ahearn<sup>122</sup> ont pour leur part identifié cette bactérie en concentrations importantes dans 86 % (6/7) des spas commerciaux étudiés. Par contre, peu d'informations supplémentaires sont disponibles quant à la contamination microbiologique des spas.

De plus, ces informations sont souvent données sans précision quant à la façon dont ces bassins étaient entretenus<sup>108</sup>. En ce qui concerne leur entretien, la grande variabilité des exigences de désinfection, notamment de la concentration minimale de brome total prescrite selon les endroits (ex : 2 mg/l aux États-Unis<sup>28</sup> et 8 mg/l en Australie du Sud<sup>70</sup>) illustre les incertitudes liées aux moyens nécessaires pour contrôler la contamination microbiologique.

L'Organisation mondiale de la Santé<sup>150</sup> recommande une surveillance assez étroite de *Legionella* spp. (mensuelle), *P. aeruginosa* (hebdomadaire) et *E. coli* (hebdomadaire) dans les spas. La bactérie *E. coli* est un indicateur de salubrité qui renseigne sur la présence de contamination fécale souvent associée à un mauvais entretien du bassin. Pour *Legionella* spp. et *P. aeruginosa*, la surveillance proposée dans les spas est plus exigeante que celle suggérée dans les piscines conventionnelles. Or, peu de législations nationales ou locales prescrivent une surveillance périodique de *Legionella* spp. dans les spas<sup>34,63</sup>. Certaines régions axent plutôt leur réglementation sur une surveillance étroite des paramètres chimiques de l'eau<sup>70</sup>. Considérant ces divergences, il apparaît pertinent de se questionner sur la façon optimale de surveiller la qualité microbiologique de l'eau des spas.

Cette étude vise d'abord à vérifier la prévalence de *Legionella* spp., *P. aeruginosa* et *E. coli* dans des spas publics. Nous voulons également examiner la relation entre la contamination bactérienne de ces spas et la qualité de leur entretien, ceci dans l'optique d'avoir une meilleure compréhension des variables significatives en lien avec la présence des bactéries étudiées.

## 3.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 3.2.1 Collecte des données

Entre mai et septembre 2008, 95 spas publics ont été échantillonnés dans 75 établissements de trois régions de la province de Québec au Canada : la Capitale-Nationale, l'Estrie et Chaudière-Appalaches. Le terme « public » réfère ici à un spa accessible au public ou à un groupe restreint du public. Des exemples sont les spas situés dans les centres sportifs, les hôtels ou les campings. Un inventaire des spas de ces trois régions s'est fait principalement par une recherche sur le site Internet « Bonjour Québec » qui recense la grande majorité des établissements touristiques québécois. Une recherche par mots-clés a été utilisée en entrant divers synonymes du terme « spa ». Les critères d'exclusion correspondaient à tout bassin ne répondant pas à la définition classique d'un spa public : spa résidentiel (privé), bassin non chauffé à plus de 32 °C, spa utilisé à des fins médicales, source d'eau thermale en milieu naturel (*natural spa* ou *hot spring*) ou bassin vidangé après chaque utilisation. Une lettre d'invitation a été acheminée à chacun des établissements et par la suite, un contact téléphonique a été fait pour vérifier leur intérêt à participer à l'étude. Si un établissement possédait plusieurs spas, il était offert d'effectuer des prélèvements dans chacun de ces derniers (maximum de 6 spas). Un questionnaire était rempli pour chaque spa de l'établissement.

Suite à la première visite, si l'on documentait une contamination bactérienne par *Legionella* spp.  $\geq 1\ 000$  UFC/l, par *P. aeruginosa*  $> 100$  UFC/100 ml ou par *E. coli*  $\geq 1$  UFC/100 ml, des recommandations quant à l'entretien adéquat du spa étaient rapidement données par téléphone à l'exploitant. Une deuxième visite avec prélèvements était ensuite effectuée afin de s'assurer que le problème était résolu. En cas de présence de bactéries en concentrations inférieures aux seuils énoncés précédemment, des recommandations précises par téléphone étaient données à l'exploitant afin de régler la situation.

### 3.2.2 Prélèvement des échantillons microbiologiques

Pendant au moins 10 minutes avant le prélèvement, l'eau du spa était maintenue en circulation et il y avait absence de baigneurs. Pour chacun des spas visités, un contenant en polypropylène stérile de 3,8 litres contenant du thiosulfate de sodium a été rempli d'eau, pour une concentration finale de thiosulfate de 100 mg/l. Les échantillons ont été conservés à une température entre 2 et 5 °C dès leur prélèvement et ce jusqu'à leur réception au laboratoire. Les échantillons prélevés ont été envoyés pour analyse au Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ), laboratoire accrédité ISO 17025 : 2005 par le Conseil canadien des normes pour plusieurs méthodes microbiologiques. L'analyse des échantillons a été faite à l'intérieur d'un délai de 24 heures suivant le prélèvement.

### 3.2.3 Dénombrement de *Legionella* spp. par culture

La quantification de *Legionella* spp. par culture a été réalisée selon la méthode standardisée AFNOR NF T90-431<sup>5,6</sup>. Pour chaque échantillon, 500 à 1 000 ml ont été filtrés sur des membranes en polycarbonate 0,45 µm (Sartorius Mechatronics Canada Inc., Mississauga, Canada). Les membranes filtrantes ont ensuite été placées dans 5 ml d'eau stérile et le tout a été traité aux ultrasons à 47 kHz pendant 1 minute (Branson Sonic, Danbury, États-Unis). Une partie du concentrat obtenu a été traitée thermiquement (55 °C ; 30 min) et une autre partie a été traitée par solution acide (pH = 2; 5 min) afin de réduire la flore interférente. Pour chaque échantillon, 5 géloses de milieu sélectif GVPC (Oxoid Company, Nepean, Canada) ont étéensemencées en surface avec respectivement 100 à 200 µl d'échantillon avant filtration, de concentrat, de concentrat dilué au 1/10, de concentrat traité thermiquement, et enfin de concentrat traité par solution acide. Les géloses ont été incubées à 36 ± 2 °C pendant 10-12 jours et les colonies ont été dénombrées après 5-6 et 10-12 jours d'incubation. Les colonies caractéristiques ont été repiquées sur gélose BCYE sans cystéine, gélose nutritive et gélose BCYE (Oxoid Company, Nepean, Canada), puis incubées pendant 2-4 jours à 36 ± 2 °C. Les colonies qui se sont développées sur la gélose BCYE, mais pas sur les géloses nutritives et BCYE sans cystéine étaient considérées comme *Legionella* spp.

### 3.2.4 Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*

La méthode utilisée (MA.700 – PSE 1.0<sup>31</sup>) correspondait à la méthode 9213E du livre de référence *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*<sup>2</sup>. Un volume de 100 ml d'échantillon (et un de 10 ml pour certains échantillons) a été filtré à travers une membrane filtrante stérile en cellulose de porosité 0,45 µm (Millipore Corporation, États-Unis). La membrane a ensuite été placée sur la gélose m-PA-C BBL<sup>TM</sup> (Becton Dickinson and Company, Sparks, États-Unis), puis le tout a été incubé pendant 72 heures à 41,5 °C. Par la suite, 10 % des colonies typiques et atypiques de *Pseudomonas aeruginosa* étaient vérifiées par un test cytochrome-oxydase et par une galerie d'identification biochimique Microscan « gram negative » (Dade Behring Inc., West Sacramento, États-Unis). Les valeurs de concentrations en *P. aeruginosa* utilisées dans cette étude sont celles obtenues après l'étape d'identification biochimique des colonies.

### 3.2.5 Dénombrement d'*Escherichia coli*

La méthode employée (MA.700 – Ec-mTEC 1.0<sup>32</sup>) correspondait à la méthode standard US EPA 1603<sup>146</sup>. Un volume de 100 ml d'échantillon a été filtré à travers une membrane filtrante stérile en cellulose de porosité 0,45 µm (Millipore Corporation, États-Unis). La membrane a ensuite été placée

sur la gélose mTEC Difco™ (Becton Dickinson et Co., Sparks, États-Unis). Le tout a été incubé pendant 2 heures à 35 °C puis pendant 22 heures à 44,5 °C.

### 3.2.6 Mesures physicochimiques réalisées sur le site de prélèvement

Plusieurs paramètres physicochimiques de l'eau des spas ont été mesurés sur site par deux personnes préalablement formées : la température, le pH, le potentiel d'oxydoréduction (POR), l'alcalinité, la turbidité et les concentrations de chlore total, de chlore libre, de brome total et d'acide cyanurique. La concentration de chlore combiné (chloramines) a été estimée en soustrayant la concentration de chlore libre de celle du chlore total.

Le pH a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre Accumet AP61 équipé d'une électrode AP50 (Fisher Scientific, Pittsburgh, États-Unis). Le POR a été mesuré à l'aide d'une électrode argent/chlorure d'argent HI1297 (Hanna Instruments, Laval, Canada). La turbidité a été vérifiée à l'aide d'un turbidimètre 2100P (Hach, Loveland, États-Unis). Les concentrations en chlore total, en chlore libre et en brome total ont été déterminées à l'aide d'un colorimètre Pocket Colorimeter II (Hach, Loveland, États-Unis). La concentration en acide cyanurique a été quantifiée, chez les utilisateurs de chlore stabilisé, au moyen de la trousse commerciale EC-5 (LaMotte Company, Cherstertown, États-Unis) destinée aux propriétaires de spas. L'alcalinité totale a également été déterminée directement sur site. En présence de thiosulfate de sodium 0,1 M et d'indicateur mixte (vert bromocrésol et méthyl rouge), un volume de 50 ml d'eau de spa a été titré jusqu'à un pH de 4,5 par une solution d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02 N. Dans le cas des eaux avec un pH supérieur à 8,3, l'alcalinité partielle a été déterminée par titrage au H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02 N en présence de phénolphtaléine. Pour des raisons techniques, le POR n'a pas pu être mesuré pour 3 % (3/95) des spas et la concentration d'acide cyanurique n'a pas pu être mesurée pour 51 % (18/95) des bassins désinfectés avec du chlore stabilisé.

### 3.2.7 Mesure des chlorures en laboratoire

La concentration en chlorures a été effectuée en laboratoire selon une méthode colorimétrique automatisée (Méthode 4500-Cl E du *Standard Methods*<sup>2</sup>) grâce à un analyseur à flot segmenté (Astoria-Pacific Inc., Clackamas, État-Unis). Pour ce faire, un échantillon d'eau sur le site a été prélevé suite à l'échantillonnage microbiologique. Le seuil de détection de cette méthode était de 2 mg/l. Étant donné une interférence avec les bromures présents dans l'eau chez les utilisateurs de brome, la mesure des chlorures n'a été retenue que chez les utilisateurs de chlore. Finalement, la mesure n'a pas été considérée pour les spas désinfectés par un système utilisant du chlorure de sodium en raison d'un biais induit par ce produit entraînant des concentrations en chlorures d'emblée élevées.

### 3.2.8 Données sur l'entretien des spas

Un questionnaire sur l'entretien des spas (Annexe 1) a été élaboré à partir des recommandations de la HPA<sup>75</sup>, d'un document de l'OMS<sup>150</sup> et du *Règlement québécois sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels*<sup>63</sup>. Ce questionnaire a préalablement été testé chez deux propriétaires de spas. Les questions ont été posées sur place au participant par un des deux chercheurs formés à cet effet. Les mesures microbiologiques et physicochimiques ont été effectuées simultanément par un chercheur également formé pour faire ce travail.

Le questionnaire comportait 85 éléments couvrant les thèmes suivants : le type d'établissement, la clientèle du spa, les caractéristiques physiques du bassin, la provenance de l'eau d'alimentation, l'achalandage, la prise de douche avant la baignade, la formation du personnel, la tenue d'un registre, la désinfection et le pH de l'eau, la filtration de l'eau, la fréquence de vidange du spa et son nettoyage, les paramètres physicochimiques et microbiologiques mesurés et les problèmes de santé rapportés. De plus, certaines caractéristiques du spa et de son environnement ont été notées par les chercheurs, par exemple la présence de douches près du bassin. Finalement, les produits utilisés par les responsables ont été notés à partir des informations inscrites sur les contenants.

### 3.2.9 Plan d'analyse

Des statistiques descriptives de la contamination par les trois microorganismes pathogènes, des paramètres physicochimiques et des variables d'entretien ont été effectuées. Pour les données microbiologiques, deux variables ont été créées, soit la détection de l'une ou l'autre des bactéries recherchées et la détection de bactéries en concentrations préoccupantes (*Legionella* spp.  $\geq 500$  UFC/l ou *P. aeruginosa*  $\geq 51$  UFC/100 ml ou *E. coli*  $\geq 1$  UFC/100 ml). La nature préoccupante des concentrations retrouvées a été déterminée suite à une revue de littérature<sup>35,60,75,122</sup>. Les variables d'entretien (type d'établissement, vidange, nettoyage du bassin, entretien du filtre, douche avant la baignade, etc.) et les paramètres physicochimiques ont été dichotomisés en fonction de leur distribution de fréquence. Les limites choisies pour dichotomiser les paramètres physicochimiques correspondaient généralement assez étroitement aux limites de référence et aux normes reconnues<sup>21,63,150</sup>. Les différents paramètres physicochimiques ont été catégorisés comme suit : POR ( $\leq 650$  mV,  $> 650$  mV), turbidité ( $\leq 1$  unité de turbidité néphélométrique ou UTN,  $> 1$  UTN), température ( $< 35$  °C,  $\geq 35$  °C), acide cyanurique ( $< 100$  mg/l,  $\geq 100$  mg/l), chlore libre ( $< 2$  mg/l,  $\geq 2$  mg/l), chlore combiné ( $\leq 1$  mg/l,  $> 1$  mg/l), pH ( $< 7,2$ ,  $\geq 7,2$ ), alcalinité (60-150 mg/l,  $< 60$  ou  $> 150$  mg/l) et chlorures ( $< 200$  mg/l,  $\geq 200$  mg/l). Pour la concentration de brome total, les recommandations diffèrent selon les organisations<sup>42,63</sup>. Des catégories ont donc été faites en fonction de limites de concentration à 3 et à 5 mg/l. Des comparaisons de proportions à l'aide du test du chi-carré ont été effectuées pour vérifier l'association entre le type de désinfectant utilisé et les paramètres chimiques ayant un lien avec la désinfection.

Les variables d'entretien et les paramètres physicochimiques ont été mis en relation avec quatre variables microbiologiques : détection de *Legionella* spp., détection de *P. aeruginosa*, détection d'une des trois bactéries étudiées et détection de bactéries en concentrations préoccupantes. Des comparaisons de proportions ont été effectuées à l'aide du test du chi-carré. Le test exact de Fisher était utilisé si les conditions d'utilisation du test du chi-carré n'étaient pas remplies. Le rapport de prévalence (RP) a été la mesure d'association utilisée et il a été obtenu à l'aide de modèles de régression log binomial. Les variables ayant une valeur  $p \leq 0,10$  d'après l'analyse univariée et les variables qui ont une influence reconnue sur la contamination microbiologique des spas ont été incluses dans les modèles multivariés. Les variables fortement corrélées n'ont pas été incluses dans les mêmes modèles afin d'éviter des problèmes de multicollinéarité. Les modèles retenus incluaient les variables associées à la contamination microbiologique. Le seuil  $\alpha$  a été fixé à 5 % et les tests étaient bilatéraux. Le logiciel SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, États-Unis) a été utilisé pour l'ensemble des analyses.

### 3.3 RÉSULTATS

#### 3.3.1 Taux de participation et caractéristiques des spas échantillonnés

Sur 174 établissements identifiés, 2 ont été exclus (les spas étaient vidés quotidiennement). Sur les 172 restants, 44 (26 %) ont refusé notre invitation. De plus, il a été impossible de rejoindre le responsable de l'entretien ou de prendre rendez-vous avec lui pour 53 établissements (31 %). Avec 75 acceptations, le taux de participation était de 44 %. Dans certains de ces 75 établissements, plus d'un spa a été échantillonné. Le Tableau 5 décrit le nombre d'établissements et de spas visités.

Sur 95 spas échantillonnés, 29 spas se situaient dans des hôtels ou motels, 16 dans des chalets pour location ou des établissements similaires, 10 dans des campings, 32 dans des gîtes ou auberges et 8 dans des centres de santé et de relaxation. Les établissements comprenaient entre 1 et 35 spas. La majorité (87 %) n'en possédait qu'un seul. Une proportion de 79 % des spas se situaient à l'extérieur et 88 % contenaient moins de 5 000 litres d'eau. La majorité était des bassins carrés non conçus pour recevoir un achalandage important de baigneurs. L'achalandage quotidien variait de moins de 1 baigneur à 85 baigneurs, avec une médiane de 8 baigneurs.

**Tableau 5** Nombre d'établissements et de spas visités

Nombre de spas échantillonnés par établissement	Nombre d'établissements visités	Nombre de spas échantillonnés
1	66	66
2	5	10
3	1	3
4	1	4
6	2	12
Total	75	95

#### 3.3.2 Contamination microbiologique des spas

*Legionella* spp. a été détectée dans 22 % (21/95) des spas, *P. aeruginosa* dans 41 % (39/95) et *E. coli* dans seulement 2 % (2/95) (Tableau 6). En considérant la présence de l'une ou l'autre des bactéries recherchées, nous en avons détectées dans 51 % (48/95) des bassins, peu importe la concentration (Tableau 7). Des concentrations préoccupantes de bactéries (*Legionella* spp.  $\geq$  500 UFC/l ou *P. aeruginosa*  $>$  50 UFC/100 ml ou *E. coli*  $\geq$  1 UFC/100 ml) ont été retrouvées dans 25 % (24/95) des spas.



**Tableau 6** Prévalence de *Legionella* spp., *P. aeruginosa* et *E. coli* dans les spas étudiés

Bactérie	Nombre de spas (%)
<b><i>Legionella</i> spp. (UFC/l)</b>	
Non détectée	70 (74)
Détectée, < 500 <sup>a</sup>	14 (15)
500-999	2 (2)
≥ 1000 <sup>b</sup>	5 (5)
Inconnu <sup>c</sup>	4 (4)
Total	95 (100)
<b><i>E. coli</i> (UFC/100 ml)</b>	
< 1	93 (98)
≥ 1 <sup>d</sup>	2 (2)
Total	95 (100)
<b><i>P. aeruginosa</i> (UFC/100 ml)</b>	
< 1 <sup>e</sup>	55 (58)
1-10	12 (13)
11-50	8 (8)
51-100	4 (4)
>100	15 (16)
Inconnu <sup>f</sup>	1 (1)
Total	95 (100)

a Pour 12 de ces 14 résultats positifs, la concentration de *Legionella* spp. était inférieure à la limite de quantification (250 ou 500 UFC/l selon les échantillons). Les deux autres résultats positifs contenaient 350 et 450 UFC/l.

b La concentration de *Legionella* spp. variait entre 1 300 et 350 000 UFC/l.

c Une flore interférente empêchait la quantification de *Legionella* spp.

d Les deux résultats positifs contenaient 1 et 15 UFC/100 ml.

e Pour une de ces analyses, le résultat était négatif, mais le seuil de détection était de 10 UFC/100 ml en raison de la présence d'une flore interférente.

f Une flore interférente empêchait la quantification de *P. aeruginosa*.

**Tableau 7** Prévalence de la présence de l'une ou l'autre des bactéries en relation avec l'importance de la contamination

Concentrations de bactéries présentes dans les spas	Nombre de spas (%) n = 95
Détection de bactéries (toutes concentrations) : Détection de <i>Legionella</i> spp. ou <i>P. aeruginosa</i> ≥ 1 UFC/100 ml ou <i>E. coli</i> ≥ 1 UFC/100 ml	48 (51)
Détection de bactéries en concentrations préoccupantes : <i>Legionella</i> spp. ≥ 500 UFC/l ou <i>P. aeruginosa</i> ≥ 51 UFC/100 ml ou <i>E. coli</i> ≥ 1 UFC/100 ml	24 (25)

### 3.3.3 Description des paramètres physicochimiques de l'eau des spas

Le Tableau 8 présente la distribution des principaux paramètres chimiques reliés à la désinfection de l'eau des spas. Ces résultats sont subdivisés selon l'utilisation de chlore non stabilisé, de chlore stabilisé ou de brome. Au total, 34 spas (36 %) étaient désinfectés avec du brome et 61 (64 %) avec du chlore. Parmi ces 61 spas, 35 (57 %) étaient désinfectés avec du chlore stabilisé, lequel contient de l'acide cyanurique.

Une proportion de 57 % (52/92) des spas avaient un POR supérieur à 650 mV, 21 % (13/61) avaient une concentration de chlore libre de 2 à 5 mg/l, 36 % (22/61) avaient une concentration de chlore combiné (chloramines) inférieure ou égale à 1 mg/l, 21 % (7/34) avaient une concentration de brome total de 3 à 5 mg/l et 39 % (37/95) avaient un pH de 7,2 à 7,8. Parmi ces différents paramètres chimiques, seule la valeur du pH était significativement associée au type de produit désinfectant utilisé. En fait, le pH était plus élevé pour les spas désinfectés avec du chlore non stabilisé que pour les spas désinfectés avec du brome ( $p = 0,003$ ) ou du chlore stabilisé ( $p = 0,002$ ).

**Tableau 8 Valeurs des paramètres chimiques reliés à la désinfection selon le produit désinfectant utilisé**

Paramètre chimique	Nombre de spas (%)				
	Chlore non stabilisé <sup>a</sup> n = 25	Chlore stabilisé <sup>b</sup> n = 35	Tous les spas désinfectés au chlore n = 61 <sup>c</sup>	Brome <sup>d</sup> n = 34	Tous les spas n = 95
<b>POR (mV) n = 92<sup>e</sup></b>					
≤ 650	8 (35)	14 (40)	23 (39)	17 (52)	40 (43)
651-750	7 (30)	13 (37)	20 (34)	9 (27)	29 (32)
> 750	8 (35)	8 (23)	16 (27)	7 (21)	23 (25)
<b>Chlore libre (mg/l)</b>					
< 2	11 (44)	14 (40)	26 (43)	na <sup>f</sup>	na
2-5	4 (16)	9 (26)	13 (21)	na	na
> 5	10 (40)	12 (34)	22 (36)	na	na
<b>Chlore combiné (mg/l)<sup>g</sup></b>					
≤ 1	7 (28)	14 (40)	22 (36)	na	na
> 1	18 (72)	21 (60)	39 (64)	na	na
<b>Brome total (mg/l)</b>					
< 3	na	na	na	15 (44)	na
3-5	na	na	na	7 (21)	na
> 5	na	na	na	12 (35)	na
<b>pH</b>					
< 7,2	4 (16)	15 (43)	19 (31)	15 (44)	34 (36)
7,2 à 7,8	7 (28)	15 (43)	23 (38)	14 (41)	37 (39)
> 7,8	14 (56)	5 (14)	19 (31)	5 (15)	24 (25)

a Les produits utilisés étaient l'hypochlorite de sodium, l'hypochlorite de calcium, l'hypochlorite de lithium et le chlorure de sodium.

b Les produits utilisés étaient l'acide trichloroisocyanurique et l'acide dichloroisocyanurique.

c Pour un des spas, il a été impossible de savoir quelle sorte de chlore était utilisée. C'est pourquoi la somme des colonnes « Chlore non stabilisé » et « Chlore stabilisé » (n = 60) est inférieure à celle de la colonne « Tous les spas désinfectés au chlore » (n = 61).

d Les produits utilisés étaient le 1-bromo-3-chloro-5,5-diméthylhydantoïne et le bromure de sodium.

e Pour 3 spas, le POR n'a pas été mesuré pour des raisons techniques.

f na = non applicable.

g La concentration de chlore combiné a été estimée en soustrayant la concentration de chlore libre de celle du chlore total.

Le Tableau 9 présente l'étendue, la moyenne, la médiane et l'écart type des principaux paramètres physicochimiques analysés. Pour les paramètres physicochimiques où des valeurs extrêmes influençaient à la hausse leur valeur moyenne (chlore libre, chlore combiné, brome total, turbidité et chlorures), la médiane pourrait représenter une meilleure mesure de tendance centrale. Les étendues des valeurs des différents paramètres étaient très larges. Les concentrations de chlore libre, de chlore combiné (chloramines) et de brome total variaient respectivement de 0,1 à 33 mg/l, de 0 à 39,5 mg/l et de 0,3 à 35 mg/l. Des valeurs de pH aussi basses que 2,4 ont été observées et la valeur maximale de turbidité était de 8,28 UTN. Néanmoins, la turbidité de 67 % (64/95) des spas était égale ou inférieure à 1,00 UTN. La valeur maximale pour la concentration de chlorures était de 3 210 mg/l et une proportion de 45 % (25/55) des spas avait une concentration de chlorures inférieure à 200 mg/l.

**Tableau 9** Étendue, moyenne, médiane et écart-type des principaux paramètres physicochimiques analysés

Paramètre chimique	Étendue	Moyenne	Médiane	Écart-type
POR (mV) n = 92 <sup>a</sup>	199-1060	637	671	195
Chlore libre (mg/l) n = 61 <sup>b</sup>	0,1-33,0	6,8	3,5	8,3
Chlore combiné (mg/l) n = 61 <sup>b,c</sup>	0,0-39,5	3,5	1,9	6,0
Brome total (mg/l) n = 34 <sup>d</sup>	0,3-35,0	6,9	3,4	8,1
pH n = 95	2,4-9,0	6,9	7,4	1,6
Turbidité (UTN) n = 95	0,07-8,28	1,02	0,57	1,24
Chlorures (mg/l) <sup>e</sup> n = 55	14-3210	430	237	605

a Pour 3 spas, le POR n'a pas été mesuré pour des raisons techniques.

b Ce paramètre n'a pas été considéré pour les 34 spas désinfectés au brome.

c La concentration de chlore combiné a été estimée en soustrayant la concentration de chlore libre de celle du chlore total.

d Ce paramètre n'a pas été considéré pour les 61 spas désinfectés au chlore.

e Ce paramètre n'a pas été considéré pour les 34 spas désinfectés au brome et les 6 spas ayant un système de désinfection utilisant du chlorure de sodium.

La température de l'eau allait de 30 à 39 °C au moment du prélèvement. Au total, 4 spas étaient sous la barre des 32 °C, mais selon les informations recueillies auprès des exploitants des établissements, ces spas étaient habituellement chauffés à des températures plus élevées. Une proportion de 55 % (52/95) des spas avait une alcalinité entre 60 et 150 mg/l. Dans 9 des 17 spas désinfectés avec du chlore stabilisé et où l'acide cyanurique a été mesuré, la concentration retrouvée était égale ou supérieure à 100 mg/l.

Par ailleurs, le POR était corrélé avec la concentration du chlore libre ( $r^2 = 0,49$  :  $p < 0,001$ ) et inversement corrélé avec le pH ( $r^2 = 0,58$  :  $p < 0,001$ ). Ces deux variables ont donc un impact important sur la valeur du POR.

### 3.3.4 Questionnaire sur l'entretien des spas

Seulement 4 % (4/95) des spas étaient munis d'un système automatisé de désinfection et de contrôle du pH. Des bactéries ont été détectées dans un seul de ces spas. En plus de l'utilisation de chlore ou de brome, 2 % (2/95) des spas étaient aussi munis d'un système avec de l'ozone. Au total, 25 bassins étaient équipés d'un filtre à sable et 68 d'un filtre à cartouches conventionnel. Certains avaient les deux types de filtre. Pour 28 % (25/89) des spas, les gestionnaires ont indiqué que la majorité des clients prenait une douche avant la baignade. Une proportion de 44 % (41/93) des spas était vidangée au moins mensuellement et pour 15 % (14/93) d'entre eux, de l'eau chaude pouvait être utilisée pour leur remplissage. Une proportion de 14 % (13/95) des spas faisait l'objet d'une surveillance microbiologique régulière (*E. coli*). Seulement 31 % (29/95) des spas étaient entretenus par des responsables ayant déjà pris connaissance du *Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres*

*bassins artificiels*. Pour 36 % (34/95) des spas, les responsables ont déclaré que des problèmes de santé chez les clients leur ont été rapportés (principalement des problèmes de peau, des irritations oculaires et des problèmes digestifs). Un registre des mesures effectuées était tenu pour 26 % des spas (25/95). Finalement, les responsables de seulement 4 spas ont dit avoir reçu une formation sur l'entretien adéquat de ces bassins.

### 3.3.5 Association entre certaines variables d'entretien et la contamination microbiologique des spas

Le Tableau 10 présente les variables d'intérêt au regard de la relation entre l'entretien et la désinfection des spas et leur contamination microbiologique. Sauf pour la détection de *Legionella* spp., nous notons que globalement une vidange du bassin au moins mensuelle montrait une tendance à une plus faible contamination microbiologique. La relation était plus évidente sur le plan statistique pour une fréquence au moins mensuelle du nettoyage des parois du spa (ce nettoyage impliquait généralement une vidange complète du bassin, sauf pour les 10 spas de plus de 5 000 litres).

Des concentrations de chlore libre d'au moins 2 mg/l ou de brome total d'au moins 3 mg/l étaient significativement associées à une plus faible contamination microbiologique, et ceci pour tous les indicateurs microbiologiques. Cette relation semblait généralement plus importante lorsque la concentration pour le brome total était de 5 mg/l et plus. Pour la détection de toute bactérie et pour la détection de *P. aeruginosa*, l'utilisation de chlore plutôt que de brome était statistiquement associée à une contamination microbiologique moindre. À cet effet, des bactéries ont été détectées dans 43 % des spas désinfectés avec du chlore et dans 67 % des spas désinfectés avec du brome (RP = 0,65;  $p = 0,03$ ). Un POR supérieur à 650 mV semblait être un facteur protecteur significatif quant à la contamination microbiologique, et ceci peu importe les indicateurs microbiologiques utilisés.

Un pH inférieur à 7,2 était statistiquement associé à une réduction de la contamination microbiologique pour la détection de toute bactérie et la détection de *P. aeruginosa*. Une relation particulière a été observée chez les utilisateurs de brome en lien avec le pH (données non présentées). Chez ces derniers, 36 % (5/14) des spas contenaient des bactéries (peu importe la concentration) lorsque le pH était inférieur à 7,2 et 89 % (17/19) lorsque le pH était d'au moins 7,2 ( $p = 0,002$ ; test exact de Fisher). Nous n'avons toutefois pas observé la même relation pour la détection de bactéries en concentrations préoccupantes.

Toujours chez les utilisateurs de brome seulement, des bactéries ont été détectées dans les 7 spas ayant une concentration de brome total entre 3 et 5 mg/l (*P. aeruginosa* à 6 reprises et *Legionella* spp. à 2 reprises), mais dans 6 des 7 cas, elles étaient à des concentrations inférieures aux seuils fixés comme préoccupants (*Legionella* spp.  $\geq 500$  UFC/l ou *P. aeruginosa*  $\geq 51$  UFC/100 ml ou *E. coli*  $\geq 1$  UFC/100 ml).

En ce qui concerne les autres variables d'intérêt, une faible turbidité de l'eau ( $\leq 1$  UTN) montrait une tendance à une moindre contamination par des bactéries jugées en concentrations préoccupantes et la prise d'une douche avant la baignade était associée significativement à une diminution de la contamination par *Legionella* spp. Finalement, une concentration de chlorures inférieure à 200 mg/l était statistiquement associée, chez les utilisateurs de chlore, à moins de contamination par *P. aeruginosa* et par des bactéries en concentrations préoccupantes.

**Tableau 10 Variables d'intérêt au regard de la relation entre l'entretien des spas et leur contamination microbiologique (associations non ajustées)**

Variable	<i>P. aeruginosa</i> ≥ 1 UFC/100 ml 39/94 spas		<i>Legionella</i> détectée 21/91spas		Détection de toute bactérie <sup>a</sup> 48/95 spas		Bactéries en concentrations préoccupantes <sup>b</sup> 24/95 spas	
	RP <sup>c</sup>	Valeur p	RP	Valeur p	RP	Valeur p	RP	Valeur p
<b>Variabiles reliées à la vidange du bassin</b>								
Vidange du bassin au moins une fois par mois	0,66	0,11	0,75	0,47	0,77	0,21	0,45	0,046
Nettoyage des parois du spa au moins une fois par mois	0,53	0,03	0,68	0,39	0,66	0,08	0,19	0,004
<b>Variabiles reliées à la désinfection</b>								
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 3 mg/l <sup>d</sup>	0,45	0,001	0,46	0,04	0,54	0,002	0,13	< 0,001
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 5 mg/l <sup>d,e</sup>	0,29	< 0,001	0,39	0,02	0,38	< 0,001	0,15	< 0,001
POR > 650 mV	0,26	< 0,001	0,45	0,04	0,43	< 0,001	0,12	< 0,001
pH < 7,2	0,47	0,01	0,52	0,14	0,61	0,03	0,59	0,19
Désinfection avec un produit du chlore	0,61	0,04	0,84	0,66	0,65	0,03	0,79	0,52
<b>Autres variables</b>								
La majorité des clients prenant une douche avant la baignade	0,89	0,66	0,30	0,05	0,83	0,42	0,53	0,17
Turbidité ≤ 1 UTN	0,68	0,12	1,42	0,43	0,73	0,12	0,55	0,09
Chlorures < 200 mg/l <sup>f</sup>	0,43	0,04	0,63	0,39	0,63	0,14	0,23	0,02

a *Legionella* détectée ou *P. aeruginosa* ≥ 1 UFC/100 ml ou *E. coli* ≥ 1 UFC/100 ml.

b *Legionella spp.* ≥ 500 UFC/l ou *P. aeruginosa* ≥ 51 UFC/100 ml ou *E. coli* ≥ 1 UFC/100 ml.

c RP = rapport de prévalence.

d La valeur de chlore libre ou de brome total était choisie selon le désinfectant utilisé.

e Une autre catégorisation a été faite en considérant une concentration de brome total de 5 mg/l comme limite minimale de référence.

f Ce paramètre n'a pas été considéré pour les 34 spas désinfectés au brome et les 6 spas ayant un système de désinfection utilisant du chlorure de sodium.

Les variables suivantes n'étaient pas statistiquement associées ( $p > 0,10$ ) à un ou l'autre des paramètres microbiologiques utilisés et n'ont donc pas été incluses dans les modèles multivariés : le type d'établissement, la déclaration de problèmes de santé chez les utilisateurs du spa, le type d'alimentation en eau, le remplissage du spa avec de l'eau chaude, l'achalandage, l'entretien du filtre, la dimension du bassin, la période écoulée depuis la sortie du dernier baigneur, la température de l'eau ( $< 35\text{ °C}$  vs.  $\geq 35\text{ °C}$ ) et son alcalinité (60-150 mg/l vs  $< 60$  ou  $> 150$  mg/l), l'utilisation de chlore stabilisé, la présence d'acide cyanurique en concentration importante ( $\geq 100$  mg/l) et l'utilisation de traitements chocs (élévation périodique de la concentration de chlore libre à au moins 10 mg/l).

Les Tableaux 11 à 13 décrivent les RP ajustés des variables d'entretien statistiquement associées à la contamination des spas. En raison d'un problème de multicollinéarité, le POR et les concentrations de désinfectant ont été analysés dans des modèles distincts. Toujours en raison de multicollinéarité, le pH a été exclu des modèles incluant le POR. Pour chaque variable de contamination microbiologique, 3 modèles différents ont été faits (modèle avec POR, modèle avec limite de 3 mg/l pour le brome total

et modèle avec limite de 5 mg/l pour le brome total). Pour *Legionella* spp., aucun modèle n'est présenté puisque seules des variables en lien avec le potentiel désinfectant de l'eau (POR supérieur à 650 mV ou concentration de désinfectant égale ou supérieure à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total) étaient statistiquement associées à la contamination dans les modèles multivariés. Dès lors, il faut se référer aux données du Tableau 10 (analyses univariées) concernant l'influence des paramètres de désinfection sur la présence de *Legionella* spp.

En plus du POR et des concentrations de désinfectant, le nettoyage fréquent des parois du bassin et une faible turbidité de l'eau étaient presque toujours statistiquement associés à l'absence de bactéries en quantités préoccupantes (Tableau 11).

Pour la détection de toute bactérie (Tableau 12), outre le POR et les concentrations de désinfectant, l'utilisation de chlore plutôt que de brome semblait associée à une diminution de la contamination. De plus, une concentration de 5 mg/l et plus pour le brome semblait plus fortement associée à une absence de contamination microbiologique qu'une concentration à 3 mg/l et plus, les RP étant respectivement de 0,44 et 0,67. Par ailleurs, on notait une tendance à une diminution de la contamination avec un pH inférieur à 7,2, en particulier lorsque la concentration minimale pour le brome total était fixée à 3 mg/l.

Pour les modèles reliés à la détection de *P. aeruginosa* (Tableau 13), les résultats se rapprochaient des modèles liés à la détection de toute bactérie. Le POR et les concentrations de désinfectant étaient les variables nettement les plus significatives en rapport avec la présence de *P. aeruginosa*. On note également une plus faible prévalence de contamination reliée à l'utilisation d'un désinfectant à base de chlore. Finalement, un pH inférieur à 7,2 était statistiquement associé à une diminution de la contamination dans les modèles incluant les concentrations de désinfectant.

**Tableau 11 Rapports de prévalence ajustés des variables reliées à la présence de bactéries en concentrations préoccupantes**

Variable	Présence de bactéries en concentrations préoccupantes <sup>a</sup> 24/95 spas		
	RP	Valeur p	IC (95 %)
<b>Modèle incluant le POR</b>			
POR > 650 mV	0,14	0,001	0,05-0,43
Nettoyage des parois du spa au moins une fois par mois	0,29	0,06	0,07-1,05
Turbidité ≤ 1 UTN	0,60	0,05	0,36-1,00
<b>Modèle avec des concentrations de 2 mg/l pour le chlore libre ou de 3 mg/l pour le brome total<sup>b</sup></b>			
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 3 mg/l	0,22	0,001	0,09-0,52
Nettoyage des parois du spa au moins une fois par mois	0,21	0,02	0,06-0,77
Turbidité ≤ 1 UTN	0,54	0,01	0,34-0,88
<b>Modèle des concentrations de 2 mg/l pour le chlore libre ou de 5 mg/l pour le brome total<sup>b,c</sup></b>			
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 5 mg/l	0,19	0,003	0,06-0,57
Nettoyage des parois du spa au moins une fois par mois	0,25	0,04	0,07-0,93
Turbidité ≤ 1 UTN	0,59	0,05	0,35-1,00

a *Legionella* spp. ≥ 500 UFC/l ou *P. aeruginosa* ≥ 51 UFC/100 ml ou *E. coli* ≥ 1 UFC/100 ml.

b La valeur de chlore libre ou de brome total était choisie selon le désinfectant utilisé.

c Un autre modèle a été fait en considérant une concentration de brome total de 5 mg/l comme limite minimale de référence.



**Tableau 12 Rapports de prévalence ajustés des variables reliées à la détection de toute bactérie**

Variable	Détection de toute bactérie <sup>a</sup> 48/95 spas		
	RP	Valeur p	IC (95 %)
<b>Modèle incluant le POR</b>			
POR > 650 mV	0,46	0,001	0,30-0,71
Désinfection avec un produit du chlore	0,74	0,07	0,54-1,02
<b>Modèle avec des concentrations de 2 mg/l pour le chlore libre ou de 3 mg/l pour le brome total<sup>b</sup></b>			
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 3 mg/l	0,67	0,07	0,43-1,04
pH < 7,2	0,63	0,06	0,38-1,03
Désinfection avec un produit du chlore	0,66	0,02	0,47-0,92
<b>Modèle avec des concentrations de 2 mg/l pour le chlore libre ou de 5 mg/l pour le brome total<sup>b,c</sup></b>			
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 5 mg/l	0,44	0,002	0,26-0,75
pH < 7,2	0,73	0,15	0,47-1,12
Désinfection avec un produit du chlore	0,73	0,03	0,54-0,97

a *Legionella* spp. détectée ou *P. aeruginosa* ≥ 1 UFC/100 ml ou *E. coli* ≥ 1 UFC/100 ml.

b La valeur de chlore libre ou de brome total était choisie selon le désinfectant utilisé.

c Un autre modèle a été fait en considérant une concentration de brome total de 5 mg/l comme limite minimale de référence.

**Tableau 13 Rapports de prévalence ajustés des variables reliées à la détection de *P. aeruginosa***

Variable	Détection de <i>P. aeruginosa</i> <sup>a</sup> 39/95 spas		
	RP	Valeur p	IC (95 %)
<b>Modèle incluant le POR</b>			
POR > 650 mV	0,28	< 0,001	0,15-0,50
Désinfection avec un produit du chlore	0,71	0,07	0,50-1,02
<b>Modèle avec des concentrations de 2 mg/l pour le chlore libre ou de 3 mg/l pour le brome total<sup>b</sup></b>			
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 3 mg/l	0,57	0,03	0,34-0,95
pH < 7,2	0,48	0,02	0,25-0,90
Désinfection avec un produit du chlore	0,60	0,01	0,41-0,89
<b>Modèle avec des concentrations de 2 mg/l pour le chlore libre ou de 5 mg/l pour le brome total<sup>b,c</sup></b>			
Chlore libre ≥ 2 mg/l ou brome total ≥ 5 mg/l	0,36	0,002	0,19-0,68
pH < 7,2	0,52	0,02	0,29-0,94
Désinfection avec un produit du chlore	0,67	0,02	0,47-0,95

a *P. aeruginosa* ≥ 1 UFC/100 ml.

b La valeur de chlore libre ou de brome total était choisie selon le désinfectant utilisé.

c Un autre modèle a été fait en considérant une concentration de brome total de 5 mg/l comme limite minimale de référence.

La concentration en chlorures n'a pu être incluse dans les modèles présentés aux Tableaux 11 à 13 puisqu'elle n'a été analysée que pour les utilisateurs de chlore. Aussi, à partir des variables statistiquement associées à une diminution de la contamination dans les modèles univariés ( $p \leq 0,10$ ), des modèles de régression log binomial ont également été effectués pour les utilisateurs de chlore seulement ( $n = 61$ ). Les variables associées à la vidange du spa n'ont pas été incluses dans ces modèles étant donné leur association avec la concentration en chlorures ( $p = 0,05$ ), ce qui pouvait entraîner des problèmes de multicollinéarité. La faible proportion de spas contaminés par *Legionella* spp. ne permettait pas d'obtenir la puissance statistique nécessaire pour pouvoir analyser les données en modèles multivariés. Pour les trois autres variables de paramètres microbiologiques (détection de bactéries en concentrations préoccupantes, détection de toute bactérie et détection de *P. aeruginosa*), une concentration de chlore libre d'au moins 2 mg/l était statistiquement associée à une diminution de la contamination (RP = 0,14 à 0,42 :  $p = 0,002$  à 0,005). Une concentration de chlorures inférieure à 200 mg/l se révélait protectrice pour la détection de bactéries en concentrations préoccupantes (RP = 0,24;  $p = 0,04$ ) et pour la détection de *P. aeruginosa* (RP = 0,39;  $p = 0,02$ ). Aucune autre variable n'était statistiquement associée à une diminution de la contamination microbiologique chez ces 61 utilisateurs de chlore.

Des bactéries ont fréquemment été détectées malgré des concentrations de désinfectant supérieures à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total. *P. aeruginosa* et *Legionella* spp. ont respectivement été identifiées dans 28 % (15/54) et 15 % (8/52) des spas qui respectaient ces concentrations. *Escherichia coli* n'a cependant été retrouvée qu'à des concentrations de désinfectant inférieures à 0,5 mg/l.

Des bactéries ont aussi été détectées malgré une concentration de chlore libre d'au moins 2 mg/l ou de brome total d'au moins 3 mg/l de même qu'un nettoyage du bassin au moins mensuel. *Pseudomonas aeruginosa* a été documentée à 5 reprises (26 %) pour les 19 spas qui respectaient ces critères et *Legionella* spp. à 2 reprises sur 20 (10 %). Il appert donc difficile de viser l'absence complète de *Legionella* spp. et de *P. aeruginosa* dans les spas.

Cependant, lorsque le niveau de désinfectant était plus grand ou égal à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total et que les responsables nettoyaient les parois du spa au moins mensuellement, aucun spa (0/18) ne contenait de bactéries en concentrations préoccupantes (*Legionella* spp.  $\geq 500$  UFC/l ou *P. aeruginosa*  $\geq 51$  UFC/100 ml ou *E. coli*  $\geq 1$  UFC/100 ml). Ces deux variables combinées étaient significativement associées à l'absence d'une concentration préoccupante de bactéries ( $p = 0,003$ ; test exact de Fisher). En contrepartie, 24 spas sur 74 (32 %) étaient contaminés par une concentration bactérienne préoccupante lorsqu'un de ces critères n'était pas rempli. De façon analogue, aucun spa (0/19) ne contenait de bactéries en concentrations préoccupantes lorsque le POR était supérieur à 650 mV et qu'un nettoyage au moins mensuel du bassin était effectué ( $p = 0,003$ ). Lorsque ces deux critères n'étaient pas remplis, 24 spas sur 72 (33 %) contenaient des bactéries en concentrations préoccupantes.

Fait intéressant concernant *Legionella* spp., elle n'a été détectée dans aucun des 13 spas vidangés dans le dernier mois et où le POR était supérieur à 750 mV. Ces deux variables couplées étaient statistiquement significatives ( $p = 0,03$ ; test exact de Fisher) quant à la non-détection de *Legionella* spp. qui a été retrouvée dans 28 % (21/76) des spas où un de ces critères n'était pas rempli.

Par contre, parmi les 23 spas avec un POR supérieur à 750 mV, 2 seulement avaient une concentration de désinfectant inférieure à 5 mg/l et un pH d'au moins 7,2.

### 3.4 DISCUSSION

Cette étude montre que la bactérie *Legionella* spp. est présente dans une proportion importante de spas publics au Québec (22 %) et souvent, malgré des concentrations supérieures à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total. Notre étude regroupait un nombre plus important de bassins que celles de Heng *et al.*<sup>76</sup> et de Groothuis *et al.*<sup>71</sup>, qui ont respectivement détecté la bactérie dans 2 % et 22 % des spas échantillonnés. Par contre, la majorité des spas contenaient moins de 0,3 mg/l de chlore libre dans l'étude de Groothuis *et al.*, des concentrations de loin inférieures à celles de notre étude. Ces auteurs avaient proposé qu'une concentration de 0,3 mg/l de chlore libre était suffisante pour le contrôle de *Legionella* spp. dans les spas, ce que ne reflètent pas nos données. Pour ce qui est de l'étude de Heng *et al.*, aucune information n'était donnée sur les caractéristiques des spas ou sur leur entretien. Considérant la faible sensibilité de la méthode par culture (environ 60 %)<sup>51</sup>, la prévalence réelle de *Legionella* spp. dans les spas que nous avons échantillonnés pourrait être plus importante. Ces bassins sont donc une source fréquente d'exposition à *Legionella* spp. et les multiples éclosions de légionellose qui leur ont été reliés confirment leur impact potentiel sur la santé<sup>15,17,39,41,50,52,83,84,106,112,136,137</sup>.

*Pseudomonas aeruginosa* a été encore plus fréquemment détectée dans les spas de l'étude actuelle, soit 41 % (39/95) des échantillons. Ceci représente une proportion plus importante que celle retrouvée par Moore *et al.* (8 % des échantillons de spas publics et 16 % des échantillons de spas privés)<sup>108</sup>. Certains auteurs ont retrouvé *P. aeruginosa* encore plus fréquemment dans des spas commerciaux<sup>97,122</sup>. Par contre, le nombre de bassins évalués était faible (moins de 10 spas dans chaque étude) et les concentrations de désinfectant retrouvées étaient inférieures à celles de notre étude. Moore *et al.*<sup>108</sup> rapportent que la température élevée de l'eau de ces bassins et la chute fréquente de la concentration de désinfectant (causée par l'aération de l'eau par les jets d'air et par l'arrivée subite de plusieurs baigneurs) favorisent la prolifération de cet agent pathogène.

La bactérie *E. coli* n'a été détectée que dans 2 % des spas et n'a pas été retrouvée lorsque la concentration de désinfectant dépassait 0,4 mg/l. La présence de cette bactérie semble donc indiquer des problèmes sérieux au niveau de la désinfection, tel que mentionné par la HPA<sup>75</sup>.

En rapport avec l'entretien, l'étude révèle que les paramètres sont très variables et souvent à l'extérieur des fourchettes généralement recommandées pour les eaux récréatives désinfectées. Par exemple, 61 % des spas avaient des valeurs de pH inférieures à 7,2 ou supérieures à 7,8. De plus, respectivement 36 et 35 % des bassins avaient des concentrations de chlore libre et de brome total supérieures à 5 mg/l, et 64 % montraient des teneurs en chlore combiné plus grandes que 1 mg/l. À l'opposé, près de 45 % des concentrations de chlore libre et de brome total retrouvées étaient respectivement inférieures à 2 et 3 mg/l. Ces résultats indiquent que la majorité des spas échantillonnés contreviennent aux normes chimiques prévues par règlement au Québec<sup>63</sup>.

Ces problèmes d'entretien peuvent s'expliquer en partie par le fait que les responsables de seulement quatre spas avaient reçu une formation sur l'entretien adéquat de ces bassins. De plus, moins de la moitié des spas étaient entretenus par des gestionnaires qui avaient déjà consulté le règlement

québécois, dénotant ici une lacune dans l'information donnée aux responsables. Par ailleurs, le petit volume d'eau des spas et leur température élevée rendent certains paramètres chimiques instables<sup>29</sup>. Il semble donc difficile de maintenir des concentrations de désinfectant selon des intervalles relativement précis sans l'emploi d'un système automatisé. Or, seulement quatre bassins étaient munis d'un tel système.

Aux États-Unis, des problèmes ont également été notés en lien avec l'entretien de ces bassins<sup>29</sup>. Les responsables de spas n'avaient pas de formation adéquate dans 23 % des cas et 13 % ne remplissaient pas de registre correctement. La valeur du pH ne respectait pas la norme de l'État pour 15 % des spas et la concentration de désinfectant était inadéquate pour 17 % d'entre eux.

Pour 53 % (9/17) des analyses effectuées chez les utilisateurs de chlore stabilisé, une valeur supérieure ou égale à 100 mg/l d'acide cyanurique a été obtenue. Ces concentrations d'acide cyanurique (stabilisant) retrouvées sont théoriquement préoccupantes puisque cette molécule diminue l'efficacité de la désinfection lorsqu'elle s'accumule dans l'eau<sup>18,53,77,133,141</sup>. Certaines réglementations interdisent d'ailleurs l'utilisation d'acide cyanurique dans les spas, installations où le petit volume d'eau permet l'accumulation rapide du produit<sup>11,70</sup>. Dans notre étude, moins de la moitié des spas étaient vidés au moins mensuellement, ce qui favorisait aussi l'accumulation de cette molécule. De plus, aucun gestionnaire ne mesurait sa concentration dans l'eau. Cependant, la contamination microbiologique n'était pas plus importante chez les utilisateurs de chlore stabilisé (le produit qui libère de l'acide cyanurique) par rapport aux utilisateurs de chlore non stabilisé ( $p > 0,70$  pour les 4 paramètres microbiologiques). Le pH plus bas des spas désinfectés au chlore stabilisé, bien qu'indésirable, a pu favoriser l'efficacité désinfectante du produit. En effet, une proportion plus importante de bassins désinfectés au chlore stabilisé avait un pH inférieur à 7,2 par rapport à ceux désinfectés au chlore non stabilisé (RP = 2,7;  $p = 0,03$ ).

En ce qui concerne le lien entre l'entretien des spas et leur contamination microbiologique, une concentration de désinfectant supérieure ou égale à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total était fortement et constamment associée à la diminution de la contamination bactérienne (RP  $\leq 0,67$ ). Malgré un ajustement pour la quantité de désinfectant utilisée, le chlore permettait un meilleur contrôle microbiologique que le brome pour la détection de l'une ou l'autre des trois bactéries étudiées. Ce n'était cependant pas le cas pour le contrôle de bactéries en concentrations préoccupantes. Il semble donc que l'utilisation de brome puisse limiter moins efficacement la prolifération de bactéries en faibles concentrations, mais qu'elle prévienne tout de même une présence plus importante de bactéries susceptibles d'être significatives sur le plan du risque sanitaire. Certains auteurs ont remis en question l'efficacité du brome dans les piscines et les spas, plus particulièrement en lien avec *P. aeruginosa*<sup>60,94,122,131</sup>. Dans notre étude, une concentration d'au moins 5 mg/l pour le brome total semblait permettre un meilleur contrôle microbiologique de *P. aeruginosa*. En fait, 6 des 7 spas contenant entre 3 et 5 mg/l de brome total étaient contaminés par cette bactérie. Une concentration de brome total de l'ordre de 5 mg/l permettrait possiblement une meilleure désinfection. La sécurité liée à cette concentration demanderait cependant à être évaluée puisque même si ce produit semble provoquer moins de symptômes irritatifs que le chlore<sup>23,43</sup>, il existe peu de données concernant l'innocuité du brome<sup>150</sup>.

Une valeur de POR supérieure à 650 mV était constamment associée à un bon contrôle de la contamination microbiologique (RP = 0,14-0,46). Ce paramètre intégrateur mesure le pouvoir oxydant

de l'eau. Il tient compte à la fois de la concentration de désinfectant et de la valeur du pH. À cet effet, ce paramètre semble un outil approprié pour la surveillance de la qualité de l'eau, ce qui est également mentionné par les auteurs de la monographie rédigée pour l'OMS<sup>150</sup>.

Un pH inférieur à 7,2 était pour sa part associé statistiquement à une diminution de la contamination par *P. aeruginosa* (RP = 0,48 et 0,52). Un pH entre 7,2 et 7,8 doit cependant être maintenu. Cet intervalle représente un juste équilibre entre l'efficacité désinfectante et le confort du baigneur, tout en évitant la corrosion du matériel de même que la formation excessive de chlore combiné<sup>21,149</sup>. Puisque le désinfectant peut faire varier le pH, le contrôle de ce paramètre passe par une connaissance des caractéristiques du produit désinfectant utilisé.

Un nettoyage au moins mensuel des parois du spa était associé à une prévalence plus faible de contamination bactérienne préoccupante (RP = 0,21-0,29). Par contre, cette mesure ne saurait être efficace seule. Pour cause, *P. aeruginosa* peut se multiplier et occasionner des folliculites malgré une fréquence de changement d'eau aussi élevée qu'aux 48 heures<sup>81</sup>. Puisque le nettoyage des parois du spa impliquait souvent sa vidange, il est difficile d'évaluer les impacts respectifs de la vidange et du nettoyage sur la contamination bactérienne. Le retrait des biofilms par le frottage du spa est cependant une mesure d'entretien théoriquement efficace<sup>51</sup>.

Une turbidité inférieure ou égale à 1 UTN était également associée à une prévalence plus faible de contamination microbiologique préoccupante (RP = 0,54-0,60). Il est reconnu qu'une mauvaise filtration, reflétée par une turbidité élevée, nuit à la désinfection de l'eau<sup>150</sup>. Finalement, une faible concentration en chlorures (< 200 mg/l) était associée avec une diminution de la contamination chez les utilisateurs de chlore (RP = 0,24 et 0,39). Les fluides provenant des baigneurs (par exemple la sueur) et les produits chlorés utilisés provoquent une accumulation graduelle de la concentration en chlorures. Ce paramètre reflète donc le « vieillissement » de l'eau, ce qui explique son association avec la fréquence de vidange et de nettoyage du spa ( $p = 0,05$ ). Par contre, l'analyse des chlorures doit se faire en laboratoire, ce qui limite son utilité pour une surveillance étroite de la qualité de l'eau.

Des bactéries ont parfois été détectées malgré des paramètres d'entretien qui semblaient en lien avec une bonne pratique. Ceci suggère qu'il est difficile de viser l'absence complète de deux des trois agents pathogènes étudiés (*Legionella* spp. et *P. aeruginosa*) et indique qu'il peut être ardu d'éliminer les risques microbiologiques des spas sans augmenter leurs risques chimiques. Par conséquent, il semble nécessaire de faire des compromis entre ces deux types de risques. Même si certains proposent l'absence de *Legionella* spp. et de *P. aeruginosa* comme des limites de référence à appliquer<sup>150</sup>, il nous apparaît, à la lumière des résultats présentés ici, qu'une approche plus réaliste doit être basée sur une tolérance relative d'une faible contamination microbiologique.

Une concentration de *P. aeruginosa* inférieure à 50 UFC/100 ml ne semble pas représenter un risque important relativement aux folliculites<sup>75,122</sup>. Concernant *Legionella* spp., la relation dose-effet dans les spas est peu connue, mais les limites de référence dans d'autres milieux, notamment les réseaux d'eau potable en milieu hospitalier, sont souvent de l'ordre de 1000 UFC/l<sup>35,149</sup>. Joly *et al.*<sup>87</sup> rapportent que des concentrations de *Legionella* spp. supérieures à  $10^4$ - $10^5$  UFC/l représentent un risque sanitaire dans ces réseaux d'eau hospitaliers. Des limites à 50 UFC/100 ml pour *P. aeruginosa* et à 500 UFC/l pour *Legionella* spp. pourraient représenter un juste équilibre entre les risques microbiologiques, les risques chimiques et l'intensité des efforts d'entretien qu'il est possible de demander aux responsables.

Cependant, ces recommandations devraient être modulées selon la présence de clientèle à risque élevé d'infection par *P. aeruginosa* ou *Legionella* spp. Les données de l'étude actuelle indiquent qu'il serait préférable pour les personnes sévèrement immunodéprimées (entre autres celles sous traitement immunosuppresseur suite à un cancer ou une greffe), d'éviter de fréquenter les spas, et ceci devrait être mentionné par les gestionnaires. Pour cause, il semble ardu d'assurer une concentration continuellement inférieure à 250 UFC/l pour *Legionella* spp., une limite de référence qui a été proposée pour les réseaux d'eau destinée aux patients hospitalisés à haut risque de légionellose<sup>149</sup>.

Des bactéries en concentrations jugées préoccupantes (*Legionella* spp.  $\geq$  500 UFC/l ou *P. aeruginosa*  $\geq$  51 UFC/100 ml ou *E. coli*  $\geq$  1 UFC/100 ml) n'ont pas été observées lorsque la valeur de POR était supérieure à 650 mV et que des nettoyages au moins mensuels des parois du spa étaient effectués. Le phénomène était identique en remplaçant le POR par une concentration de désinfectant supérieure ou égale à 2 mg/l pour le chlore libre ou à 3 mg/l pour le brome total. Tel que déjà mentionné, il serait pertinent de vérifier l'impact sanitaire d'une recommandation proposant d'éviter des concentrations inférieures à 5 mg/l pour le brome total. Également, une valeur minimale cible de POR entre 680 et 720 mV (selon le type d'électrode utilisée) pourrait possiblement être envisagée, tel que proposé par les auteurs de la monographie de l'OMS concernant les eaux récréatives<sup>150</sup>. Nos résultats suggèrent cependant qu'un POR plus élevé ( $>$  750 mV) est difficilement conciliable avec le respect des limites maximales de référence pour la concentration de désinfectant et le pH. Seulement 2 des 23 spas ayant un POR supérieur à 750 mV présentaient une concentration de désinfectant inférieure à 5 mg/l et un pH d'au moins 7,2. Finalement, concernant le nettoyage, il était impossible de vérifier l'influence d'un nettoyage au moins hebdomadaire des spas puisque seulement 10 bassins en bénéficiaient. Parmi ceux-ci, seulement un avait des bactéries en concentrations préoccupantes. Ces données nous permettent de suspecter que ce nettoyage hebdomadaire, tel que recommandé par des organisations reconnues<sup>75,150</sup>, serait probablement très bénéfique pour contrôler la contamination microbiologique.

Parmi les moyens pour assurer la salubrité des spas, une surveillance microbiologique est souvent recommandée. Il est généralement suggéré de vérifier la présence de *Legionella* spp., *P. aeruginosa* et *E. coli*.<sup>75,150</sup> Au regard de *E. coli*, sa surveillance apparaît questionnable même si elle est souvent recommandée ou prescrite<sup>63,148,150</sup>. C'est une bactérie très sensible à la désinfection et dans l'étude actuelle, nous n'avons pas détecté sa présence lorsque la concentration de chlore libre ou de brome total était supérieure à 0,4 mg/l. Sa sensibilité pour détecter des problèmes de contamination microbiologique apparaît faible.

Concernant l'analyse de la présence de *Legionella* spp., certains facteurs limitent son utilité comme paramètre de surveillance. Le long délai relié à la réception des résultats (deux semaines) en est un premier<sup>149</sup>. Dans les tours aéroréfrigérantes, il a été démontré qu'au moment où le résultat de la culture est obtenu, il n'est plus corrélé avec la concentration en *Legionella* spp. alors présente<sup>16</sup>. Une méthode rapide par *polymerase chain reaction* (PCR) est disponible, mais comme il est démontré dans la section 4 du rapport actuel, sa faible valeur prédictive positive (35 %) limite son utilité dans une optique de surveillance de la qualité de l'eau des spas. Ensuite, la relation entre le résultat de la culture de *Legionella* spp. et les risques pour la santé est assez mal connue, ce qui rend les résultats difficiles à interpréter<sup>16,92</sup>. Joly<sup>86</sup> mentionne enfin que, dans des installations comme les tours aéroréfrigérantes, un résultat négatif amène souvent un sentiment de fausse sécurité, ce qui peut se traduire par un relâchement de l'entretien effectué. Cet argument peut également s'appliquer aux spas.

Il semble que dans l'état actuel des choses, l'utilité de l'analyse de *Legionella* spp. par culture soit limitée pour la surveillance de la salubrité des spas. Or, les données de notre étude suggèrent qu'une désinfection adéquate de même qu'un nettoyage fréquent permettent généralement d'éviter une contamination microbiologique préoccupante. La surveillance des paramètres physicochimiques nous apparaît donc suffisante pour s'assurer de la sécurité d'un bassin, en autant qu'elle soit réalisée scrupuleusement. L'utilisation de systèmes automatisés de désinfection et de contrôle du pH est fortement souhaitable pour permettre une surveillance et un contrôle adéquats de ces paramètres. D'ailleurs, il est reconnu que les méthodes de contrôle devraient être basées sur des tests simples, rapides et, si possible, automatiques<sup>149</sup>. Puisqu'un très faible nombre de spas bénéficiaient de ces systèmes automatisés dans l'étude actuelle, il serait important de mieux comprendre les facteurs qui limitent leur utilisation, par exemple leur coût et la formation nécessaire du personnel pour assurer leur bon fonctionnement.

La culture de *Legionella* spp. peut cependant être faite à l'occasion pour valider l'efficacité de l'entretien du spa<sup>149</sup>. De plus, le suivi de cette bactérie pourrait être pertinent dans les sources thermales, là où la désinfection de l'eau est souvent absente<sup>19,86</sup>. L'analyse de *Legionella* spp. en cas d'éclosion ou lors d'inquiétudes quant à la sécurité microbiologique du spa est aussi certainement pertinente, voire essentielle<sup>13,86</sup>.

Si une surveillance microbiologique des spas est désirée, la mesure de *P. aeruginosa* semble être l'indicateur le plus pertinent. Cette bactérie a été retrouvée plus fréquemment que *Legionella* spp., ce qui en fait un indicateur plus sensible pour la détection de problèmes de contamination. De plus, le délai d'analyse est moins long (72 heures pour le dénombrement des colonies typiques et environ une semaine pour avoir la confirmation finale des résultats). Il faut néanmoins préciser que *Legionella* spp. a été retrouvée en concentrations préoccupantes dans un des 55 spas où il y avait absence de *P. aeruginosa* (concentration = 500 UFC/l). Lorsque la concentration de *P. aeruginosa* était inférieure à 51 UFC/100 ml, *Legionella* spp. a été retrouvée en concentrations préoccupantes ( $\geq 500$  UFC/l) dans 5 % (4/75) des bassins.

La nature volontaire de la participation à l'étude est une limite qui doit être soulevée (taux de participation de 44 %). Il est possible qu'il y ait eu ici un biais de sélection notable. De plus, nous avons les gestionnaires avant notre passage, ce qui a pu modifier leurs activités de nettoyage et de désinfection habituelles. Il est envisageable que ces facteurs aient entraîné une sous-estimation de la contamination microbiologique et une surestimation des concentrations de désinfectant dans les bassins. Finalement, comme force de l'étude, 95 spas ont été échantillonnés, soit un nombre important en comparaison avec les autres études réalisées sur le même sujet<sup>71,76,97,122</sup>. Malgré tout, la puissance de l'étude limitait les possibilités d'étudier plusieurs variables d'entretien en lien avec la contamination, en particulier pour les indicateurs microbiologiques moins souvent détectés tels que *E. coli* et *Legionella* spp. Néanmoins, la prise en compte simultanée des trois bactéries pour l'analyse statistique a permis d'identifier plusieurs variables d'intérêt en regard de la contamination microbiologique.

Les résultats de cette étude indiquent que la fréquentation des spas publics au Québec peut impliquer une exposition non négligeable à des agents pathogènes reconnus ainsi qu'à des produits de désinfection en concentrations inappropriées. Ils mettent également en relief des lacunes quant à la formation des gestionnaires dont la plupart ignorait, malgré la bonne volonté de la grande majorité

d'entre eux, l'existence d'un règlement concernant l'entretien de leur bassin. En outre, l'étude a permis de circonscrire les variables les plus significatives quant à la prévention de la contamination des spas. Une concentration adéquate de chlore ou de brome, un nettoyage fréquent des bassins et une faible turbidité de l'eau (filtration adéquate) permettent de limiter la contamination microbiologique. Par ailleurs, l'utilisation du POR nous est apparue un outil pertinent de gestion de la qualité de l'eau. Finalement, la grande variabilité de la concentration des produits désinfectants milite en faveur de l'utilisation de systèmes automatisés de désinfection et de contrôle du pH, systèmes qui faciliteraient une surveillance de la qualité de l'eau basée sur des paramètres physicochimiques. Puisque très peu de gestionnaires en bénéficiaient, il sera important de mieux comprendre les obstacles à leur utilisation.

À travers le monde, la majorité des règlements traitant des piscines s'appliquent également aux spas. Considérant la popularité grandissante des spas, des efforts devraient être faits pour adapter les recommandations et les réglementations à ce type de bassin qui abrite un écosystème nettement différent des piscines récréatives. Enfin, des activités d'information, de sensibilisation et de formation des gestionnaires sont nécessaires pour favoriser un meilleur entretien et une meilleure surveillance de la qualité de l'eau de ces installations.



## 4 ÉVALUATION DE LA *POLYMERASE CHAIN REACTION* EN TEMPS RÉEL POUR LA QUANTIFICATION DE *LEGIONELLA* SPP. DANS LES EAUX DE SPAS

### 4.1 INTRODUCTION

Les légionelles sont des bactéries qui colonisent de façon ubiquitaire les eaux douces naturelles et les sols humides ainsi que de nombreux milieux artificiels<sup>35</sup>. Elles sont responsables de la légionellose, une infection pouvant se manifester sous deux formes cliniques chez l'homme : la maladie des légionnaires et la fièvre de Pontiac. La contamination des personnes exposées se fait essentiellement par inhalation d'eau contaminée sous forme d'aérosol<sup>114</sup>.

Plusieurs cas isolés et des éclosions de légionellose ont été associés à l'utilisation de spas<sup>17,25,55,96,111,154</sup>. Afin de prévenir de telles infections, des recommandations propres aux spas ont été établies. L'Organisation mondiale de la Santé recommande notamment un contrôle mensuel et un seuil d'alerte de 10 *Legionella* spp./l<sup>150</sup>. Au Royaume-Uni, les autorités recommandent un contrôle trimestriel et un seuil d'alerte de 100 *Legionella* spp./l<sup>75</sup>. Ces seuils sont relativement bas par rapport au seuil d'alerte de 1000 *Legionella* spp./l recommandé par l'OMS pour tous les types d'eau utilisés en milieu hospitalier en l'absence de patients à haut risque de légionellose<sup>149</sup>.

La méthode PCR est un outil de biologie moléculaire qui permet de détecter rapidement et spécifiquement *Legionella* spp. dans les eaux. Pour cela, l'ADN d'un échantillon d'eau est extrait et concentré dans quelques microlitres. Puis, lors de la phase de polymérisation en chaîne, une séquence spécifique du génome de *Legionella* spp. est amplifiée. La séquence spécifique est généralement le gène de l'ARN ribosomique 16S<sup>58,78,87</sup>. L'ADN amplifié est ensuite détecté et quantifié à l'aide de marqueurs fluorescents. La méthode est réalisée par des tests mis au point par chaque laboratoire<sup>87,147</sup> ou bien par des tests commerciaux adaptés aux différents appareils d'amplification utilisés<sup>49,107,153</sup>. La sensibilité de la méthode est généralement très bonne, de l'ordre de quelques unités de génome (UG) par microlitre, ce qui permet la détection de faibles quantités de légionelles. L'étude de Diederer *et al.*<sup>46</sup> a mis notamment en évidence à l'aide de la méthode PCR la présence de *Legionella* spp. dans 87 % des eaux de distribution analysées. Les échantillons d'eaux analysés sont susceptibles de contenir des inhibiteurs de PCR qui ralentissent ou empêchent toute amplification d'ADN et donc toute détection<sup>98</sup>. Pour cette raison, l'analyse par PCR d'échantillons environnementaux est la plupart du temps précédée d'une étape de purification des extraits d'ADN. Lorsque la purification n'est pas suffisante, l'inhibition est généralement éliminée en diluant les extraits d'ADN avant l'amplification<sup>40</sup>.

Les légionelles sont détectables et quantifiables dans divers types d'eaux par culture et par PCR<sup>40,46,58,78,98</sup>. La culture sur milieux sélectifs constitue actuellement la méthode de référence. Les résultats exprimés en unités formant colonie (UFC) par litre sont obtenus après 1 à 2 semaines d'analyse, ce qui est incompatible avec une évaluation rapide du risque sanitaire associé aux spas. Au contraire, la méthode par PCR en temps réel peut fournir des résultats exprimés en UG par litre après seulement 24 à 48 heures. De nombreux auteurs ont cherché à établir la relation entre les résultats obtenus par culture et ceux obtenus par PCR en temps réel dans des eaux sanitaires et des eaux de tours aérorefrigérantes<sup>87,109,147,153</sup>. Ces études montrent généralement que les concentrations obtenues par PCR sont de loin supérieures à celles obtenues par culture.

L'objectif de notre étude était de vérifier si la méthode PCR en temps réel est applicable à la quantification de *Legionella* spp. dans les eaux de spas. Pour cela, nous avons déterminé la concentration en *Legionella* spp. dans 101 échantillons d'eaux de spas à la fois par PCR en temps réel et par culture.

## 4.2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

De mai à août 2008, 101 échantillons d'eaux ont été prélevés dans 95 spas d'établissements publics (hôtels, gîtes, campings, etc.) dans 3 régions du Québec (Canada). Chaque échantillon était prélevé dans une bouteille stérile en polypropylène de 4 litres contenant du thiosulfate de sodium (à une concentration finale de 100 mg/l). Le prélèvement était réalisé au moins 10 minutes après la mise en fonction du système de remous afin d'obtenir un échantillon représentatif de l'ensemble du volume d'eau contenu dans le bassin. Immédiatement après le prélèvement, l'échantillon était conservé entre 2 et 5 °C. L'analyse microbiologique était réalisée dans les 24 h suivant le prélèvement.

La quantification de *Legionella* spp. par PCR en temps réel était réalisée en suivant les exigences de la méthode AFNOR XP T90-471<sup>4</sup>. Tout d'abord, 100 à 1 000 ml d'échantillon était filtré sur des membranes en polycarbonate 0,45 µm (Sartorius Mechatronics Canada Inc., Mississauga, Canada). La membrane filtrante était ensuite traitée à l'aide de la trousse d'extraction d'ADN Adiapure Water (Adiagene, Saint-Brieuc, France). Cette trousse contient les réactifs et consommables nécessaires pour une lyse cellulaire et une purification de l'ADN. La membrane filtrante traitée était placée dans un tube contenant du tampon de lyse et le tout était incubé à 100 °C pendant 20 minutes. L'ADN était lavé et purifié sur une membrane d'ultrafiltration (seuil de coupure de 100 kDa). L'ADN était ensuite élué dans un volume final de 100 µl et stocké à -20 °C avant l'amplification PCR.

L'amplification PCR était réalisée sur un appareil 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, États-Unis) avec la trousse d'amplification Adiacontrol (Adiagene, Saint-Brieuc, France) conçue pour la quantification de *Legionella* spp. dans les eaux. La trousse Adiacontrol est constituée d'une courbe de solutions standards d'ADN génomique de *L. pneumophila* ATCC 33152, d'amorces spécifiques à *Legionella* spp. ainsi que de sondes fluorescentes marquées en FAM également spécifiques à *Legionella* spp. Chaque essai PCR était constitué de :

- i) quatre puits avec des solutions standards contenant de 25 à 25 000 UG/puits;
- ii) des puits avec les extraits d'ADN des échantillons;
- iii) un puits avec un contrôle négatif de PCR (eau ultrapure stérile);
- iv) un puits avec un contrôle positif de PCR (ADN génomique de *L. pneumophila* ATCC 33152);
- v) un puits avec un contrôle négatif de méthode (filtration et extraction d'ADN de 40 ml d'eau ultrapure stérile préalablement placée dans une bouteille de prélèvement stérile);
- vi) un puits avec un contrôle positif de méthode (dopage d'un litre d'échantillon avec un bouillon de *L. pneumophila* ATCC 33152 correspondant à un dopage de 5 000 à 100 000 UG/l).

Chaque puits contenait également un témoin interne d'inhibition d'amplification constitué d'une séquence d'ADN synthétique reconnue par les amorces spécifiques de *Legionella* spp. et par une sonde spécifique marquée en VIC. Nous considérons qu'il y avait présence d'inhibiteurs de PCR dans l'extrait d'ADN s'il n'y avait pas d'amplification du témoin interne d'inhibition. En cas d'inhibition, l'extrait d'ADN était dilué dans de l'eau physiologique stérile puis amplifié de nouveau.

Les courbes d'amplification de la PCR en temps réel ont été traitées et les concentrations déterminées à l'aide du logiciel 7500 system SDS software version 1.3.2.10 (Applied Biosystems, Foster City, États-Unis).

Les limites PCR de détection et de quantification, déterminées selon la méthode XP T90-471, étaient respectivement de 1 et 25 UG/puits, soit 40 et 1 000 UG/l pour 1 000 ml d'échantillon filtré et en l'absence d'inhibiteurs de PCR (extrait d'ADN non dilué).

Pour la description de la méthode de quantification de *Legionella* spp. par culture, se référer à la section 3.2.3 du présent rapport. La limite de détection de la méthode par culture était de 50 et 100 UFC/l pour respectivement 1 000 et 500 ml d'échantillon filtré. La limite de quantification était de 250 et 500 UFC/l pour respectivement 1 000 et 500 ml d'échantillon filtré.

Nous avons examiné la corrélation entre les deux méthodes en calculant un coefficient de corrélation de Pearson à l'aide du logiciel Minitab version 15.1.30 (Minitab Inc., State College, États-Unis). Nous avons calculé la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives de la méthode PCR temps réel en considérant la méthode par culture comme étant la méthode de référence pour la détection de *Legionella* spp.<sup>10</sup>.

### 4.3 RÉSULTATS

Le Tableau 14 présente les résultats obtenus par culture et par PCR en fonction des limites de quantification des deux méthodes.

Pour la méthode par culture, *Legionella* spp. a été détectée et quantifiée dans 14 échantillons sur 101 et les concentrations mesurées variaient de 250 à  $3,5 \times 10^5$  UFC/l. Parmi ceux-ci, 8 échantillons contenaient plus de 1 000 UFC/l. *Legionella* spp. a été détectée mais n'a pas pu être quantifiée dans 13 échantillons sur 101, les concentrations mesurées étant sous la limite de quantification. Toujours par culture, *Legionella* spp. n'a pas été détectée dans 74 des 101 échantillons.

Pour la méthode par PCR temps réel, *Legionella* spp. a été détectée et quantifiée dans 42 échantillons sur 101 avec des concentrations qui variaient de 1 000 à  $6,1 \times 10^7$  UG/l. *Legionella* spp. a été détectée mais non quantifiée dans 30 échantillons sur 101 et les limites de quantification variaient de 1 000 à  $2,0 \times 10^5$  UG/l selon les échantillons. Toujours par PCR en temps réel, *Legionella* spp. n'a pas été détectée dans 29 échantillons sur 101. La limite de détection n'a pas dépassé 1 000 UG/l pour 26 échantillons sur 29, et elle a atteint jusqu'à 2 000 UG/l pour les 3 échantillons restants.

**Tableau 14 Concentrations en *Legionella* spp. par culture et par PCR en temps réel dans des eaux de spas (n = 101)**

Méthode		Nombre d'échantillons	
		Sous-total	Total
<b>Méthode par culture</b>	<b>UFC<sup>c</sup>/l</b>		
<i>Legionella</i> spp. non détectée ( $x^a < LD^b$ )	$LD \leq 50$	29	74
	$50 < LD \leq 100$	45	
<i>Legionella</i> spp. détectée mais non quantifiable ( $x < LQ^d$ )	$LQ \leq 250$	8	13
	$250 < LQ \leq 500$	5	
<i>Legionella</i> spp. quantifiable ( $x \geq LQ$ )	$250 \leq x \leq 500$	6	14
	$500 < x \leq 1000$	0	
	$10^3 < x \leq 10^4$	3	
	$10^4 < x \leq 10^5$	4	
	$10^5 < x \leq 10^6$	1	
<b>Total</b>		101	
<b>Méthode par PCR en temps réel</b>	<b>UG<sup>e</sup>/l</b>		
<i>Legionella</i> spp. non détectée ( $x < LD^f$ )	$LD \leq 100$	14	29
	$100 < LD \leq 1000$	12	
	$10^3 < LD \leq 10^4$	3	
<i>Legionella</i> spp. détectée mais non quantifiable ( $x < LQ^f$ )	$10^3 \leq LQ \leq 10^4$	24	30
	$10^4 < LQ \leq 10^5$	5	
	$10^5 < LQ \leq 10^6$	1	
<i>Legionella</i> spp. quantifiable ( $x \geq LQ$ )	$10^3 \leq x \leq 10^4$	8	42
	$10^4 < x \leq 10^5$	18	
	$10^5 < x \leq 10^6$	12	
	$10^6 < x \leq 10^7$	1	
	$10^7 < x \leq 10^8$	3	
<b>Total</b>		101	

a  $x$  = concentration en *Legionella* spp.

b LD = limite de détection qui dépend du volume d'échantillon filtré.

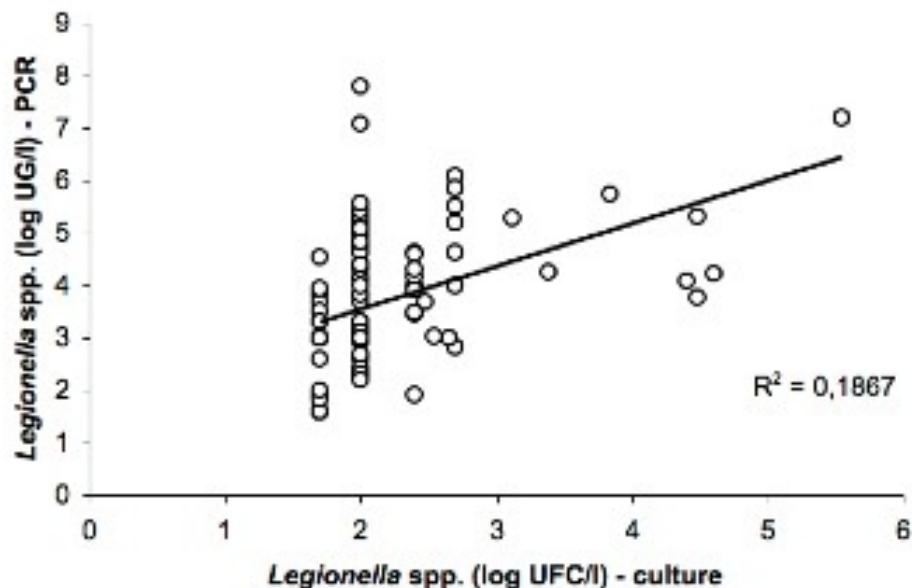
c UFC = Unité formant colonie.

d LQ = limite de quantification qui dépend du volume d'échantillon filtré.

e UG = unité de génome.

f Ces limites dépendent du volume d'échantillon filtré et de la dilution de l'extrait en cas de présence d'inhibiteurs de PCR.

Même si elle était statistiquement significative, la corrélation entre les résultats par culture et par PCR en temps réel était relativement faible, tel qu'illustré à la Figure 6 ( $r^2 = 0,187$ ;  $p < 0,01$ ). Les résultats en dessous des limites de détection ou de quantification ont pour valeur les seuils de détection ou de quantification<sup>87</sup>.



**Figure 6** Comparaison des concentrations en *Legionella* spp. obtenues par PCR temps réel avec celles obtenues par culture pour des eaux de spas (n = 101)

En considérant la méthode par culture comme la méthode de référence pour la détection de *Legionella* spp., la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative de la méthode par PCR s'élevaient respectivement à 93, 36, 35 et 93 % (Tableau 15).

**Tableau 15** Comparaison de la détection de *Legionella* spp. par PCR temps réel par rapport à celle par culture (méthode standard) dans des eaux de spas (n = 101)

	Détection par culture		Total	Valeurs prédictives
	Positif (> LD <sup>a</sup> )	Négatif (< LD)		
Détection par PCR				
Positif (> LD)	25	47	72	VPP <sup>d</sup> = 0,35
Négatif (< LD)	2	27	29	VPN <sup>e</sup> = 0,93
Total	27	74	101	
Sensibilité et spécificité	Sensibilité <sup>b</sup> = 0,93	Spécificité <sup>c</sup> = 0,36		

a LD (limite de détection).

b Sensibilité = vrais positifs/(vrais positifs + faux négatifs).

c Spécificité = vrais négatifs/(vrais négatifs + faux positifs).

d VPP (valeur prédictive positive) = vrais positifs/(vrais positifs + faux positifs).

e VPN (valeur prédictive négative) = vrais négatifs/(vrais négatifs + faux négatifs).

#### 4.4 DISCUSSION

À notre connaissance, cette étude est la première à comparer les concentrations en *Legionella* spp. obtenues par PCR en temps réel et par culture pour des eaux de spas. En dépit d'une relation statistique significative, nos résultats ont montré une corrélation relativement faible ( $r^2 = 0,187$ ) entre les deux méthodes. Cette valeur est comparable aux corrélations les plus basses obtenues dans d'autres

études pour des eaux sanitaires ( $r^2$  variant de 0,13 à 0,73)<sup>87,109,147,153</sup> et également aux faibles corrélations obtenues pour des eaux de tours aéroréfrigérantes ( $r^2 < 0,20$ )<sup>87,153</sup>. La faible corrélation obtenue dans les eaux de spas pourrait s'expliquer par la nature des échantillons analysés. En effet, 35 % des eaux prélevées dans cette étude étaient difficilement filtrables sur les membranes de 0,45 µm, ce qui a réduit le volume d'échantillon analysé à une valeur comprise entre 100 et 500 ml au lieu de 1 000 ml. Cela a donc augmenté les limites de détection et de quantification de la méthode PCR. De plus, la présence d'inhibiteurs de PCR dans 46 % de nos échantillons nous a obligés à diluer les extraits d'ADN. Ceci a eu l'effet d'augmenter également les limites de détection et de quantification de la méthode PCR. Si les limites de détection et de quantification varient, les résultats non détectables et non quantifiables obtenus par PCR vont aussi varier. Ceci limite grandement l'établissement d'une bonne corrélation entre les résultats obtenus par PCR et ceux par culture.

Nos résultats par PCR étaient plus élevés que ceux par culture, ce qui a déjà été documenté pour des eaux sanitaires et de tours aéroréfrigérantes<sup>87,147,153</sup>. Ce biais systématique pourrait être expliqué par le fait que la culture quantifie uniquement les légionelles viables et cultivables et sous-estime le nombre de légionelles présentes dans les protozoaires. En revanche, la PCR en temps réel quantifie en plus les légionelles viables mais non cultivables ainsi que les légionelles devenues non viables suite à un traitement de désinfection tout en ne sous-estimant pas le nombre de légionelles présentes dans les protozoaires<sup>49,87,132</sup>.

La valeur prédictive positive (VPP) de la méthode PCR comparée à la culture est faible (Tableau 15). Cela signifie que pour un même prélèvement, une concentration en *Legionella* spp. déterminée par PCR ne sera pas nécessairement confirmée par culture. En revanche, la valeur prédictive négative (VPN) est excellente et s'élève à 93 %. Dès lors, il est très probable qu'un résultat non détectable par PCR s'accompagnera d'un résultat non détectable en culture. Dans l'étude actuelle, 29 échantillons étaient négatifs par PCR. Parmi ceux-ci, seulement 2 étaient positifs à la culture.

En conclusion, la méthode PCR en temps réel pourrait, grâce à sa VPN élevée dans les spas, être utilisée dans une optique de dépistage afin de s'assurer rapidement de l'absence de *Legionella* spp. sans avoir à recourir à la culture. En revanche, la faible VPP de la méthode PCR implique, en cas de résultat positif, la nécessité de recourir à la culture qui constitue actuellement la méthode de référence. Dans notre étude, cette situation survient pour 72 % des échantillons, ce qui limite l'utilité de la méthode PCR pour le suivi microbiologique des spas.

## CONCLUSION

Cette étude sur les spas publics au Québec a permis de répondre à plusieurs questionnements reliés à la qualité de leur eau, notamment au niveau microbiologique. De plus, l'analyse du lien entre l'entretien des spas visités et leur contamination a permis d'avancer certaines pistes de solution visant à améliorer la sécurité de ces bassins. Les aspects importants de cette étude peuvent être ainsi résumés :

- La contamination des spas par *Legionella* spp. (22 %) et *P. aeruginosa* (41 %) est fréquente.
- Au Québec, peu de spas sont entretenus par des responsables qui connaissent le *Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels* (31 %) ou qui sont formés (4 %).
- Il est difficile de contrôler adéquatement les paramètres chimiques de l'eau d'un spa. Il serait souhaitable de promouvoir l'utilisation d'appareils automatisés de désinfection et de contrôle du pH et de documenter les barrières à leur utilisation.
- Des concentrations notables de désinfectant (chlore libre ou brome total) sont souvent nécessaires afin d'enrayer complètement la contamination des spas par *Legionella* spp. et *P. aeruginosa*.
- Le contrôle étroit des paramètres physicochimiques de l'eau d'un spa permet généralement d'éviter une contamination microbiologique préoccupante du point de vue de la salubrité (*Legionella* spp.  $\geq 500$  UFC/l ou *P. aeruginosa*  $\geq 51$  UFC/100 ml ou *E. coli*  $\geq 1$  UFC/100 ml). Les points suivants sont particulièrement importants en regard de ce contrôle :
  - Le respect de limites minimales de référence souvent proposées pour la concentration de désinfectant ( $\geq 2$  mg/l pour le chlore libre et  $\geq 3$  mg/l pour le brome total);
  - Une vidange et un nettoyage fréquents du spa, idéalement sur une base hebdomadaire;
  - Un entretien régulier des filtres afin d'assurer une faible turbidité de l'eau (variable selon l'achalandage du spa, mais habituellement sur une base quotidienne);
  - L'utilisation du potentiel d'oxydoréduction semble être un outil pertinent de gestion de la qualité de l'eau.
- Une surveillance de la qualité de l'eau par l'analyse routinière de *Legionella* spp. par culture apparaît avoir des limites. *Legionella* spp. peut toutefois être mesurée à l'occasion pour valider l'efficacité de l'entretien effectué ou lors d'une suspicion de contamination.
- L'analyse de *Legionella* spp. par PCR en temps réel pourrait être utilisée dans une optique de dépistage pour se rassurer sur l'absence de *Legionella* spp. Par contre, la faible valeur prédictive positive de cette méthode limite son utilité pour la surveillance de la qualité de l'eau de ces bassins.
- Les personnes sévèrement immunodéprimées, à haut risque d'infection par *Legionella* spp., devraient éviter de fréquenter les spas.
- La qualité de l'entretien des spas passe nécessairement par la sensibilisation, l'information et surtout la formation à l'endroit des gestionnaires des bassins.





**BIBLIOGRAPHIE**

1. **Alary, M., and J. R. Joly.** 1991. Risk factors for contamination of domestic hot water systems by legionellae. *Applied and Environmental Microbiology* 57:2360-2367.
2. **American Public Health Association - American Water Works Association - Water Pollution Control Federation.** 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed., Washington, D.C.
3. **Armstrong, T. W., and C. N. Haas.** 2007. Quantitative microbial risk assessment model for Legionnaires' disease: assessment of human exposures for selected spa outbreaks. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 4:634-646.
4. **Association française de normalisation (AFNOR).** 2006. Détection et quantification des *Legionella* et/ou *Legionella pneumophila* par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) Norme XP T90-471. La Plaine Saint-Denis, France, AFNOR.
5. **Association française de normalisation (AFNOR).** 2003. Recherche et dénombrement de *Legionella* spp. et de *Legionella pneumophila* (méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation) Norme NF T90-431. La Plaine Saint-Denis, France, AFNOR.
6. **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) Norme NF T90-431/A31. La Plaine Saint-Denis, France, AFNOR.
7. **Atlas, R. M.** 1999. *Legionella*: from environmental habitats to disease pathology, detection and control. *Environmental Microbiology* 1:283-293.
8. **Ballard, A. L., N. K. Fry, L. Chan, S. B. Surman, J. V. Lee, T. G. Harrison, and K. J. Towner.** 2000. Detection of *Legionella pneumophila* using a real-time PCR hybridization assay. *Journal of Clinical Microbiology* 38:4215-4218.
9. **Beach, M. J.** 2007. Recreational water illness prevention and swimming pool operation: Moving beyond the basics. *Journal of Environmental Health* 69:82-83.
10. **Beaucage, C., and Y. Bonnier-Viger.** 1996. Épidémiologie appliquée. Montréal, Gaëtan Morin Editeur, 550 p.
11. **Beckett, G., D. Williams, G. Giberson, K. F. Gensheimer, K. Gershman, P. Shillam, R. E. Hoffman, R. Merry, H. Savalox, and L. Fawcett.** 2001. *Pseudomonas dermatitis/folliculitis* associated with pools and hot tubs - Colorado and Maine, 1999-2000. *JAMA: Journal of the American Medical Association* 285:157-158.
12. **Behets, J., P. Declerck, Y. Delaedt, B. Creemers, and F. Ollevier.** 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* 68:137-144.

13. **Benin, A. L., K. E. Arnold, R. F. Benson, A. E. Fiore, P. G. Cook, L. K. Williams, B. Fields, and R. E. Besser.** 2002. An outbreak of travel-associated Legionnaires disease and Pontiac fever: The need for enhanced surveillance of travel-associated legionellosis in the United States. *Journal of Infectious Diseases* 185:243.
14. **Benin, A. L., R. F. Benson, and R. E. Besser.** 2002. Trends in Legionnaires disease, 1980-1998: Declining mortality and new patterns of diagnosis. *Clinical Infectious Diseases* 35:1039-1046.
15. **Benkel, D. H., E. M. McClure, D. Woolard, J. V. Rullan, G. B. Miller, Jr., S. R. Jenkins, J. H. Hershey, R. F. Benson, J. M. Pruckler, E. W. Brown, M. S. Kolczak, R. L. Hackler, B. S. Rouse, and R. F. Breiman.** 2000. Outbreak of Legionnaires' disease associated with a display whirlpool spa. *International Journal of Epidemiology* 29:1092-1098.
16. **Bentham, R. H.** 2000. Routine sampling and the control of *Legionella* spp. in cooling tower water systems. *Current Microbiology* 41:271-275.
17. **Beyrer, K., S. Lai, J. Dreesman, J. V. Lee, C. Joseph, T. Harrison, S. Surman-Lee, C. Lück, B. Brodhun, U. Buchholz, and A. Windorfer.** 2007. Legionnaires' disease outbreak associated with a cruise liner, August 2003: epidemiological and microbiological findings. *Epidemiology and Infection* 135:802-810.
18. **Black, A. P., M. A. Keirn, J. J. Smith, Jr., G. M. Dykes, Jr., and W. E. Harlan.** 1970. The disinfection of swimming pool water. II. A field study of the disinfection of public swimming pools. *American Journal of Public Health and the Nation's Health* 60:740-750.
19. **Bornstein, N., D. Marmet, M. Surgot, M. Nowicki, A. Arslan, J. Esteve, and J. Fleurette.** 1989. Exposure to Legionellaceae at a hot spring spa: A prospective clinical and serological study. *Epidemiology and Infection* 102:31-36.
20. **Boshuizen, H. C., S. E. Neppelenbroek, H. van Vliet, J. F. Schellekens, J. W. den Boer, M. F. Peeters, and M. A. Conyn-van Spaendonck.** 2001. Subclinical *Legionella* infection in workers near the source of a large outbreak of Legionnaires disease. *The Journal of Infectious Diseases* 184:515-518.
21. **Broadbent, C.** 1996. Guidance on water quality for heated spas. Adelaide, National Environmental Health Forum, 25 p.
22. **Brown, J. R., D. M. Maclean, and M. C. Nixon.** 1963. Bromine disinfection of swimming pools. *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Santé Publique* 54:267-270.
23. **Brown, J. R., D. M. McLean, and M. C. Nixon.** 1964. Bromine disinfection of a large swimming pool. *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Santé Publique* 55:251-256.
24. **Bürr, M., J. Chauret, and A. Leblanc.** 2004. Évaluation des risques chimiques dans les bassins aquatiques à l'usage du public. Sherbrooke, Agence de développement de réseaux locaux de services de santé et de services sociaux de l'Estrie, 77 p.

25. **Burnsed, L. J., L. A. Hicks, L. M. Smithee, B. S. Fields, K. K. Bradley, N. Pascoe, S. M. Richards, S. Mallonee, L. Littrell, R. F. Benson, and M. R. Moore.** 2007. A large, travel-associated outbreak of legionellosis among hotel guests: Utility of the urine antigen assay in confirming Pontiac fever. *Clinical Infectious Diseases* 44:222-228.
26. **Canuel, M., and G. Lebel.** 2009. Bilan des éclosions de maladies d'origine hydrique au Québec, 2005-2007 (Données provisoires). Québec, Institut national de santé publique du Québec.
27. **Catalan, V., F. Garcia, C. Moreno, M. J. Vila, and D. Apraiz.** 1997. Detection of *Legionella pneumophila* in wastewater by nested polymerase chain reaction. *Research in Microbiology* 148:71-78.
28. **Centers for Disease Control (CDC).** Operating public spas. In CDC. Healthy Swimming, [En ligne]. [http://www.cdc.gov/healthySwimming/pdf/spa\\_operation.pdf](http://www.cdc.gov/healthySwimming/pdf/spa_operation.pdf) (Page consultée le 15 janvier 2008).
29. **Centers for Disease Control (CDC).** 2004. Surveillance data from public spa inspections - United States, May-September 2002. *MMWR: Morbidity and Mortality Weekly Report* 53:553-555.
30. **Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ).** 2007. Méthodes de prélèvement, de conservation et d'analyse des échantillons relatifs à l'évaluation de la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels. DR-09-05. Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs.
31. **Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ).** 2005. Recherche et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* : Méthode par filtration sur membrane. MA. 700 - PSE 1.0., Rév. 2. Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs.
32. **Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ).** 2006. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* thermotolérant : Méthode par filtration sur membrane utilisant le milieu de culture mTEC modifié. MA. 700-Ec-mTEC 1.0., Rév. 2. Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs.
33. **Clark, C. F., and P. G. Smith.** 1992. The survival of *Pseudomonas aeruginosa* during bromination in a model whirlpool spa. *Letters in Applied Microbiology* 14:10-12.
34. **Colorado Government.** 2008. Department of public health and environment, Water quality division, Bathing Areas, 5 CCR 1003-5.
35. **Conseil supérieur d'hygiène publique de France.** 2005. Le risque lié aux légionelles : Guide d'investigation et d'aide à la gestion. Ministère de la Santé et des Solidarités, 67 p.
36. **Côté, P.-A., J. Ferland, S. Thériège, B. Lévesque, C. Christin, J. Fecteau, and L. Turbide.** 2005. Guide d'exploitation des piscines et autres bassins artificiels. Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 120 p.
37. **Dadswell, J. V.** 1997. Poor swimming pool management : How real is the health risk? *Environmental Health* 105:69-73.

38. **DDASS de Haute-Loire.** 2009. Bains à remous ou spa. Le Puy en Velay, Ministère de la Santé, de la Jeunesse, des Sports et de la Vie associative, 4 p.
39. **de Jong, B., G. Allestam, and S.-B. Knauth.** 2004. *Legionella* infections from a private whirlpool in Sweden. *Eurosurveillance Weekly* **8**: [En ligne]. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2544> (Page consultée le 30 janvier 2009).
40. **Declerck, P., J. Behets, E. Lammertyn, I. Lebeau, J. Anné, and F. Ollevier.** 2006. Detection and quantification of *Legionella pneumophila* in water samples using competitive PCR. *Canadian Journal of Microbiology* **52**:584-590.
41. **Den Boer, J. W., E. P. F. Yzerman, J. Schellekens, K. D. Lettinga, H. C. Boshuizen, J. E. Van Steenberghe, A. Bosman, S. Van den Hof, H. A. Van Vliet, M. F. Peeters, R. J. Van Ketel, P. Speelman, J. L. Kool, and M. A. E. Conyn-Van Spaendonck.** 2002. A large outbreak of Legionnaires' disease at a flower show, the Netherlands, 1999. *Emerging Infectious Diseases* **8**:37-43.
42. **Department of Health of New South Wales.** 1996. Public swimming pool and spa pool guidelines. North Sydney, New South Wales Government, 30 p.
43. **Department of Human Services of the Australian Health Commission.** 1992. Standard for the operation of swimming pools and spa pools in South Australia. Supplement C : Bromine disinfection of swimming pool, hydrotherapy pool & waterslide pool water. Adelaide, Government of South Australia, 14 p.
44. **Descaries, D., R. Allard, F. Gagnon, Y. Lavoie, M.-A. Leblanc, B. Lefebvre, M. Lorange, and S. Maillé.** 2008. Légionellose acquise dans la communauté : Guide d'intervention. Québec, Table de concertation nationale en maladies infectieuses, 55 p.
45. **Devos, L., K. Clymans, N. Boon, and W. Verstraete.** 2005. Evaluation of nested PCR assays for the detection of *Legionella pneumophila* in a wide range of aquatic samples. *Journal of Applied Microbiology* **99**:916-925.
46. **Diederer, B. M., C. M. de Jong, I. Aarts, M. F. Peeters, and Z. A. Van Der.** 2007. Molecular evidence for the ubiquitous presence of *Legionella* species in Dutch tap water installations. *Journal of Water and Health* **5**:375-383.
47. **Diederer, B. M., C. M. A. de Jong, F. Marmouk, J. A. J. W. Kluytmans, M. F. Peeters, and A. Van der Zee.** 2007. Evaluation of real-time PCR for the early detection of *Legionella pneumophila* DNA in serum samples. *Journal of Medical Microbiology* **56**:94-101.
48. **DRASS Auvergne et DDASS du Puy de Dôme.** 2007. L'essentiel pour bien entretenir votre piscine. Clermont-Ferrand, Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des Sports, 29 p.
49. **Dusserre, E., C. Ginevra, S. Hallier-Soulier, F. Vandenesch, G. Festoc, J. Etienne, S. Jarraud, and M. Molmeret.** 2008. A PCR-based method for monitoring *Legionella pneumophila* in water samples detects viable but noncultivable *legionellae* that can recover their cultivability. *Applied and Environmental Microbiology* **74**:4817-24.

50. **Dziuban, E. J., J. L. Liang, G. F. Craun, V. Hill, P. A. Yu, J. Painter, M. R. Moore, R. L. Calderon, S. L. Roy, and M. J. Beach.** 2006. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with recreational water - United States, 2003-2004. *MMWR: Morbidity and Mortality Weekly Report* 55:1-30.
51. **Fields, B. S., R. F. Benson, and R. E. Besser.** 2002. *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clinical Microbiology Reviews* 15:506-526.
52. **Fields, B. S., T. Haupt, J. P. Davis, M. J. Arduino, P. H. Miller, and J. C. Butler.** 2001. Pontiac fever due to *Legionella micdadei* from a whirlpool spa: Possible role of bacterial endotoxin. *The Journal of Infectious Diseases* 184:1289-1292.
53. **Fitzgerald, G. P., and M. E. DerVartanian.** 1969. *Pseudomonas aeruginosa* for the evaluation of swimming pool chlorination and algicides. *Applied Microbiology* 17:415-421.
54. **Fiume, L., M. A. Bucci Sabattini, and G. Poda.** 2005. Detection of *Legionella pneumophila* in water samples by species-specific real-time and nested PCR assays. *Letters in Applied Microbiology* 41:470-475.
55. **Foster, K., R. Gorton, and J. Waller.** 2006. Outbreak of legionellosis associated with a spa pool, United Kingdom. *European Communicable Disease Bulletin* 11:E060921.2.
56. **Fraser, D. W., T. R. Tsai, W. Orenstein, W. E. Parkin, H. J. Beecham, R. G. Sharrar, J. Harris, G. F. Mallison, S. M. Martin, J. E. McDade, C. C. Shepard, and P. S. Brachman.** 1977. Legionnaires' disease: Description of an epidemic of pneumonia. *New England Journal of Medicine* 297:1189-1197.
57. **Garcia-Fulgueiras, A., C. Navarro, D. Fenoll, J. Garcia, P. Gonzalez-Diego, T. Jimenez-Bunuales, M. Rodriguez, R. Lopez, F. Pacheco, J. Ruiz, M. Segovia, B. Baladron, and C. Pelaz.** 2003. Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. *Emerging Infectious Diseases* 9:915-921.
58. **Giglio, S., P. T. Monis, and C. P. Saint.** 2005. *Legionella* confirmation using real-time PCR and SYTO9 is an alternative to current methodology. *Applied and Environmental Microbiology* 71:8944-8948.
59. **Giroux, J.-P.** 2009. Étude descriptive des méthodes de désinfection et d'entretien des spas semi-publics au Québec (à paraître).
60. **Goeres, D. M., L. R. Loetterle, and M. A. Hamilton.** 2007. A laboratory hot tub model for disinfectant efficacy evaluation. *Journal of Microbiological Methods* 68:184-192.
61. **Gouvernement des Territoires du Nord-Ouest.** 1990. Piscines publiques, Règlement Sur Les, R.R.T.N.-O. 1990, c. P-21, [En ligne]. <http://www.canlii.org/nt/legis/regl/p-21/20080818/tout.html>. (Page consultée le 15 janvier 2008).
62. **Gouvernement du Manitoba.** 1997. Piscines et autres installations de loisirs aquatiques, Règlement sur les, Règl. du Man. 132/97, [En ligne]. <http://www.canlii.org/mb/legis/regl/1997r.132/20080818/tout.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).

63. **Gouvernement du Québec.** 2006. Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels, L.R.Q., c. Q-2. Gazette officielle du Québec 138<sup>e</sup> année:5643-5647.
64. **Gouvernement du Yukon.** 1989. Piscines publiques, Règlement concernant les, Y.D. 1989/130, [En ligne]. <http://www.canlii.org/yk/legis/regl/1989r.130/20060728/tout.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).
65. **Government of Alberta.** 2006. Swimming pool, wading pool and water spray park regulation, Alta. Reg. 293/2006, [En ligne]. <http://www.canlii.org/ab/laws/regu/2006r.293/20080818/whole.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).
66. **Government of Newfoundland and Labrador.** 1996. Public pools regulations, C.N.L.R. 1023/96, [En ligne]. <http://www.canlii.org/nl/laws/regu/1996r.1023/20080818/whole.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).
67. **Government of Ontario.** 2005. Public spas, O. Reg. 428/05, [En ligne]. <http://www.canlii.org/on/laws/regu/2005r.428/20080821/whole.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).
68. **Government of Prince Edward Island.** 2001. Swimming pool and waterslide regulations, P.E.I. Reg. EC93/01, [En ligne]. <http://www.canlii.org/pe/laws/regu/2001r.93/20080818/whole.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).
69. **Government of Saskatchewan.** 1999. Swimming pool regulations, 1999, R.R.S. c. P-37.1 Reg.7, [En ligne]. <http://www.canlii.org/sk/laws/regu/p-37.1r.7/20080818/whole.html> (Page consultée le 15 janvier 2008).
70. **Government of South Australia.** 2006. Public and environmental health (general) regulations: Public swimming pools and spa pools, [En ligne]. [http://www.legislation.sa.gov.au/LZ/C/R/PUBLIC%20AND%20ENVIRONMENTAL%20HEALTH%20\(GENERAL\)%20REGULATIONS%202006/2006.08.31\\_\(2006.08.31\)/2006.215.U.N.PDF](http://www.legislation.sa.gov.au/LZ/C/R/PUBLIC%20AND%20ENVIRONMENTAL%20HEALTH%20(GENERAL)%20REGULATIONS%202006/2006.08.31_(2006.08.31)/2006.215.U.N.PDF) (Page consultée le 15 janvier 2008).
71. **Groothuis, D. G., A. H. Havelaar, and H. R. Veenendaal.** 1985. A note on *legionellas* in whirlpools. *The Journal of Applied Bacteriology* 58:479-481.
72. **Gustafson, T. L., J. D. Band, R. H. Hutcheson, Jr., and W. Schaffner.** 1983. *Pseudomonas folliculitis*: An outbreak and review. *Reviews of Infectious Diseases* 5:1-8.
73. **Havelaar, A. H., L. G. Berwald, D. G. Groothuis, and J. G. Baas.** 1985. Mycobacteria in semi-public swimming-pools and whirlpools. *Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin* 180:505-514.
74. **Hay, J., and D. V. Seal.** 1994. Monitoring of hospital water supplies for *Legionella*. *The Journal of Hospital Infection* 26:75-78.
75. **Health Protection Agency and Health and Safety Executive.** 2006. Management of Spa Pools: Controlling the Risk of Infection. London, Health Protection Agency, 121 p.

76. **Heng, B. H., K. T. Goh, D. L. Ng, and A. E. Ling.** 1997. Surveillance of legionellosis and *Legionella* bacteria in the built environment in Singapore. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore* 26:557-565.
77. **Hoadley, A. W.** 1977. Potential health hazards associated with *Pseudomonas aeruginosa* in water, IN Hoadley, A. W., and B. J. Dutka (sous la dir. de), Bacterial indicators/health hazards associated with water. Philadelphia, *American Society for Testing and Materials*, p. 80-103.
78. **Horng, Y.-T., P.-C. Soo, B.-J. Shen, Y.-L. Hung, K.-Y. Lo, H.-P. Su, J.-R. Wei, S.-C. Hsieh, P.-R. Hsueh, and H.-C. Lai.** 2006. Development of an improved PCR-ICT hybrid assay for direct detection of *Legionellae* and *Legionella pneumophila* from cooling tower water specimens. *Water Research* 40:2221-2229.
79. **Hsu, B.-M., C.-H. Chen, M.-T. Wan, and H.-W. Cheng.** 2006. *Legionella* prevalence in hot spring recreation areas of Taiwan. *Water Research* 40:3267-3273.
80. **Hudson, P. J., R. L. Vogt, D. A. Jillson, S. J. Kappel, and A. K. Highsmith.** 1985. Duration of whirlpool-spa use as a risk factor for *Pseudomonas dermatitis*. *American Journal of Epidemiology* 122:915-917.
81. **Institut de veille sanitaire.** 2004. Investigation de cas groupés de folliculites à *Pseudomonas aeruginosa* dans un hôtel de la Corse-du-Sud. Ministère de la Santé et des Solidarités, 24 p.
82. **Ishida, T., T. Hashimoto, M. Arita, I. Ito, and M. Osawa.** 1998. Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized patients: A 3-year prospective study in Japan. *Chest* 114:1588-1593.
83. **Ito, I., J. Naito, S. Kadowaki, M. Mishima, T. Ishida, T. Hongo, L. Ma, Y. Ishii, T. Matsumoto, and K. Yamaguchi.** 2002. Hot spring bath and *Legionella pneumonia*: An association confirmed by genomic identification. *Internal Medicine* (Tokyo, Japan) 41:859-863.
84. **Jernigan, D. B., J. Hofmann, M. S. Cetron, C. A. Genese, J. P. Nuorti, B. S. Fields, R. F. Benson, R. J. Carter, P. H. Edelstein, I. C. Guerrero, S. M. Paul, H. B. Lipman, and R. F. Breiman.** 1996. Outbreak of Legionnaires' disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. *Lancet* 347:494-499.
85. **Johnson, J. D., and R. Overby.** 1971. Bromine and bromamine disinfection chemistry. *Journal of the Sanitary Engineering Division* 97:617-628.
86. **Joly, J. R.** 1993. Monitoring for the Presence of Legionella: Where, When and How?, In Barbaree, James M., Robert F. Breiman and Alfred P. Dufour (sous la dir. de), *Legionella : current status and emerging perspectives*. Washington: D.C., American Society for Microbiology, p. 211-216.
87. **Joly, P., P.-A. Falconnet, J. André, N. Weill, M. Reyrolle, F. Vandenesch, M. Maurin, J. Etienne, and S. Jarraud.** 2006. Quantitative real-time *Legionella* PCR for environmental water samples: Data interpretation. *Applied and Environmental Microbiology* 72:2801-2808.

88. **Kaufmann, A. F., J. E. McDade, C. M. Patton, J. V. Bennett, P. Skaliy, J. C. Feeley, D. C. Anderson, M. E. Potter, V. F. Newhouse, M. B. Gregg, and P. S. Brachman.** 1981. Pontiac fever: Isolation of the etiologic agent (*Legionella pneumophila*) and demonstration of its mode of transmission. *American Journal of Epidemiology* 114:337-347.
89. **Kawano, K., M. Okada, F. Kura, J. Amemura-Maekawa, and H. Watanabe.** 2007. [Largest outbreak of legionellosis associated with spa baths: Comparison of diagnostic tests]. *Kansenshogaku Zasshi* 81:173-182.
90. **Koide, M., F. Higa, M. Tateyama, I. Nakasone, N. Yamane, and J. Fujita.** 2006. Detection of *Legionella* species in clinical samples: comparison of polymerase chain reaction and urinary antigen detection kits. *Infection* 34:264-268.
91. **Koide, M., F. Higa, M. Tateyama, H. Sakugawa, and A. Saito.** 2004. Comparison of polymerase chain reaction and two urinary antigen detection kits for detecting *Legionella* in clinical samples. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 23:221-223.
92. **Kool, J. L., D. Bergmire-Sweat, J. C. Butler, E. W. Brown, D. J. Peabody, D. S. Massi, J. C. Carpenter, J. M. Pruckler, R. F. Benson, and B. S. Fields.** 1999. Hospital characteristics associated with colonization of water systems by *Legionella* and risk of nosocomial Legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 20:798-805.
93. **Kool, J. L., U. Buchholz, C. Peterson, E. W. Brown, R. F. Benson, J. M. Pruckler, B. S. Fields, J. Sturgeon, E. Lehnkering, R. Cordova, L. M. Mascola, and J. C. Butler.** 2000. Strengths and limitations of molecular subtyping in a community outbreak of Legionnaires' disease. *Epidemiology and Infection* 125:599-608.
94. **Koski, T. A., L. S. Stuart, and L. F. Ortenzio.** 1966. Comparison of chlorine, bromine, iodine as disinfectants for swimming pool water. *Applied Microbiology* 14:276-279.
95. **Kowalski, X., and T. B. Hilton.** 1966. Comparison of chlorinated cyanurates with other chlorine disinfectants. *Public Health Reports* 81:282-288.
96. **Kura, F., J. Amemura-Maekawa, K. Yagita, T. Endo, M. Ikeno, H. Tsuji, M. Taguchi, K. Kobayashi, E. Ishii, and H. Watanabe.** 2006. Outbreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. *Epidemiology and Infection* 134:385-391.
97. **Kush, B. J., and A. W. Hoadley.** 1980. A preliminary survey of the association of *Pseudomonas aeruginosa* with commercial whirlpool bath waters. *American Journal of Public Health* 70:279-281.
98. **Levi, K., J. Smedley, and K. J. Towner.** 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* 9:754-758.



99. **Liang, J. L., E. J. Dziuban, G. F. Craun, V. Hill, M. R. Moore, R. J. Gelting, R. L. Calderon, M. J. Beach, and S. L. Roy.** 2006. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking - United States, 2003-2004. *MMWR: Morbidity and Mortality Weekly Report* 55:31-65.
100. **Lin, Y. E., W.-m. Lu, H.-I. Huang, and W.-k. Huang.** 2007. Environmental survey of *Legionella pneumophila* in hot springs in Taiwan. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 70:84-87.
101. **Liu, W. K., D. E. Healing, J. T. Yeomans, and T. S. Elliott.** 1993. Monitoring of hospital water supplies for *Legionella*. *The Journal of Hospital Infection* 24:1-9.
102. **Mangione, E. J., G. Huitt, D. Lenaway, J. Beebe, A. Bailey, M. Figoski, M. P. Rau, K. D. Albrecht, and M. A. Yakrus.** 2001. Nontuberculous mycobacterial disease following hot tub exposure. *Emerging Infectious Diseases* 7:1039-1042.
103. **Marston, B. J., H. B. Lipman, and R. F. Breiman.** 1994. Surveillance for Legionnaires' disease. Risk factors for morbidity and mortality. *Archives of Internal Medicine* 154:2417-2422.
104. **Marston, B. J., J. F. Plouffe, T. M. File, Jr., B. A. Hackman, S. J. Salstrom, H. B. Lipman, M. S. Kolczak, and R. F. Breiman.** 1997. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance study in Ohio. The community-based Pneumonia incidence study group. *Archives of Internal Medicine* 157:1709-1718.
105. **Martinelli, F., S. Carasi, C. Scarcella, and F. Speziani.** 2001. Detection of *Legionella pneumophila* at thermal spas. *The New Microbiologica* 24:259-264.
106. **Miller, L. A., J. L. Beebe, J. C. Butler, W. Martin, R. Benson, R. E. Hoffman, and B. S. Fields.** 1993. Use of polymerase chain reaction in an epidemiologic investigation of Pontiac fever. *The Journal of Infectious Diseases* 168:769-772.
107. **Miyamoto, H., H. Yamamoto, K. Arima, J. Fujii, K. Maruta, K. Izu, T. Shiomori, and S. Yoshida.** 1997. Development of a new seminested PCR method for detection of *Legionella* species and its application to surveillance of legionellae in hospital cooling tower water. *Applied and Environmental Microbiology* 63:2489-94.
108. **Moore, J. E., N. Heaney, B. C. Millar, M. Crowe, and J. S. Elborn.** 2002. Incidence of *Pseudomonas aeruginosa* in recreational and hydrotherapy pools. *Communicable Disease and Public Health* 5:23-26.
109. **Morio, F., S. Corvec, N. Caroff, G. F. Le, H. Drugeon, and A. Reynaud.** 2007. Real-time PCR assay for the detection and quantification of *Legionella pneumophila* in environmental water samples: Utility for daily practice. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 211:403-411.
110. **Muder, R. R., and V. L. Yu.** 2002. Infection due to *Legionella* species other than *L. pneumophila*. *Clinical Infectious Diseases* 35:990-998.

111. **Nagai, T., H. Sobajima, M. Iwasa, T. Tsuzuki, F. Kura, J. Amemura-Maekawa, and H. Watanabe.** 2003. Neonatal sudden death due to *Legionella pneumonia* associated with water birth in a domestic spa bath. *Journal of Clinical Microbiology* 41:2227-2229.
112. **Nakamura, H., H. Yagy, K. Kishi, F. Tsuchida, S. Oh-Ishi, K. Yamaguchi, and T. Matsuoka.** 2003. A large outbreak of Legionnaires' disease due to an inadequate circulating and filtration system for bath water - epidemiologic manifestations. *Internal Medicine* (Tokyo, Japan) 42:806-811.
113. **O'Brien, S. J., and R. S. Bhopal.** 1993. Legionnaires' disease: The infective dose paradox. *Lancet* 342:5-6.
114. **Office fédéral de la santé publique (OFSP).** 2006. *Legionella* et légionellose. Berne, OFSP, 64 p.
115. **Office québécois de la langue française.** Grand dictionnaire terminologique, [En ligne]. <http://www.oqlf.gouv.qc.ca/ressources/gdt.html> (Page consultée le 30 janvier 2009).
116. **O'Loughlin, R. E., L. Kightlinger, M. C. Werpy, E. Brown, V. Stevens, C. Hepper, T. Keane, R. F. Benson, B. S. Fields, and M. R. Moore.** 2007. Restaurant outbreak of Legionnaires' disease associated with a decorative fountain: An environmental and case-control study. *BMC Infectious Diseases* 7:93-93.
117. **Otto, C., 3rd.** 2006. Recreational water-illness-prevention = healthy swimming. *Journal of Environmental Health* 68:54-55.
118. **Patterson, W. J., D. V. Seal, E. Curran, T. M. Sinclair, and J. C. McLuckie.** 1994. Fatal nosocomial Legionnaires' disease: Relevance of contamination of hospital water supply by temperature-dependent buoyancy-driven flow from spur pipes. *Epidemiology and Infection* 112:513-525.
119. **Penn, C., and K. C. Kain.** 1990. *Pseudomonas folliculitis*: An outbreak associated with bromine-based disinfectants - British Columbia. *Canada Diseases Weekly Report / Rapport hebdomadaire des maladies au Canada* 16:31-33.
120. **Perrotta, D. M., R. E. J. Johns, R. Bradley, K. Miner, T. Sadler, and H. L. Gibbons.** 1983. An outbreak of *Pseudomonas folliculitis* associated with a waterslide - Utah. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 250:1259.
121. **Plouffe, J. F., T. M. File, Jr., R. F. Breiman, B. A. Hackman, S. J. Salstrom, B. J. Marston, and B. S. Fields.** 1995. Reevaluation of the definition of Legionnaires' disease: Use of the urinary antigen assay. Community Based Pneumonia Incidence Study Group. *Clinical Infectious Diseases* 20:1286-1291.
122. **Price, D., and D. G. Ahearn.** 1988. Incidence and persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in whirlpools. *Journal of Clinical Microbiology* 26:1650-1654.
123. **Ratnam, S., K. Hogan, S. B. March, and R. W. Butler.** 1986. Whirlpool-associated folliculitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*: Report of an outbreak and review. *Journal of Clinical Microbiology* 23:655-659.

124. **République française.** 2008. Règles sanitaires applicables aux piscines, Articles D1132-1 à D1132-13, [En ligne].  
[http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do;jsessionid=2A06497A952D865D71383E3D13CB4027.tpdjo13v\\_1?idSectionTA=LEGISCTA000019506535&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20090128](http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do;jsessionid=2A06497A952D865D71383E3D13CB4027.tpdjo13v_1?idSectionTA=LEGISCTA000019506535&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20090128) (Page consultée le 15 janvier 2008).
125. **Rocha, G., A. Verissimo, R. Bowker, N. Bornstein, and M. S. Da Costa.** 1995. Relationship between *Legionella* spp. and antibody titres at a therapeutic thermal spa in Portugal. *Epidemiology and Infection* 115:79-88.
126. **Rose, H. D., T. R. Franson, N. K. Sheth, M. J. Chusid, A. M. Macher, and C. H. Zeirdt.** 1983. *Pseudomonas* pneumonia associated with use of a home whirlpool spa. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 250:2027-2029.
127. **Rowbotham, T. J.** 1980. Pontiac fever explained? *Lancet* 2:969-969.
128. **Rycroft, R. J. G., and P. T. Penny.** 1983. Dermatoses associated with brominated swimming pools. *British Medical Journal* 287:462.
129. **Salmen, P., D. M. Dwyer, H. Vorse, and W. Kruse.** 1983. Whirlpool-associated *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 250:2025-2026.
130. **Seyfried, P. L., and D. J. Fraser.** 1980. Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* in chlorinated swimming pools. *Canadian Journal of Microbiology* 26:350-355.
131. **Shaw, J. W.** 1984. A retrospective comparison of the effectiveness of bromination and chlorination in controlling *Pseudomonas aeruginosa* in spas (whirlpools) in Alberta. *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Santé Publique* 75:61-68.
132. **Shih, H. Y., and Y. E. Lin.** 2006. Caution on interpretation of *legionella* results obtained using real-time PCR for environmental water samples. *Applied and Environmental Microbiology* 72:6859.
133. **Sommerfeld, M. R., and R. P. Adamson.** 1982. Influence of stabilizer concentration on effectiveness of chlorine as an algicide. *Applied and Environmental Microbiology* 43:497-499.
134. **Sommese, L., P. Scarfoglio, M. Vitiello, P. Catalanotti, and E. Galdiero.** 1996. Presence of *Legionella* spp. in thermal springs of the Campania region of South Italy. *The New Microbiologica* 19:315-320.
135. **Sonder, G. J., J. A. van den Hoek, L. P. Bovée, F. E. Aanhane, J. Worp, M. Du Ry van Beest Holle, J. E. van Steenberg, J. W. den Boer, E. P. Ijzerman, and R. A. Coutinho.** 2008. Changes in prevention and outbreak management of Legionnaires' disease in the Netherlands between two large outbreaks in 1999 and 2006. *Euro Surveill* 13:1-6.
136. **Spitalny, K. C., R. L. Vogt, L. A. Orciari, L. E. Witherell, P. Etkind, and L. F. Novick.** 1984. Pontiac fever associated with a whirlpool spa. *American Journal of Epidemiology* 120:809-817.

137. **Spitalny, K. C., R. L. Vogt, and L. E. Witherell.** 1984. National survey on outbreaks associated with whirlpool spas. *American Journal of Public Health* 74:725-726.
138. **Steininger, J.** 1998. ORP control in pools and spas, [En ligne]. <http://www.sbcontrol.com/orpuse.pdf> (Page consultée le 24 janvier 2008).
139. **Stolhaug, A., and K. Bergh.** 2006. Identification and differentiation of *Legionella pneumophila* and *Legionella* spp. with real-time PCR targeting the 16S rRNA gene and species identification by mip sequencing. *Applied and Environmental Microbiology* 72:6394-6398.
140. **Stout, J. E., R. R. Muder, S. Mietzner, M. M. Wagener, M. B. Perri, K. DeRoos, D. Goodrich, W. Arnold, T. Williamson, O. Ruark, C. Treadway, E. C. Eckstein, D. Marshall, M. E. Rafferty, K. Sarro, J. Page, R. Jenkins, G. Oda, K. J. Shimoda, M. J. Zervos, M. Bittner, S. L. Camhi, A. P. Panwalker, C. J. Donskey, M.-H. Nguyen, M. Holodniy, and V. L. Yu.** 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* 28:818-824.
141. **Stuart, L. S., and L. F. Ortenzio.** 1964. Swimming pool chlorine stabilizers. *Soap and Chemical Specialties* 40:79-82.
142. **Su, H. P., L. R. Tseng, S. C. Tzeng, C. Y. Chou, and T. C. Chung.** 2006. A legionellosis case due to contaminated spa water and confirmed by genomic identification in Taiwan. *Microbiology and Immunology* 50:371-377.
143. **Sukthana, Y., A. Lekkla, C. Sutthikornchai, P. Wanapongse, A. Vejjajiva, and S. Bovornkitti.** 2005. Spa, springs and safety. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 36 Suppl 4:10-16.
144. **Templeton, K. E., S. A. Scheltinga, P. Sillekens, J. W. Crielaard, A. P. van Dam, H. Goossens, and E. C. J. Claas.** 2003. Development and clinical evaluation of an internally controlled, single-tube multiplex real-time PCR assay for detection of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *Journal of Clinical Microbiology* 41:4016-4021.
145. **Thomas, P., M. Moore, E. Bell, S. Friedman, J. Decker, M. Shayegani, and K. Martin.** 1985. *Pseudomonas dermatitis* associated with a swimming pool. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 253:1156-1159.
146. **United States Environmental Protection Agency (US EPA).** 2002. Method 1603: *Escherichia coli* (*E. coli*) in water by membrane filtration using modified membrane-thermotolerant *Escherichia coli* Agar (Modified mTEC), EPA 821-R-02-023. Washington: D.C., US EPA.
147. **Wellinghausen, N., C. Frost, and R. Marre.** 2001. Detection of legionellae in hospital water samples by quantitative real-time LightCycler PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 67:3985-3993.
148. **World Health Organization (WHO).** 1988. Infections from whirlpool spas. *Weekly Epidemiological Record* 63:290-292.

149. **World Health Organization (WHO).** 2007. *Legionella* and the prevention of legionellosis. Genève, WHO, 252 p.
150. **World Health Organization WHO.** 2006. Guidelines for safe recreational water environments. Vol. 2, *Swimming pools and similar environments*. Genève, WHO, 118 p.
151. **Yanez, M. A., V. M. Barbera, and V. Catalan.** 2007. Validation of a new seminested PCR-based detection method for *Legionella pneumophila*. *Journal of Microbiological Methods* 70:214-217.
152. **Yanez, M. A., C. Carrasco-Serrano, V. M. Barbera, and V. Catalan.** 2005. Quantitative detection of *Legionella pneumophila* in water samples by immunomagnetic purification and real-time PCR amplification of the dotA gene. *Applied and Environmental Microbiology* 71:3433-3441.
153. **Yaradou, D. F., S. Hallier-Soulier, S. Moreau, F. Poty, Y. Hillion, M. Reyrolle, J. André, G. Festoc, K. Delabre, F. Vandenesch, J. Etienne, and S. Jarraud.** 2007. Integrated real-time PCR for detection and monitoring of *Legionella pneumophila* in water systems. *Applied and Environmental Microbiology* 73:1452-1456.
154. **Yoder, J., V. Roberts, G. F. Craun, V. Hill, L. A. Hicks, N. T. Alexander, V. Radke, R. L. Calderon, M. C. Hlavsa, M. J. Beach, and S. L. Roy.** 2008. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking - United States, 2005-2006. *MMWR: Morbidity and Mortality Weekly Report* 57:39-62.
155. **Yoder, J. S., B. G. Blackburn, G. F. Craun, V. Hill, D. A. Levy, N. Chen, S. H. Lee, R. L. Calderon, and M. J. Beach.** 2004. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with recreational water - United States, 2001-2002. *MMWR: Morbidity and Mortality Weekly Report* 53:1-22.
156. **Yoder, J. S., M. C. Hlavsa, G. F. Craun, V. Hill, V. Roberts, P. A. Yu, L. A. Hicks, N. T. Alexander, R. L. Calderon, S. L. Roy, and M. J. Beach.** 2008. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with recreational water use and other aquatic facility-associated health events - United-States, 2005-2006. *MMWR: Morbidity and Mortality Weekly Report* 57:1-38.
157. **Yu, Y., A. S. Cheng, L. Wang, W. M. Dunne, and S. J. Bayliss.** 2007. Hot tub folliculitis or hot hand-foot syndrome caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the American Academy of Dermatology* 57:596-600.



**ANNEXE 1**

**QUESTIONNAIRE DE L'ÉTUDE**





## Bain à remous numéro \_\_\_\_

Code du participant et de l'établissement : \_\_\_\_\_ Date : \_\_\_\_\_

Localisation du bain numéro : \_\_\_\_\_

Description du bain numéro : \_\_\_\_\_

### Questionnaire sur l'exploitation des bains à remous publics et semi-publics

#### *Section 1: Renseignements généraux*

**1. Quelle est la mission de l'établissement où se situe le bain à remous\*?**

- Centre sportif privé
- Établissement touristique où le bain à remous est un service central
- Établissement touristique où le bain à remous est un service secondaire
- Établissement d'enseignement
- Établissement municipal autre que d'enseignement  
(précisez : \_\_\_\_\_)
- Autre  
Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**2. Combien y a-t-il de bains à remous au sein de l'établissement?**

- Plus d'un bain : \_\_\_\_\_ bains à remous
- Un seul bain à remous (allez à la question 4)
- Ne sais pas

**3. Si l'établissement possède plus d'un bain à remous, y a-t-il connexion entre ces bains pour ce qui est du système de circulation d'eau?**

- Oui (**ne prélever qu'un seul bain**)
- Non (**prélever deux bains à remous et répéter le questionnaire pour l'autre bain**)
- Ne sais pas (**ne prélever qu'un seul bain**)

**4. Le bain à remous est-il à l'intérieur ou à l'extérieur de votre établissement?**

- Intérieur
- Extérieur (allez à la question 7)

**5. Existe-t-il un système de ventilation pour la salle qui abrite le bain à remous?**

- Oui
- Non (allez à la question 7)
- Ne sais pas

\* Le terme « bain à remous » est utilisé au singulier afin d'alléger le texte.

**6. Le système de ventilation est-il indépendant (propre à la salle qui abrite le bain à remous)?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

**7. Y a-t-il une piscine dans la même salle que le bain à remous (à proximité si le bain à remous est extérieur)?**

- Oui
- Non (allez à la question 9)

**8. Le système de circulation d'eau de ces deux bassins est-il indépendant?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

**9. Quels sont la marque et le modèle du bain à remous?**

\_\_\_\_\_

Ne sais pas

**10. Quelle est l'année d'acquisition du bain à remous?**

\_\_\_\_\_

Ne sais pas

**11. Y a-t-il eu changement du système de désinfection au cours des deux dernières années?**

- Oui
  - Non
  - Ne sais pas
- Si oui précisez quand :  $\frac{\quad}{\text{Mois}}$  /  $\frac{\quad}{\text{Année}}$

**12. Quelle est la capacité du bain à remous?**

\_\_\_\_\_ litres

Ne sais pas

**13. D'où provient l'eau qui alimente le bain à remous?**

- Réseau municipal (allez à la question 15)
- Réseau privé (allez à la question 15)
- Puits individuel (surface)
- Puits individuel (artésien)
- Ne sais pas
- Autre Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**14. Quel est le type de traitement associé à l’approvisionnement en eau?**

- Filtration
- Ozonateur
- Chloration
- Ultra-violet
- Pas de traitement
- Ne sais pas
- Autre

Vous pouvez cocher plus d’une réponse

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**15. Avez-vous conservé le manuel d’utilisation du fabricant?**

- Oui
- Non (allez à la question 17)
- Ne sais pas (allez à la question 17)
- Ne s’applique pas (allez à la question 17)

**16. Vous êtes-vous référé à ce manuel au cours des trois derniers mois?**

- Oui
- Non

**17. Quel est l’âge de la clientèle du bain à remous (cette clientèle doit former au moins 10% du nombre total de baigneurs)?**

- Enfants de moins de 5 ans
- Jeunes de 5 à 17 ans
- Adultes
- Personnes âgées (plus de 65 ans)
- Clientèle particulière
- Ne sais pas

Vous pouvez cocher plus d’une réponse

Si clientèle particulière, précisez : \_\_\_\_\_

**18. Quel est le sexe de la clientèle?**

- Hommes
- Femmes
- Clientèle mixte
- Ne sais pas

*Section 2 : Gestion de l’utilisation du bain à remous*

**19. Quel est le nombre maximal de personnes que le bain à remous peut contenir selon les normes du fabricant?**

\_\_\_\_\_ personnes

- Ne sais pas (allez à la question 21)

**20. À quelle fréquence y a-t-il eu un dépassement du nombre maximal de personnes au cours de la dernière année?**

- Jamais
- Rarement
- Souvent
- Toujours
- Ne sais pas

**21. En se référant à la dernière année, combien de personnes en moyenne visitent le bain à remous par jour d'ouverture?**

\_\_\_\_\_ personnes

- Ne sais pas

**22. Combien de jours par année le bain à remous est-il ouvert à la clientèle?**

\_\_\_\_\_ jours par année

- Ne sais pas

**23. S'il y a un règlement indiquant un temps maximal de baignade autorisé, quel est ce temps maximal?**

\_\_\_\_\_ minutes \_\_\_\_\_ heures

- Aucun temps maximal de baignade autorisé (allez à la question 25)
- Ne sais pas (allez à la question 25)

**24. Ce règlement est-il appliqué?**

- Oui (Si oui, précisez de quelle façon : \_\_\_\_\_)
- Non
- Ne sais pas

**25. Depuis combien de temps y a-t-il absence de clients dans le bain à remous?**

\_\_\_\_\_ minutes \_\_\_\_\_ heures \_\_\_\_\_ jours \_\_\_\_\_ semaines

- Ne sais pas

**26. Y a-t-il un écriteau qui demande aux utilisateurs de prendre une douche avant d'entrer dans le bain à remous?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

**27. Croyez-vous que la majorité des gens prennent une douche avant d'utiliser le bain à remous?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

### *Section 3 : Personne(s) responsable(s) du bain à remous*

**28. Combien de personnes ont participé à l'entretien et à la désinfection du bain à remous au cours de la dernière année? L'entretien exclut le nettoyage aux alentours du bain.**

\_\_\_\_\_ personnes

Ne sais pas

**29. Qui s'occupe de l'entretien et de la désinfection du bain à remous? L'entretien exclut le nettoyage aux alentours du bain.**

- Les personnes responsables de la sécurité des lieux (sauveteurs)
- Un ou des membres de l'établissement excluant les sauveteurs
- Une personne engagée de l'extérieur (spécialiste)
- Ne sais pas
- Autre

Vous pouvez cocher plus d'une réponse

Si spécialiste, précisez la compagnie : \_\_\_\_\_

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**30. Les responsabilités et tâches de cette ou ces personnes sont-elles documentées par écrit?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

**31. Y a-t-il au moins une des personnes responsables de l'entretien et de la désinfection du bain à remous qui a reçu une formation accréditée?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

Si oui, précisez la durée de la formation et l'organisation qui l'a donnée : \_\_\_\_\_

### *Section 4 : Tenue de registres*

**32. Gardez-vous un registre des mesures faites?**

- Oui
- Non (allez à la question 34)
- Ne sais pas (allez à la question 34)

**33. Pendant combien de temps conservez-vous ce registre?**

\_\_\_\_\_ jours    \_\_\_\_\_ semaines    \_\_\_\_\_ mois    \_\_\_\_\_ années

Ne sais pas

## Section 5 : Désinfection

### 34. La désinfection se fait-elle de façon automatique (continue) ou manuelle (périodique)?

- Automatique (continue)
- Manuelle (périodique) avec appareil de mesure en continu
- Manuelle (périodique)
- Ne sais pas
- Autre

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

### 35. Quel(s) agent(s) utilisez-vous pour la désinfection du bain à remous?

- Produit du chlore
- Brome
- Lithium
- Ozone
- UV
- Agent contre les algues (algicide)
- Ne sais pas
- Autre

Vous pouvez cocher plus d'une réponse

Si autre, spécifiez : \_\_\_\_\_

### 36. Quel est le niveau moyen des désinfectants suivants?

Désinfectant (Cochez si applicable)	Moyenne
<input type="checkbox"/> Chlore résiduel libre (mg/l ou ppm) :	_____ <input type="checkbox"/> Ne sais pas
<input type="checkbox"/> Chlore total (mg/l ou ppm) :	_____ <input type="checkbox"/> Ne sais pas
<input type="checkbox"/> Brome total (mg/l ou ppm) :	_____ <input type="checkbox"/> Ne sais pas

### 37. À quelle fréquence mesurez-vous ou documentez-vous la concentration de désinfectant (chlore ou brome)?

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

- Ne sais pas

**38. Si vous mesurez ou documentez le niveau de désinfectant (chlore ou brome) au moins quotidiennement, à quel(s) moment(s) le faites-vous?**

- À l'ouverture, à la fermeture et aux 3 heures entre ces périodes
  - À l'ouverture, à la fermeture et au milieu de l'ouverture du bain à remous
  - À l'ouverture et à la fermeture du bain à remous
  - Une fois par jour d'ouverture au début de la journée
  - Autre
  - Ne sais pas
- Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**39. À quelle fréquence utilisez-vous un « traitement choc » ou oxydant pour le traitement de l'eau du bain à remous (utilisation d'une très haute concentration de produit de désinfection)?**

- \_\_\_\_\_ fois/jour    \_\_\_\_\_ fois/semaine    \_\_\_\_\_ fois/mois    \_\_\_\_\_ fois/année
- Moins d'une fois par année
  - Jamais (allez à la question 41)
  - Ne sais pas

**40. À quand remonte le dernier « traitement choc » ou utilisation d'un oxydant?**

- \_\_\_\_\_ heures    \_\_\_\_\_ jours    \_\_\_\_\_ semaines    \_\_\_\_\_ mois
- Ne sais pas

**41. Quel est le pH moyen du bain à remous?**

- \_\_\_\_\_
- Ne sais pas

**42. À quelle fréquence mesurez-vous ou documentez-vous le pH?**

- \_\_\_\_\_ fois/jour    \_\_\_\_\_ fois/semaine    \_\_\_\_\_ fois/mois    \_\_\_\_\_ fois/année
- Ne sais pas

**43. Si vous mesurez ou documentez le pH au moins quotidiennement, à quel(s) moment(s) le faites-vous?**

- À l'ouverture, à la fermeture et au milieu de l'ouverture du bain à remous
  - À l'ouverture et à la fermeture du bain à remous
  - Une fois par jour d'ouverture au début de la journée
  - Ne sais pas
  - Autre
- Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

## Section 6 : Entretien général et filtration de l'eau du bain à remous

### 44. Quel est le type de filtre du bain à remous?

- Filtre à sable
- Filtre à diatomées
- Filtre à cartouches (en forme de tube)
- Ne sais pas
- Autre

Vous pouvez cocher plus d'une réponse

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

### 45. À quelle fréquence faites-vous le *backwash* ou lavage à contre courant du filtre du bain à remous?

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

- Moins d'une fois par année
- Ne sais pas
- Ne s'applique pas

### 46. Si vous utilisez un filtre à cartouches, à quelle fréquence nettoyez-vous le filtre avec de l'eau?

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

- Moins d'une fois par année
- Ne sais pas
- Ne s'applique pas

### 47. Si vous utilisez un filtre à cartouches, à quelle fréquence nettoyez-vous le filtre à l'aide d'un détergent?

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

- Moins d'une fois par année
- Ne sais pas
- Ne s'applique pas

### 48. Quels sont le mois et l'année de la dernière pose d'un filtre à cartouches neuf?

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Mois      Année

- Ne sais pas
- Ne s'applique pas

### 49. Utilisez-vous le système d'alternance des filtres à cartouches?

- Non
- Oui                      Si oui, précisez le nombre de filtres : \_\_\_\_\_
- Ne sais pas
- Ne s'applique pas



**50. À quelle fréquence changez-vous complètement l'eau du bain à remous?**

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

Ne sais pas

**51. Quelle est la date du dernier changement complet d'eau?**

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Jour Mois Année

Ne sais pas

**52. À quelle fréquence nettoyez-vous toute la surface en contact avec l'eau du bain à remous à l'aide d'un détergent?**

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

Ne sais pas

**53. Couvrez-vous le bain à remous en dehors des heures d'utilisation?**

- Jamais
- Rarement
- Souvent
- Toujours
- Ne sais pas

**54. Mesurez-vous la turbidité de l'eau du bain à remous?**

- Oui
- Non (allez à la question 56)
- Ne sait pas (allez à la question 56)

**55. À quelle fréquence mesurez-vous la turbidité de l'eau du bain à remous?**

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année

**56. Mesurez-vous l'alcalinité de l'eau du bain à remous?**

- Oui
- Non (allez à la question 58)
- Ne sait pas (allez à la question 58)

**57. À quelle fréquence mesurez-vous l'alcalinité de l'eau du bain à remous?**

\_\_\_\_\_ fois/jour \_\_\_\_\_ fois/semaine \_\_\_\_\_ fois/mois \_\_\_\_\_ fois/année



## Section 8 : Connaissances et formation

**65. Avez-vous déjà consulté le *Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels*, en vigueur depuis le premier janvier 2007?**

- Oui
- Non

**66. Croyez-vous que les bains à remous peuvent représenter un danger pour les baigneurs si leur désinfection ou leur entretien est inadéquat?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

Si oui, nommez ce ou ces dangers potentiels :

---

---

---

**67. Vous a-t-on déjà rapporté que certaines personnes avaient présenté les problèmes de santé suivants suite à la fréquentation d'un bain à remous de votre établissement?**

- |  |                              |                              |                                      |
|--|------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| • Irritation des yeux :                        | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | Ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| • Démangeaisons cutanées ou éruption cutanée : | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | Ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| • Toux :                                       | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | Ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| • Difficulté respiratoire :                    | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | Ne sais pas <input type="checkbox"/> |
| • Autre :                                      | Oui <input type="checkbox"/> | Non <input type="checkbox"/> | Ne sais pas <input type="checkbox"/> |

Si vous avez coché oui pour une des cases précédentes, précisez le problème de santé et sa fréquence :

---

---

---

## Section 9 : Questions à remplir par le chercheur

68. Mesures inscrites dans le registre (vous pouvez cocher plus d'une réponse) :

- Nombre total de baigneurs dans la journée
- Limpidité
- pH
- Chlore total (mg/l Cl<sub>2</sub>)
- Chlore combiné ou chloramines (mg/l Cl<sub>2</sub>)
- Chlore résiduel libre (mg/l Cl<sub>2</sub>)
- Brome total (mg/l Br<sub>2</sub>)
- Dose de désinfectant ajoutée (volume ou poids/jour)
- Température (°C)
- Alcalinité (mg/l CaCO<sub>3</sub>)
- Évènement dangereux (accident fécal, blessure, etc.)
- Mesures microbiologiques

À remplir par le chercheur qui peut cocher plus d'une réponse

Si vous avez coché « Mesures microbiologiques », précisez lesquelles :

---

---

69. Quel est le nom commercial du ou des produits de désinfection utilisés?

---

---

À remplir par le chercheur

70. Nom du ou des agents actifs du ou des produits de désinfection utilisés?

---

---

---

À remplir par le chercheur

71. Quel est le nom du ou des agents actifs du traitement choc (oxydant)?

---

---

---

À remplir par le chercheur

72. Y a-t-il des signes de mauvais entretien après une observation brève des lieux?

- Oui
- Non

Si oui, précisez : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**73. Y a-t-il de la saleté visible sur les parois du bain à remous?**

- Oui
- Non

**74. Y a-t-il un pédiluve (bac servant au lavage des pieds)?**

- Oui
- Non

**75. Y a-t-il des douches à proximité du bain à remous (20 secondes de marche)?**

- Oui
- Non

**76. Y a-t-il des toilettes à proximité du bain à remous (20 secondes de marche)?**

- Oui
- Non

**77. Y a-t-il une table à langer à proximité du bain à remous (20 secondes de marche)?**

- Oui
- Non

**78. Quelles sont les dimensions du bain à remous?**

\_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ cm  
Longueur            Largeur            Profondeur

- Ne sais pas

**79. Quel est le type de filtre du bain à remous?**

- Filtre à sable
- Filtre à diatomées
- Filtre à cartouches
- Autre



Plus d'une réponse possible

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**80. Si le filtre est à cartouches, y a-t-il des anomalies au niveau du filtre?**

- Oui
- Non

Si oui, précisez : \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Section 10 : Questions ajoutées à partir du 27<sup>e</sup> bain à remous*

**81. Quel est le type d'eau servant au remplissage partiel du bain à remous?**

- Eau froide
- Eau chaude
- Eau de piscine
- Ne sais pas
- Autre

Plus d'une réponse possible

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**82. Quel est le type d'eau servant au remplissage complet du bain à remous?**

- Eau froide
- Eau chaude
- Eau de piscine
- Ne sais pas
- Autre

Plus d'une réponse possible

Si autre, précisez : \_\_\_\_\_

**83. À quelle fréquence utilisez-vous un produit pour le nettoyage de la tuyauterie du bain à remous?**

\_\_\_\_\_ fois/semaine    \_\_\_\_\_ fois/mois    \_\_\_\_\_ fois/année

- Moins d'une fois par année
- Jamais
- Ne sais pas

**84. En se référant à la période suivant le dernier changement complet d'eau, combien de personnes en moyenne visitent le bain à remous par jour d'ouverture?**

\_\_\_\_\_ personnes

- Ne sais pas

**85. En se référant au mois le plus achalandé de l'année, combien de personnes en moyenne visitent le bain à remous par jour d'ouverture?**

\_\_\_\_\_ personnes

- Ne sais pas

Préciser le mois le plus achalandé : \_\_\_\_\_

**\*\* Prendre des photos des différents produits utilisés et du filtre \*\***



Résultats envoyés :

**Bain à remous numéro \_\_\_\_\_**

Code du participant : \_\_\_\_\_ Date : \_\_\_\_\_

Localisation du bain à remous : \_\_\_\_\_

Description du bain numéro : \_\_\_\_\_

Analyses et mesures sur le lieu de prélèvement

Paramètres physico-chimiques	Valeur	Référence	Languette
pH (unités pH) :		7,2 à 7,8	
Température (°C) :		≤ 40°C	
ORP (mV) :	°C	> 700 mV	
Alcalinité (mg/l CaCO <sub>3</sub> ) :		60 à 150 mg/l	
Turbidité (UTN) :		Moins de 1 UTN	
Brome total (mg/l Br <sub>2</sub> ) :		3,0 à 5,0 mg/l	
Chlore total (mg/l Cl <sub>2</sub> ) :			
Chlore résiduel libre (mg/l Cl <sub>2</sub> ) :		2,0 à 3,0 mg/l	
Chlore total moins chlore libre (chloramines) :		Moins de 1 mg/l	
Pression si filtre à sable (préciser unités) :			
Acide cyanurique (mg/l) :			

**Autres remarques du chercheur :**

---

---

---

---

---

\_\_\_\_\_  
Signature du chercheur

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Heure







