

SYNTHESE / EXTENDED ABSTRACT
FRANÇAIS / ENGLISH

**MICROORGANISMES PATHOGENES DANS LES FILIERES
DE TRAITEMENT DES DECHETS :
CAS DES LEGIONELLES**

**PATHOGENIC MICROORGANISMS IN WASTE PROCESSING :
LEGIONELLA CASE**

juillet 2007

T. CHESNOT, A.-M. CHARISSOU, M.-J. JOURDAIN
- IPL santé environnement durables Est



Crée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles. Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

En Bibliographie, le document dont est issue cette synthèse sera cité sous la référence :

RECORD, Microorganismes pathogènes dans les filières de traitement des déchets : cas des légionelles, 2007, 75 p, n°05-0664/1A

RESUME

La légionellose est un problème de santé publique. Les principales sources de légionelles sont connues : il s'agit des réseaux d'eau chaude sanitaire, des tours aéroréfrigérantes et des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux. Cependant, en dehors de ces matrices classiquement répertoriées, d'autres voies d'exposition sont maintenant suspectées. En effet les légionelles, bactéries ubiquitaires, pourraient trouver des conditions favorables à leur survie et peut-être à leur multiplication, dans des matrices jusqu'à présent ignorées. Dans la mesure où les déchets constituent des matrices organiques propices à une importante colonisation bactérienne, la possibilité d'un développement de populations de *Legionella spp* peut être suspectée. De plus les filières de traitement des déchets entraînent classiquement de nombreux aérosols, aussi la question de l'exposition des personnels et des populations riveraines des centres de déchets se pose légitimement.

Le présent rapport aborde la problématique de la présence des *Legionella* dans les filières déchets. Dans une première étape sont présentées les principales caractéristiques physiologiques et écologiques des légionelles. Ces données sont complétées par les informations relatives à l'épisode de cas groupés de légionellose de Harnes (manifestement imputable à un site industriel). Les éléments marquants de cette épidémie ont été mis en avant. Une étude des différentes filières déchets est ensuite exposée, elle a pour but d'identifier les filières et les déchets les plus à risque. Le danger qu'une filière puisse constituer un vecteur d'infection à *Legionella* (légionellose ou fièvre de Pontiac) est discuté suivant la probabilité de rencontrer simultanément au sein de cette filière les conditions favorables à la constitution d'un réservoir et à la production de bioaérosols infectieux à partir de ce réservoir. L'objet de ces réflexions a été à l'origine d'une étude de cas réalisée en début d'année 2007 dans un centre de compostage. Les hypothèses que les boues urbaines entrantes pouvaient abriter des *Legionella* et que des *Legionella* pouvaient également être mise en évidence au terme du processus de compostage ont été vérifiées.

L'étude met en évidence la possibilité que certains déchets, comme les boues de stations d'épuration, peuvent abriter des *Legionella* avant leur arrivée dans les filières de traitement. Elle met également en évidence qu'en dehors des phases de réception, de transfert ou de pré-traitement des déchets initialement contaminés, les filières de traitement « non biologiques » ne présentent pas d'étapes favorables au maintien d'un réservoir de *Legionella* sur le site. Concernant les traitements incluant des voies biologiques c'est à dire les plates-formes de compostage et la majorité des stations d'épuration, il semble que les *Legionella* puissent être retrouvées dans des étapes plus en aval des filières. Ainsi, la présence de légionelles dans des bassins à boues activées, dans des lagunes, dans des effluents de stations d'épuration montre la possibilité pour la bactérie de s'installer au moins transitoirement à différents stades de traitement. De même, la présence de *Legionella* dans des composts en phase de maturation laisse également supposer que la bactérie pourrait persister dans certains procédés de compostage.

L'existence de réservoirs de *Legionella* parmi les installations de traitement des déchets doit donc être envisagée notamment s'il s'agit de filière accueillant des boues de stations d'épuration. Pour autant les niveaux de contamination et la proportion de sites concernés restent à évaluer. Si la présence au moins ponctuelle de *Legionella* dans des bioaérosols issus de STEP ou de lagunes semble avérée, faute de données cette information n'est pas accessible pour les autres filières de déchets.

MOTS CLES

Legionella, légionellose, bioaérosols, déchets, stations d'épuration, compostage.

INTRODUCTION

Les filières de traitement de déchets fournissent une réponse adaptée aux traitements efficaces de volumes importants ; tout en permettant de contrôler l'élimination de produits potentiellement dommageables pour les ressources naturelles et l'environnement, certaines permettent même à terme de fournir des produits valorisables. Les filières de traitement répondent donc à la fois à une problématique de dépollution et à une problématique économique (recyclage des matières premières, récupération des matériaux)

Indispensables, les filières de traitement posent cependant le problème de leur impact sur l'environnement immédiat. Ainsi, la question des effets des déchets sur la santé de l'homme et son environnement est souvent posée. Quel est le risque sanitaire encouru par les employés de ces filières, les riverains des centres de traitement ? Des dispositions réglementaires récentes insistent notamment sur la nécessité d'informer le public sur les effets pour l'environnement et la santé publique des opérations de production et d'élimination des déchets. Le sujet est vaste et peut-être envisagé sous différents aspects : chimiques, microbiologiques (virus, bactéries, parasites, champignons microscopiques, ...). Il semble difficile d'apporter une réponse générale tant les filières, et donc leurs conséquences, peuvent être différentes. Cependant, la complexité et la sensibilité du sujet ne doivent pas nuire à l'évaluation des dangers.

Bactérie ubiquiste à tropisme hydrique, *Legionella* est une bactérie essentiellement aquatique retrouvée dans les environnements naturels. La légionellose est un problème de santé publique. Les principales sources de légionelles sont connues : il s'agit des réseaux d'eau chaude sanitaire, des tours aéroréfrigérantes et des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux. Cependant, en dehors de ces matrices classiquement répertoriées, d'autres voies d'exposition sont maintenant suspectées. En effet les légionelles, bactéries ubiquitaires, pourraient trouver des conditions favorables à leur survie et peut-être à leur multiplication, dans des matrices jusqu'à présent ignorées. Dans la mesure où les déchets constituent des matrices organiques propices à une importante colonisation bactérienne, la possibilité d'un développement de populations de *Legionella* peut être suspectée. De plus les filières de traitement des déchets entraînent classiquement de nombreux aérosols, aussi la question de l'exposition des personnels et des populations riveraines des centres de déchets se pose légitimement.

La présente étude a pour objectif d'engager une réflexion permettant de préciser les dangers liés à la présence et/ou à la multiplication de *Legionella* dans les déchets. L'objectif est de permettre une meilleure gestion des opérations de stockage et d'élimination des déchets : une gestion améliorée permettrait une meilleure préservation de l'environnement et favoriserait la préservation de la santé des travailleurs et des riverains. Les caractéristiques des légionelles sont exposées et les données bibliographiques sont complétées à partir des informations collectées sur l'épidémie de légionellose intervenue à Harnes (France) : les principales informations concernant cette épidémie (attribuable à un site industriel) sont présentées. Les principaux procédés de traitement des centres de traitement des déchets sont également décrits. La capacité à entraîner une infection à légionelle est discutée à partir de la probabilité que le procédé de traitement réunisse à la fois les conditions nécessaires à la présence d'un réservoir de légionelles et à la dispersion d'aérosols infectieux à partir de ce réservoir. Finalement suite à l'analyse des données bibliographiques, une étude de cas a été réalisée dans un centre de compostage. Les hypothèses selon lesquelles les boues entrantes pourraient contenir des légionelles et que les légionelles pourraient persister au terme des procédés de compostage ont été étudiées.

INFECTIONS A LEGIONELLES : quelles conditions sont nécessaires ?

L'identification des légionelles comme un nouveau genre bactérien fait suite à une épidémie de légionellose survenue aux Etats-Unis en 1976. *Legionella pneumophila*, une nouvelle bactérie pathogène, a été identifiée par J. Mc DADE en janvier 1977. Depuis, le terme de légionellose est utilisé pour décrire les infections pulmonaires sévères dues au *Legionella*. Du fait du fort pouvoir pathogène de la bactérie de nombreux travaux de recherche ont été menés afin de mieux caractériser la bactérie et le risque sanitaire associé. Actuellement la bactérie *Legionella* est bien caractérisée cependant la légionellose demeure un problème de santé publique.

Les *Legionella* appartiennent aux gamma-proteobactéries, ordre des *Legionellales* contenant lui-même deux familles, celle des *Coxiellaceae* et celle des *Legionellaceae*. La famille des *Legionellaceae*

abrite le genre des *Legionella* qui se subdivise en 48 espèces dont certaines se déclinent en sérogroupes parfois nombreux (15 sérogroupes chez *Legionella pneumophila*) ; on compte actuellement 70 sérogroupes répartis sur 48 espèces.

Legionella pneumophila apparaît comme l'espèce la plus virulente, mais *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii* sont régulièrement impliquées dans des cas de légionellose. *L. longbeachae* est également décrite comme une cause majeure en Australie. Si quelques espèces regroupent l'énorme majorité des cas de légionellose, un peu moins de la moitié des 48 espèces recensées a déjà été associée à la pathologie. Les infections à *Legionella* sont responsables soit de légionellose, soit de fièvre de Pontiac. La légionellose ou maladie du légionnaire est une pneumopathie sévère ; en 2004, en France, de 5 à 15 % des pneumonies communautaires nécessitant une hospitalisation ont été provoquées par *Legionella* et le taux de mortalité associé était de 14 %. La fièvre de Pontiac est une maladie moins grave (syndrome pseudo-grippal), qui évolue favorablement de manière spontanée.

Du fait que seules quelques données obtenues sur des modèles animaux sont disponibles, la dose minimale infectieuse pour l'homme n'est pas connue et aucun seuil d'exposition ne peut être avancé. L'étude de la dose infectieuse et le développement de modèles de type dose-réponse sont difficiles car la sensibilité à l'infection peut fortement varier en fonction des personnes. De plus, la pathogénécité des *Legionella* est fonction de l'espèce mais aussi du séro groupe concernés. Par exemple en France en 1999, 99% des légionelloses ont été provoquées par *Legionella pneumophila* et 89 % par le séro groupe 1.

SURVIE ET CROISSANCE DES LEGIONELLA

Legionella est une bactérie ubiquiste retrouvée dans les milieux aquatiques de l'environnement. Elle pourrait également être présente dans des environnements humides comme des boues, des sédiments ou des composts. A partir de leur réservoir naturel, les légionelles peuvent contaminer des sites industriels et proliférer.

Le taux d'oxygène dissous, la salinité, le pH, la température et l'accès aux nutriments sont des paramètres essentiels qui contrôlent le développement des légionelles. Ainsi, des concentrations en oxygène dissous inférieures à 2,2 mg/l pourraient être limitantes pour la croissance. L'association de la salinité et de la température intervient sur la survie tandis que des pH compris entre 5,5 et 8,5 sont tolérés par la bactérie. Les températures compatibles avec le développement des légionelles sont comprises entre 25°C et 45°C (35°C serait optimale), mais dans l'environnement naturel, des légionelles ont été retrouvées dans des eaux dont les températures étaient comprises entre 5,7 et 63°C.

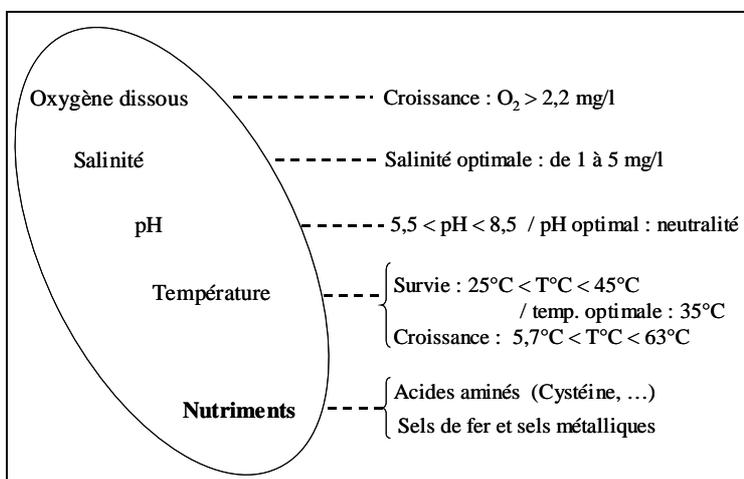


Figure 1 : Les principaux paramètres impliqués dans la croissance des *Legionella*.

En dehors des paramètres physico-chimiques de l'environnement, l'accès aux nutriments est un paramètre essentiel pour le développement. Les légionelles ne peuvent utiliser les sucres (hydrates de carbone) et nécessitent des nutriments spécifiques (acides aminés) comme source de carbone : la L-cystéine constitue l'acide aminé le plus important. De faibles concentrations en métaux sont favorables à leur multiplication mais une inhibition est observée dès lors que les concentrations s'élèvent.

Les nutriments nécessaires aux légionelles sont fournis par les conditions environnementales ou par l'activité métabolique de la flore microbienne associée. Les légionelles sont capables d'établir des relations variées avec de nombreux autres microorganismes telles que les Cyanobactéries (*Fischerella*), les algues vertes (*Scenedesmus spp*, *Chlorella*, *Gleocystis*). Des amibes (*Acanthamoeba spp*, *Naegleria spp*, *Hartmannella spp*) et certains protozoaires (*Tetrahymena spp*, *Cyclidium spp*) pourraient permettre une multiplication intense des légionelles (phénomène de parasitisme).

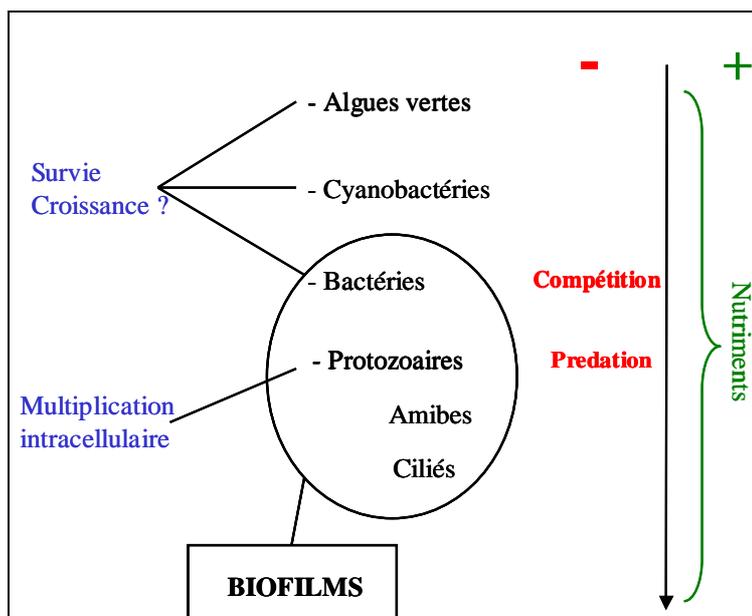


Figure 2 : Relation entre *Legionella* et flore microbienne associée.

La présence d'autres bactéries telles que *Acinetobacter spp*, *Alcaligenes spp*, *Flavobacterium spp* pourrait favoriser la croissance des légionelles. Cependant d'autres bactéries telles que *Aeromonas spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *staphylococcus pneumoniae* pourraient inhiber leur développement. Les légionelles semblent donc capables d'utiliser les nutriments produits par la flore microbiologique présente mais les interactions au sein des biofilms sont complexes de sorte qu'il est difficile de déterminer l'influence précise des différents genres bactériens sur la croissance des légionelles.

Aucune contamination inter-humaine n'a jamais été décrite et aucun réservoir animal n'est actuellement répertorié : l'inhalation d'aérosols infectieux issus de réservoirs colonisés par la bactérie constitue l'unique voie de contamination. Une légionellose ne peut être contractée que dans la mesure où la taille des aérosols contaminés est inférieure à 5 µm. Aussi, en ce qui concerne les risques de légionellose la taille des aérosols est aussi importante que la concentration en légionelles dans l'air ambiant. Globalement l'air est un environnement défavorable et la survie des bactéries aérosolisées. Cette survie est associée au niveau d'humidité de l'air ambiant, à la température de l'air, à la présence d'oxygène, d'ozone, d'« open air factors » et à l'intensité des radiations (exposition solaire par exemple). Quelques études montrent par ailleurs que plus la virulence initiale des légionelles est importante et plus leur survie une fois aérosolisées sera également importante.

Une analyse des conditions écologiques et environnementales favorables au développement des *Legionella* permet d'identifier les filières les plus à risques. Ainsi une filière devrait être considérée si :

- ✓ un réservoir hydrique ou un réseau d'eau chaude susceptible de contenir des nutriments et une abondante flore microbienne existe.
- ✓ des zones d'eau stagnante ou bien des biofilms sont présents.
- ✓ des aérosols de diamètre inférieur à 5 µm sont émis soit par projection, par pulvérisation ou par bouillonnement.

Deux risques majeurs sont décrits dans cette définition : le premier étant qu'un réservoir de légionelles doit être présent pendant au moins une des étapes de la filière de traitement ; le second étant que des aérosols infectieux soient dispersés à partir de ce réservoir. **L'absence de réservoir implique l'absence d'aérosols infectieux et donc l'absence de risque légionelle.**

Selon les données bibliographiques, ces deux risques peuvent être divisés en différents points :

Dans un ordre croissant, la probabilité qu'un réservoir soit présent est lié à :

- ✓ l'humidité de la matrice concernée. Plus l'environnement sera humide, plus il sera favorable à la survie et au développement des *Legionella*.

- ✓ aux conditions de pH et de température.
- ✓ à la présence de nombreux microorganismes de nature variée (algues, protozoaires comme les amibes) lesquels sont nécessaires à l'établissement des relations de commensalisme et de parasitisme mais lesquels permettent également l'accès aux nutriments.
- ✓ à la présence d'un biofilm ou d'un environnement similaire favorable à la diversité de la flore microbienne.

Dans un ordre croissant, la probabilité d'aérosolisation de légionelles infectieuses à partir d'un réservoir est liée :

- ✓ à l'exposition des aérosols à l'oxygène, aux « open air factors » et aux radiations telles que les UV.
- ✓ à la vitesse de dessiccation des aérosols (niveau d'humidité de l'air ambiant, nature de la matrice à partir de laquelle les aérosols sont diffusés, température de l'air)
- ✓ à la taille des aérosols (supérieure ou inférieure à 5 µm)

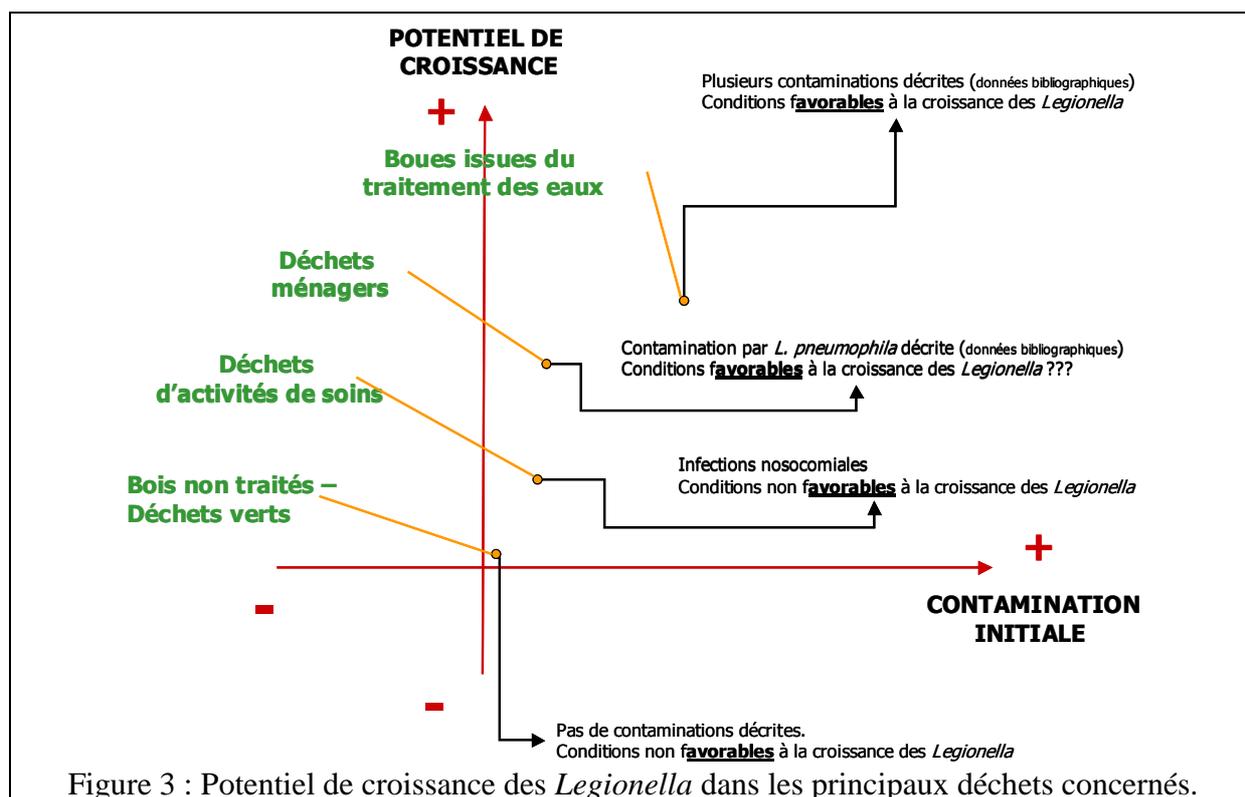
LES DECHETS POURRAIENT-ILS CONTENIR DES LEGIONELLA ?

Concernant les déchets hospitaliers, le broyage réalisé avant les étapes de décontamination pourrait constituer l'étape la plus à risque, cependant ce type de déchets ne semble pas être un réservoir important.

Concernant les déchets ménagers, une étude bibliographique indique que des *Legionella* pourraient être présentes dans les déchets frais. Le niveau de contamination et le potentiel de croissance des *Legionella* n'a cependant pas encore été complètement évalué.

Concernant les bois non traités et les déchets verts, la présence des *Legionella* n'a pas été recherchée mais le niveau initial de contamination devrait être faible, par ailleurs les conditions favorables à la croissance des légionelles ne sont pas réunies dans ces matrices.

Concernant les boues issues du traitement des eaux usées quelques données bibliographiques révèlent que cette matrice pourrait abriter des *Legionella*. D'importantes concentrations pourraient être présentes dans les boues fraîches cependant les données sont peu nombreuses. De plus, le potentiel de survie des *Legionella* au cours du traitement des boues (déshydratation, évolution des paramètres physico-chimiques, traitement d'hygiénisation, ...) n'a pas été étudié.



En première analyse, les boues constituent le déchet présentant le plus de risques. Dans l'hypothèse que des boues liquides ou humides contiendraient des légionelles en fortes concentrations, les procédés ou les étapes des filières à surveiller sont :

- ✓ les bassins aérés des stations d'épuration ou des lagunes.
- ✓ les opérations d'amendement par épandage de boues ainsi que les opérations de pompage ou de déchargement des boues.
- ✓ les zones de stockage des boues avant traitement.
- ✓ les étapes de pré-traitement (mélange avec d'autres déchets ou broyage).

QUELLES SONT LES ETAPES DE TRAITEMENT AVEC UN RISQUE LEGIONELLE ELEVE ?

En premier lieu, une séparation entre les procédés biologiques, comme le compostage ou les stations d'épuration, et les autres procédés semble se justifier.

Concernant l'**incinération, la co-incinération, la pyrolyse et l'oxydation hydrothermale**, il semble que les étapes de traitement ne soient pas critiques, cependant les installations périphériques des centres de traitement devraient être considérées car :

- ✓ les zones de stockages des déchets pourraient constituer des réservoir potentiels.
- ✓ la proximité entre des matières organiques renfermant potentiellement des *Legionella* et des environnements hydriques contenant des eaux réchauffées (circuit de refroidissement ou de traitement des fumées) pourraient permettre des transferts de contamination.
- ✓ les étapes de transfert et de pré-traitement des déchets (découpage et broyage) pourraient entraîner la dispersion d'aérosols infectieux.
- ✓ le traitement de boues sur un centre de traitement pourrait accroître le risque de constituer des réservoirs de *Legionella* et par conséquent pourrait augmenter les risques de dissémination d'aérosols infectieux.

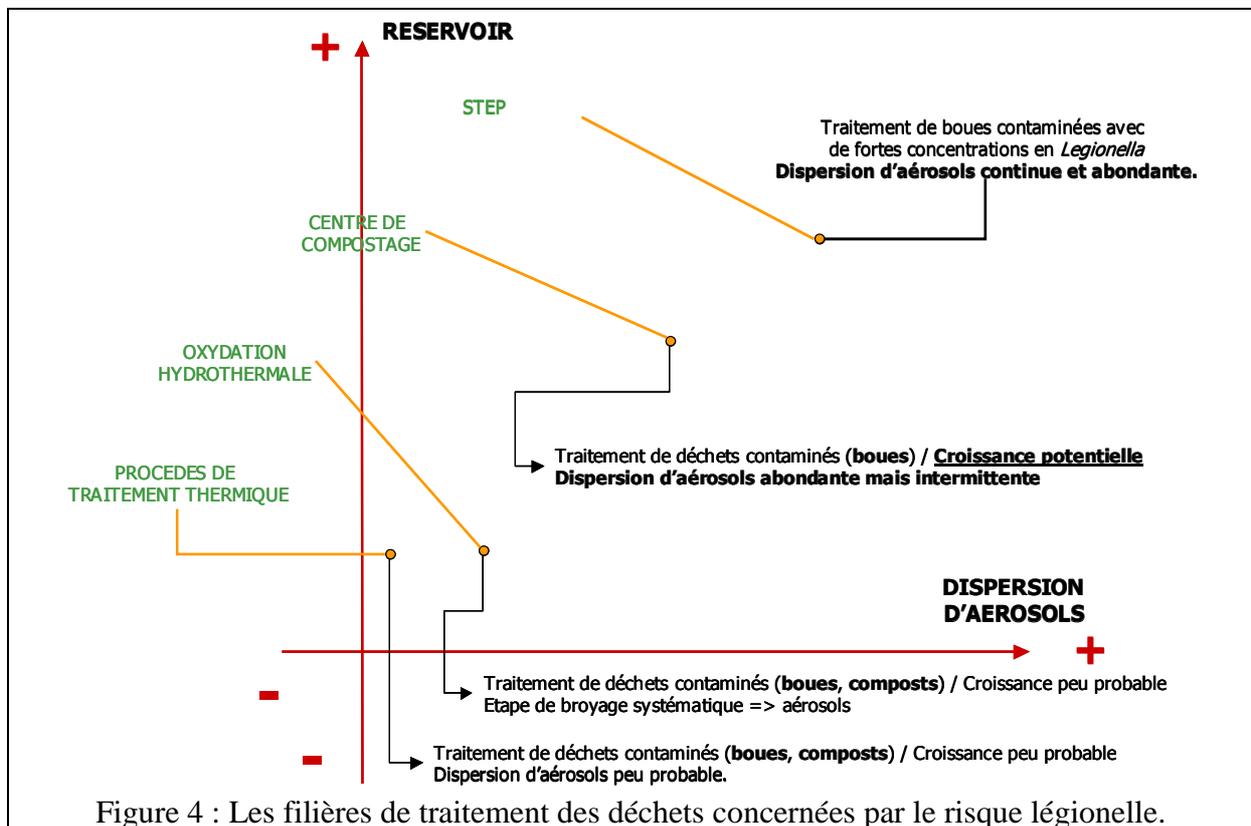
Plus spécifiquement, les fosses de stockage des incinérateurs pourraient constituer un bon modèle des zones de stockage des déchets. Ainsi, les données relatives à ces fosses montrent que le temps de séjour, le niveau d'humidité, et la flore microbiologique présente pourraient être compatibles avec le développement des légionelles.

Les stations d'épuration utilisent des procédés spécifiques puisque l'ensemble des étapes de traitement des déchets se déroulent en phase liquide. De plus, elles emploient des procédés qui impliquent de fortes concentrations en microorganismes. Il doit être retenu que :

- ✓ les *Legionella* ont déjà été détectées à plusieurs reprises dans les effluents des stations d'épuration. Les bassins et les canalisations constitueraient les principaux réservoirs.
- ✓ le fonctionnement des stations d'épuration provoque la dispersion de grandes quantités d'aérosols.
- ✓ des légionelles ont déjà été mises en évidence dans des aérosols collectés à proximité des bassins aérés de station d'épuration.

Comme les stations d'épuration, les centres de compostage représentent une filière de traitement spécifique puisque seules des étapes biologiques sont utilisées. Au cours du compostage les déchets pourraient être source de *Legionella* car :

- ✓ pendant la première phase de fermentation thermophile, les températures élevées pourraient être favorables à la survie des *Legionella*. Cependant l'impact des inhibiteurs produits par la flore microbologique du compost n'a pas été évalué de sorte que le potentiel de multiplication des *Legionella* dans ce contexte n'est pas connu.
- ✓ pendant la phase de fermentation mésophile et pendant celle de maturation les microorganismes prédominants pourraient être favorables au maintien des *Legionella* (protozoaires et en particulier les amibes qui sont susceptibles d'héberger des légionelles).
- ✓ pendant le compostage, le niveau d'humidité entretenue est également en accord avec la survie des *Legionella*
- ✓ le pH de la biomasse est également favorable aux *Legionella*.
- ✓ tout au long du procédé de compostage de grandes quantités d'aérosols sont susceptibles d'être émises. De plus les données bibliographiques indiquent que la majorité de ces aérosols (50 à 90 %) est incluse dans la fraction alvéolaire. Par ailleurs, la dispersion de ces aérosols peut intervenir dans une atmosphère humide et après de longues périodes de fermentation (retournement des andains). Clairement la principale voie d'exposition est l'inhalation.



CONCLUSIONS

Selon les spécificités des différents procédés de traitement, le niveau du risque légionelle peut varier. Certains déchets comme les déchets ménagers et les boues pourraient contenir des *Legionella*. Au cours de la mise en œuvre du traitement des déchets contaminés, les étapes de stockage, de transfert, de broyage pourraient être critiques.

Concernant la phase de stockage, les observations concernant les fosses des incinérateurs peuvent être extrapolées, aussi les déchets ménagers et les boues (mêlés ou non) pourraient être des réservoirs de légionelles. En l'absence de dispersion d'aérosols le risque encouru est faible. Cependant des aérosols peuvent être émis par exemple lorsque les déchets sont transférés depuis l'aire de stockage vers la zone de valorisation. De même, un pré-traitement par broyage, source de nombreux aérosols, est souvent pratiqué.

L'étape de valorisation en elle-même est moins exposée sauf lorsque des procédés biologiques interviennent. En effet, les conditions physico-chimiques, la durée et le principe des traitements biologiques semblent favorables à la survie et à la croissance des *Legionella*. La présence simultanée de matière organique et de fortes quantités de micro-organismes, parfois la présence de chaleur (cas du compostage), pourraient favoriser la présence de *Legionella*. De plus pour certaines filières, comme les stations d'épuration, les lagunes et les centres de compostage, les données empiriques attestent de la dispersion de nombreux aérosols.

Les centres de traitement des déchets apparaissent exposés au risque légionelle cependant aucun cas groupés de légionellose attribuable à ces centres n'a été décrit : les stations d'épuration et les centres de compostage n'ont jamais été impliqués dans des épidémies de légionellose. La présence de légionelles dans les déchets entrants n'est pas évaluée. De même, les concentrations de légionelles aux différentes étapes de traitement des filières ne sont pas étudiées. Actuellement, les données bibliographiques fournissent des estimations de concentration en légionelles dans les boues des stations de traitement, plusieurs études ont notamment été conduites sur les bassins de boues activées et la filière du traitement des eaux usées est certainement l'une des mieux évaluées. Les capacités de survie et de multiplication des légionelles dans chacune des filières sont difficiles à déterminer car les conditions physico-chimiques ne sont pas connues. Du fait du manque d'information, l'analyse des données bibliographiques peut uniquement justifier de présomptions de contamination par *Legionella*. Seules des études de cas réalisées sur des centres représentatifs permettraient d'évaluer la contamination par les légionelles au sein des filières de traitement. Les données obtenues pendant notre étude de cas ainsi que les informations recueillies au sujet de l'épidémie de légionellose de Harnes (en France), apportent ainsi des informations supplémentaires. Il est alors possible de constater que les données bibliographiques et les études de cas sont concordantes : les *Legionella* peuvent être retrouvées dans les boues issues du traitement des eaux, dans les lagunes, dans les composts. De plus, des bioaérosols infectieux pourraient être aéroportés sur plusieurs kilomètres.

SUMMARY

Legionellosis is a public health problem. The main roots of legionellosis are known : warm water supply network (showerheads, spas), cooling towers, mineral waters used by hydrophatic establishments. *Legionella* are ubiquitous and other matrices could provide convenient conditions for survival or growing of this bacteria. So gradually others ways for exposure are suspected. The waste contains many organic matter and are easily colonized by the bacteria, moreover waste processing involves many aerosols. Might waste involve a *Legionella* risk ? About microbiological hazards related to the waste treatment, legionellosis seems to be a legitimate subject to study.

This report deal with *Legionella* risk related to occurrence or growing of this bacteria through waste processing. The *Legionella* characteristics were exposed and bibliographic data were supplemented from informations related to legionellosis outbreak occurred in the city of Harnes (in France) : central informations concerning this outbreak (ascribable to an industrial site) were given. The main processes used by the waste treatment plants were described. The capability to cause *Legionella* infections was discussed from the probability of the process to combine, both *Legionella* reservoir and spreading of infectious aerosols starting from this reservoir. Finally, analysis of the bibliographic data involved a case study realized in a composting center. The assumption upon which the input sludges might contain *Legionella* and the hypothesis upon which *Legionella* might persist at the end of the composting process were investigated.

This study showed that *Legionella* was present in some wastes like sewage sludges delivered in treatment plants. About treatment processes without biological steps, only discharge step, transfer step or pre-treatment operations realized on initially contaminated waste might present a *Legionella* risk : these processes are not favorable for occurrence of *Legionella* reservoirs through waste treatment. About processes including biological steps, like composting centers and majority of the wastewater treatment plants, it seems that *Legionella* could be present through processing. So, *Legionella* occurrence in aerated tanks, in lagoons or in effluents of the wastewater treatment plants show that *Legionella* can be present transitorily during processing. In the same way, the detection of *Legionella* in compost during latter maturing period, suggests that *Legionella* could persist at the end of this biological treatment.

Legionella reservoirs might exist in the waste of the treatment centers especially when sewage sludges are processed but the level of contamination and part of the concerned plants should be evaluated. If occasional presence of *Legionella* in the wastewater treatment plants or in the lagoons is proved, because of the lack of data, this information is not available for the others waste treatment processes.

KEY WORDS

Legionella, legionellosis, bioaerosols, wastes, wastewater treatment plants, composting centers.

INTRODUCTION

The waste treatment plants constitute an effective solution to manage high amount of residues : the products detrimental for the environment are discarded while the products which may undergo beneficiation can be obtained. Waste management make it possible to limit the environmental pollution and allow an economic valorization (waste recycling and recovery of the raw materials).

The waste treatment plants are indispensable but an harmful impact on their close environment might exist. So what is the impact of the waste treatment on human health ? What is the exposures of the operators and the populations in the vicinity of waste treatment centers ? Recent regulations insist on the need to inform public about the potential impacts of the waste treatment on the public health or on the environmental impacts. Many aspects are concerned by this extended subject : chemical, microbiological (viruses, bacteria, parasites, microscopic yeasts, ...). However, complexity of the subject should not obstruct the evaluation of the risks. In this context it could be useful to index the various risks related to the waste treatment plants.

Legionella are commonly found in freshwater environments worldwide and legionellosis is a public health problem. The main roots of legionellosis are known : warm water supply network (showerheads, spas), cooling towers, mineral waters used by hydropathic establishments. *Legionella* are ubiquitous and other matrices might provide convenient conditions for survival or growing of this bacteria. So gradually others ways for exposure are suspected. The waste contains large quantities of organic matter and are easily colonized by the bacteria, moreover waste processing involves spreading of many aerosols. Might wastes involve a *Legionella* risk ? About microbiological hazards related to the waste treatment, legionellosis seems to be a legitimate subject to study.

This report deal with *Legionella* occurrence through waste processing. The aim is to help with a better management of waste storage or waste treatment : a better management would improve environmental preservation and would improve workers and residents health. The *Legionella* characteristics were exposed and bibliographic data were supplemented from informations related to legionellosis outbreak occurred in the city of Harnes (in France) : central informations concerning this outbreak (ascribable to an industrial site) were given. The main processes used by the waste treatment plants were described. The capability to cause *Legionella* infection was discussed from the probability of the process to combine, both *Legionella* reservoir and spreading of infectious aerosols starting from this reservoir. Finally, analysis of the bibliographic data involved a case study realized in a composting center. The assumption upon which the input sludges might contain *Legionella* and the hypothesis upon which *Legionella* might persist at the end of the composting process were investigated.

LEGIONELLA INFECTIONS : what conditions are needed ?

Identification of *Legionella* like a new bacterial genus comes from legionellosis outbreak occurred in 1976 in the United States. *Legionella pneumophila*, a new pathogenic bacteria, was identified by J. Mc DADE in January 1977. So, legionellosis was used to describe severe pulmonary infections caused by *Legionella*. Because pathogenicity of *Legionella* can be high, many research activities were performed to improve knowledge about this bacteria and to control sanitary risk associated with it. Nowadays, *Legionella* is a well-characterized bacteria but legionellosis remains a public health problem.

Legionella is a Gamma-proteo Bacteria included in *Legionellales* order, *Legionellaceae* family and *Legionella* genus with many species (48 at less). Some species present serogroups which can be numerous (*Legionella pneumophila* counts 15 serogroups), so 70 serogroups are identified among *Legionella* species.

Legionella pneumophila is the most virulent specie but *Legionella micdadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumoffi* are regularly identified as legionellosis agents. In Australia, *Legionella longbeachae* is described as a major legionellosis cause. Few *Legionella* species involve the majority of legionellosis but about the half of *Legionella species* could cause human infections. *Legionella* infections can involve legionellosis or Pontiac fever. Legionellosis (Legionnaire's disease) is a severe pneumopathy. In 2004, in France, 5 to 15% of community-acquired pneumonia needing hospitalization were caused by *Legionella* infection and related lethality was about 14%. Pontiac fever is a milder disease than legionellosis : it's a self-limited disease with favorable evolution.

Because only few data obtained from animal models are available, minimal human infective dose is not known and no exposure threshold level could be given. Studying dose response, and developing dose response models are difficult because the population could present great variations in susceptibility to *Legionella* infection. Pathogenicity of *Legionella* is related to both specie and serogroup. For example, in 2003, in France, 99% of legionellosis was involved by *Legionella pneumophila* and 89% was caused by serogroup 1.

LEGIONELLA SURVIVAL AND LEGIONELLA GROWING.

Legionella is an ubiquitous bacteria found in natural aquatic environments. *Legionella* might also be present in humid environments like sludges, sediments and composts. From the natural reservoir, *Legionella* can contaminate the human-made environments and important developments can occur.

The Level of dissolved oxygen, salinity, pH, temperature and nutrients access are essential parameters involved for *Legionella* growing. So concentration of dissolved oxygen lower than 2.2 mg/l would be limiting for *Legionella* growing. The association of salinity and temperature influence *Legionella* survival and pH range between 5.5 and 8.5 are tolerated. Temperature range between 25°C and 45°C are convenient for *Legionella* growing (35°C is optimal temperature) but in the environmental ecosystem *Legionella* was recovered in natural waters which temperature was ranged between 5.7 and 63°C.

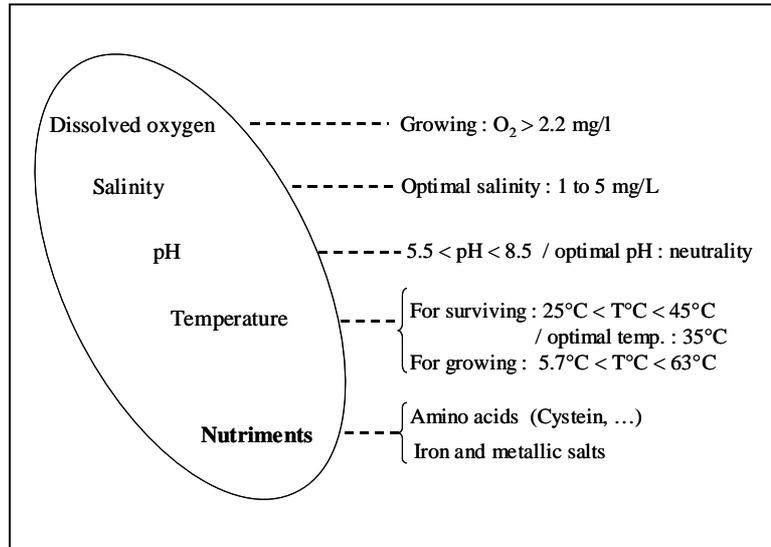


Figure 1 : Central parameters involved for *Legionella* growing

Without physicochemical parameters of the environment, nutrient access is critical for *Legionella* growing. *Legionella* can't use carbon hydrates and it needs some specific nutrients (amino acid) which used like carbon source : L-cystein is amino acid the most critical. Low metal concentrations are suitable to *Legionella* growing but inhibiting effect is observed with the high metal concentrations.

Nutriments needed by *Legionella* are provided by environmental conditions or by metabolic activity of the associated microbial flora. *Legionella* are able to realize various relations with many microorganisms like *Cyanobacteria* (*Fischerella*), green algae (*Scenedesmus* spp., *Chlorella*, *Gleocystis*). Some *Amoeba* (*Acanthameba* spp, *Naeglaria* spp and *Hartmanella* spp) and some protozoa (*Tetrahymena* spp, *Cyclidium* spp) could be used by *Legionella* for intense multiplication (parasitism).

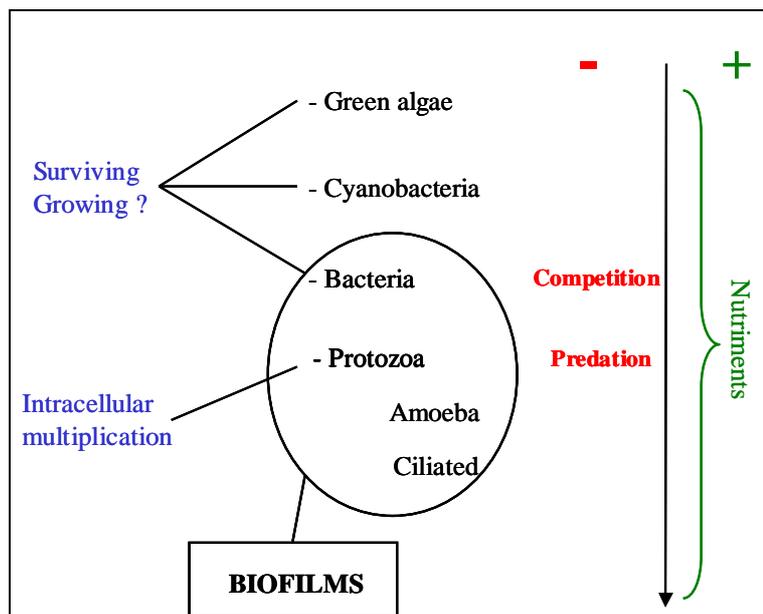


Figure 2 : Relationship between *Legionella* and associated microbial flora.

Presence of other bacteria, like *Acinetobacter spp*, *Alcaligenes spp*, *Flavobacterium spp* would improve *Legionella* growing. In the other hand, others bacteria, like *Aeromonas spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus pneumoniae*, would inhibit *Legionella* development. *Legionella* can use nutrients product by associated biological contaminant, but complex interactions exist within biofilm so it seems difficult to determine influence of the different bacteria on *Legionella* growing.

Contamination from person to person was never described and no animal reservoir was known. The inhalation of infectious aerosols from colonized reservoir is the unique way of exposure to initiate legionellosis. Legionellosis risk exist only if diameter of the contaminated aerosol is less than 5 µm. So, for legionellosis infection risk, the aerosol size is a parameter with equivalent importance than concentration of the *Legionella* dispersed in air. For the most of bacteria, air is not a suitable environment and survival of aerosolised bacteria is generally low. Survival of aerosolised bacteria is related with the air humidity level, air temperature, oxygen, ozone, open air factor presence and radiation intensity (solar radiation for example). Few studies show the more initial virulence of *Legionella* is high, the more survival of aerosolised *Legionella* is important.

A synthetic analysis of ecologic and environmental conditions suitable for *Legionella* growing allowed to determine processes with *Legionella* risks. So a process should be considered if :

- ✓ an identified hydric reservoir or warm water network including nutrients and abundant microorganisms exist.
- ✓ zones with stagnant water and/or with biofilm exist.
- ✓ aerosols with diameter less than 5 µm are produced by impacting, pulverization, bubbling...

Two major risks are described in this definition : first is that a *Legionella* reservoir must be present for at least one step of the process, second is that potential infectious aerosols must be disseminated starting from this reservoir. **No reservoir involves no infectious aerosols and no *Legionella* risk.**

About bibliographic data this two major risks could be subdivided in many elements :

By ascending order, the probability that a reservoir be created is related :

- ✓ to the humidity level in the selected matrix. The more the environment will be humid, the more the environment will be favorable for survival and for growing of *Legionella*.
- ✓ to pH and temperatures conditions.
- ✓ to the presence of miscellaneous biological organisms (algae, protozoa like amoeba) which allow commensalism and parasitism relations but also nutrient access.
- ✓ to the presence of a biofilm or a similar environment which improves diversity of microbial flora.

By ascending order, the probability for aerosolization of infectious *Legionella* starting from a reservoir is related :

- ✓ to the exposure of the aerosols to oxygen, open air factors and radiation like UV.
- ✓ to the speed of desiccation of the aerosols (air humidity level, nature of the matrix which spread aerosols, air temperature).
- ✓ to the size of the aerosols (superior or inferior to 5 µm)

MIGHT WASTES CONTAIN LEGIONELLA ?

For the hospital wastes, crushing performed before the decontamination could be the step with the most important infectious risk but it seems that the hospital wastes are not a major reservoir.

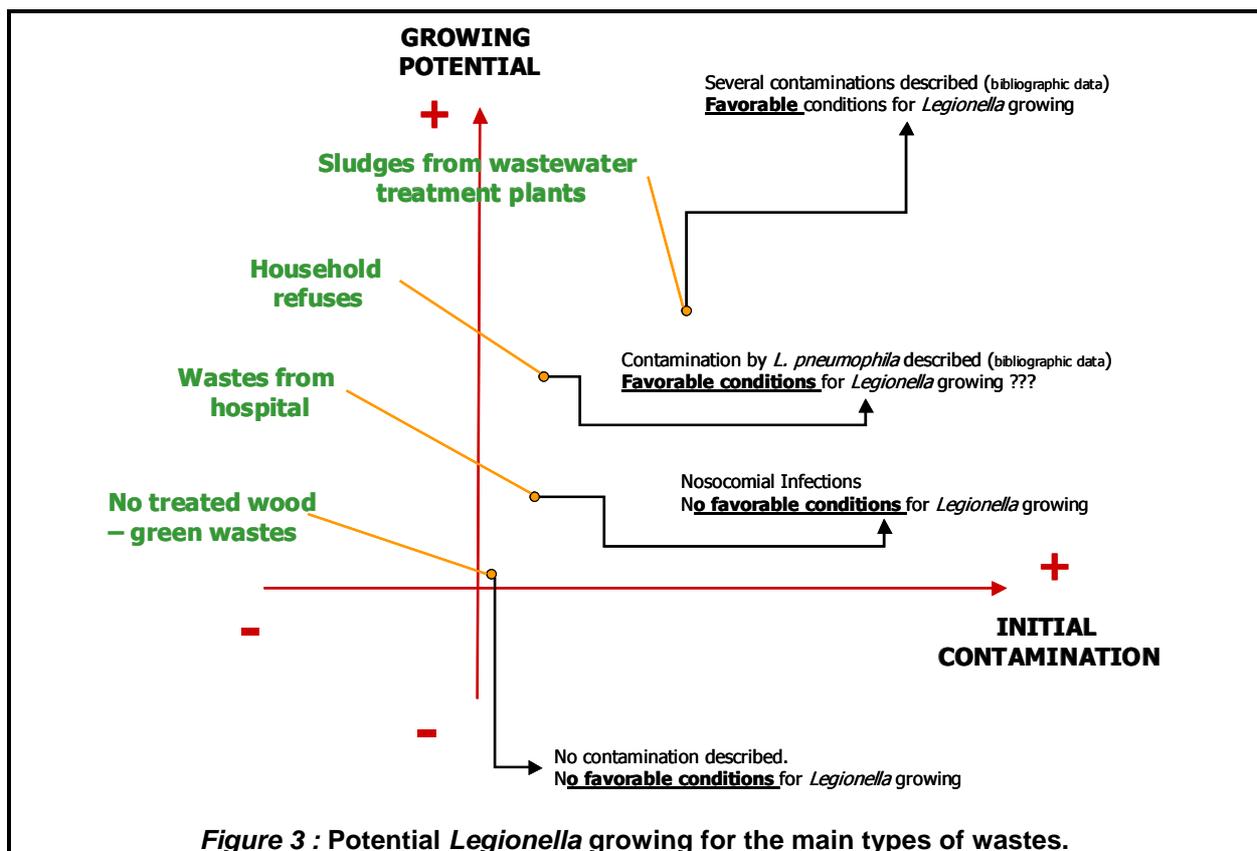
For household residues, one bibliographic study show that *Legionella* could be present within fresh residues. Contamination level and growing potential in household residues were not evaluated yet.

For the no-treated wood and for the green waste, *Legionella* occurrence was not investigated but the level of initial contamination should be weak and no favorable conditions for *Legionella* growing was identified in this matrix.

About sludge from wastewater treatment plants, few bibliographic data show that this matrix could be a *Legionella* reservoir. Important *Legionella* concentrations could be present in fresh sludges but only few data are available. So, potential survival of *Legionella* during sludge treatments (desiccation, evolving of the physicochemical parameters, hygienization treatment, ...) was not studied.

In first analysis, sewage sludges are the waste with the most important *Legionella* risk. So with assumption that liquid sludges or humid sludges could contain high *Legionella* concentrations, process or step of processing that should be monitored are :

- ✓ the aerated tanks of the wastewater treatment plants or of the lagoons.
- ✓ the sludge spreading for soil amendment and pumping or discarding steps of sludges.
- ✓ the storing zones of the sludges before treatment.
- ✓ the pre-treatment steps (mixture with the others wastes and crushing).



WHAT ARE WASTE PROCESSING WITH AN IMPORTANT *LEGIONELLA* RISK ?

In first, separation between biological processes like composting plants or wastewater plants and other processes might be pertinent.

For **incineration, co-incineration, pyrolysis and hydrothermal oxidation**, it seems that thermal treatments are not critical for *Legionella* risk but associated installations of the treatment centers should be considered :

- ✓ the storing area of the wastes could be potential reservoir.
- ✓ Proximity between organic matters with potential *Legionella* presence and hydric environments with warm water (cooling circuits and cleaning smoke gases system) could involve a transfer of the *Legionella* contamination.
- ✓ the transfer and pre-treatment steps of the wastes (cutting and crushing) could involve infectious aerosols spreading.
- ✓ sludge treatment on a waste processing plant could arise risk that *Legionella* reservoir occur and consequently could arise risk for the spreading of infectious aerosols.

More specifically, the waste storage pit of the incineration plants could be a good model for study of the storing areas. Data about waste storage pit of the incineration plants shows that storing delay before processing, high humidity level, and associated microbiological flora could be convenient with *Legionella* growing.

The wastewater treatment plants present specific process because the whole of the treatment steps concerns liquid wastes and occurs in liquid forms. Moreover wastewater treatment plants used biological processes involving high microorganism concentrations.

- ✓ *Legionella* was detected in the effluents of wastewater treatment plants by many studies. The tanks and tubing network of these plants could be *Legionella* reservoirs.
- ✓ process of wastewater treatment plants involves the spreading of high aerosols quantity.
- ✓ *Legionella* was detected in aerosols collected in the vicinity of aeration tanks of wastewater treatment plants.

Like the wastewater treatment plants, the **composting centers** are a specific treatment way because only biological steps are used.

Through composting wastes could be a *Legionella* reservoir because :

- ✓ during first thermophilic fermentation step, the warm temperatures could be favorable with survival of *Legionella*. Nevertheless impact of the inhibitors produced by microbiological flora of the compost was not estimated and potential for *Legionella* growing was not evaluated.
- ✓ during mesophilic fermentation step and during maturation step the predominant microorganisms could be convenient with *Legionella* survival (*Protozoa*, particularly *amoebae* which could be contaminated by *Legionella*).
- ✓ during composting process, the humidity level are convenient with survival and *Legionella* growing.
- ✓ the pH of the biomass seems to be favorable for *Legionella*.
- ✓ composting involves high aerosols quantities through the totality of the process and the bibliographic data shows that majority of these aerosols (50 to 90 %) are included in the alveolar fraction. The spreading of the aerosols can occur with humid atmosphere and after long fermentation periods (turning of the windrows). The major way of exposure of the workers is inhalation.

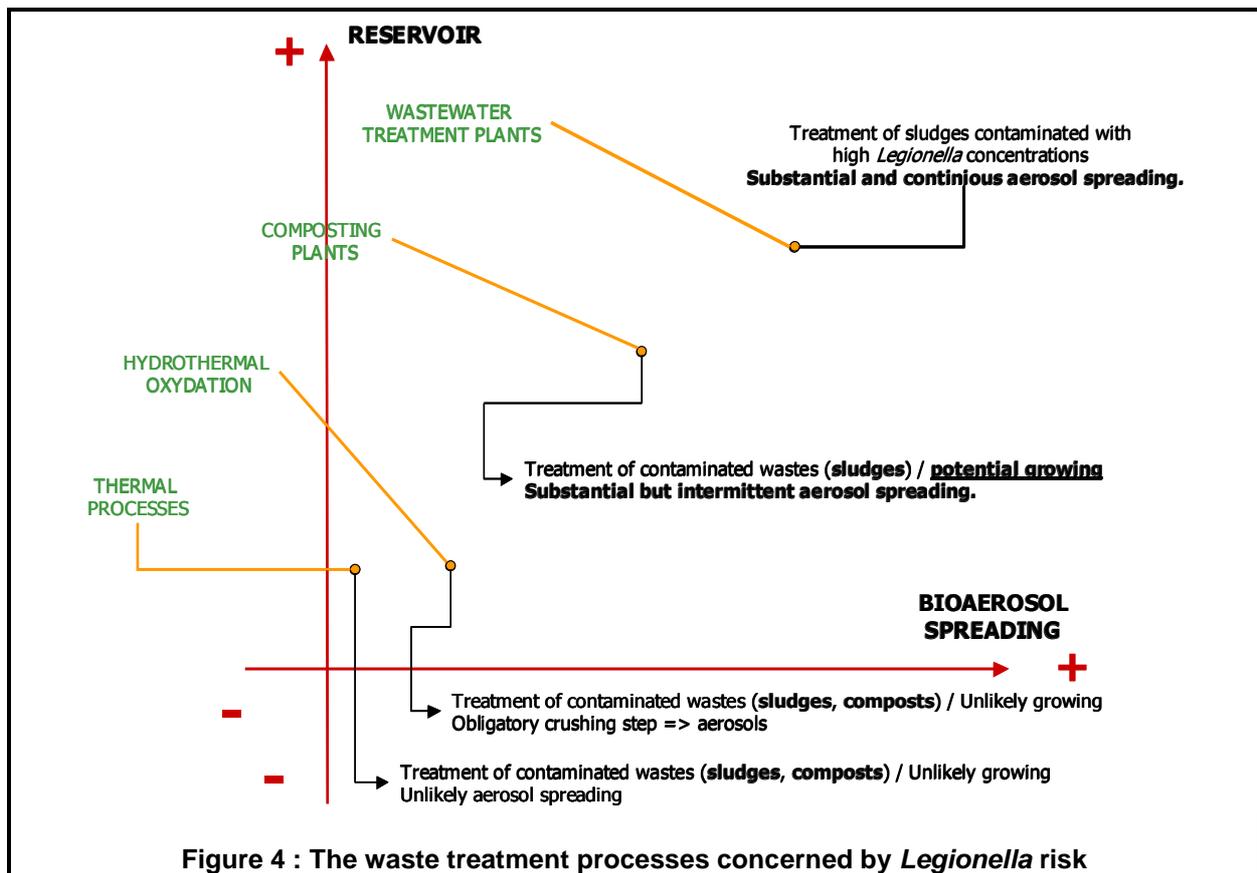


Figure 4 : The waste treatment processes concerned by *Legionella* risk

CONCLUSIONS

According to specificity of the various waste treatment processes, *Legionella* risk can be different. Some wastes like household refuses and sewage sludges could contain *Legionella*. During processing of contaminated garbage, waste storage, waste transfer and crushing might be critical steps for *Legionella* risk.

For storage step, observations realized on the waste storage pit of the incineration centers can be extrapolated, so household refuses and sludges (mixed or not) might constitute *Legionella* reservoirs. Without aerosols spreading associated risk is low. However aerosols could be spread for example when waste are transferred between storage area and valorization area. Crushing is often used in the stages of pre-treatment and many aerosols can be disseminated. The valorization step is less exposed except if biological processes are used because physicochemical conditions, duration and principle of the treatment could be convenient with *Legionella* survival and growing. Both, organic matter and high quantities of bacteria, sometime heat (composting), are convenient parameters for *Legionella* presence. Moreover empiric data show that many aerosols are disseminated by wastewater treatment plants, lagoons and composting plants.

The waste processing centers seems to be concerned by *Legionella* risk but no grouped cases of Legionellosis ascribable to these centers was still observed : For example wastewater treatment plants and composting centers were never implied with legionellosis.

Legionella occurrence in the input wastes is not evaluated. In the same way *Legionella* concentrations at the different steps of the treatment processes were not studied. Currently, the bibliographical data provide some estimates of *Legionella* concentrations in sewage sludges and several studies were realized on the activated sludge tanks, so process of the sewage treatment is the best know one. Potentials for survival and growing within each process is difficult to determine because precise physicochemical conditions are not known. Because of the lack of information, analysis of the bibliographic data can justify only presumptions for *Legionella* contamination. Only case studies realized on representative centers would evaluate the *Legionella* contamination through waste processing. Data obtained during our case study and data collected about the legionellosis outbreak occurred at the city of Harnes (in France), can be used to bring additional informations. So

bibliographic data and case studies data are concordant : *Legionella* can be find in the sewage sludge, in the lagoons, in the compost. Moreover infectious bioaerosols could be disseminated during transfer of the wastes, and infectious bioaerosols could be transferred onto few kilometers.