

---

---

## ÉTUDE COMPARATIVE DU BROME ET DU CHLORE DANS LA DÉSINFECTION DES EAUX THERMALES DE DAX

---

---

**LAGIERE Joël<sup>1</sup>, DEYTIEUX-BELLEAU Christelle, BIASUTTI  
Sandra, DUBOURG Karine**

### Résumé

L'utilisation de produits alternatifs aux dérivés chlorés pour la désinfection des piscines thermales relève d'un enjeu important pour optimiser l'état sanitaire dans les établissements thermaux. Cette étude réalisée sur 25 litres d'eau minérale naturelle de Dax (France, 40100) vise à démontrer l'efficacité du brome, véritable alternative au chlore, dans le cas d'eaux thermales chaudes possédant un pH basique, lui conférant ainsi une spécificité propre aux soins collectifs pratiqués en piscine de rhumatologie. Les résultats microbiologiques obtenus sur *Pseudomonas aeruginosa* confirment cet effet biocide sans prendre en considération le paramètre pollution organique azotée. L'étude comparée des trois espèces bactériennes (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus*) sur le pouvoir bactéricide du bromochloro-5,5-diméthylhydantoïn (BCDMH) montre, par ordre croissant, une grande sensibilité des *E. coli*, des *Pseudomonas aeruginosa* et des *Enterococcus*.

*Mots clés* : brome, chloration, eaux chaudes thermales, désinfection.

### Abstract

#### **Comparative study of bromine and chlorine in Dax' thermal water disinfection.**

The use of alternative products instead of chlorine derived products in order to decontaminate thermal swimming pools, is a capital issue to optimize the sanitary situation in thermal centers. 25 litres of natural mineral water from the thermal city of Dax (France, 40100) were used for the realization of this experimental study, which aims to prove the efficiency of bromine, as a real alternative to chlorine, concerning hot thermal waters characterized by a basic pH. Thus, bromine has a very particular use related to rheumatology collective treatments taking place in rehabilitation pools.

The microbiological results obtained with the analysis of *Pseudomonas aeruginosa* prove this biocid effect, without considering the factor of nitrogenous organic pollution.

The comparative study, involving three bacterial species (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*), realized on the bactericidal impact of bromine, shows that *E. coli* resist more than the two others species.

*Key words* : bromine, chlorine, thermal hot water, decontamination / disinfection.

---

Institut du thermalisme - Université Victor-Segalen-Bordeaux2, 8 rue Sainte Ursule, 40100 Dax

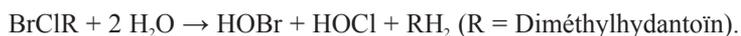
<sup>1</sup> Courriel : joel.lagiere@u-bordeaux2.fr Tél. +(33) 05 58 56 19 42

## Introduction

Dans les établissements thermaux, les piscines thermales sont soumises à des obligations réglementaires particulières, notamment en ce qui concerne la qualité des eaux minérales naturelles relative aux risques microbiologiques [3].

Il existe différents moyens de désinfection applicables aux piscines utilisant des procédés physiques (UV, ozonation) ou chimiques (chloration, bromation). Les désinfections chimiques restent largement utilisées du fait de leur facilité d'application et du coût. Toutefois leur efficacité dans le cas d'eaux minérales naturelles n'est pas toujours satisfaisante du fait d'une mauvaise connaissance du comportement de ces désinfectants vis-à-vis de ces eaux particulières riches en minéraux. L'efficacité de la désinfection par le chlore des piscines thermales a fait l'objet d'un précédent travail [6]. Dans le cas d'une eau minérale naturelle maintenue à une température de 38°C et ayant des propriétés sulfatée, calcique, magnésienne et légèrement sodique (eau minérale de Dax), cette étude met en évidence la nécessité d'ajuster en permanence l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 1 mg/L afin de mieux maîtriser la pollution organique pouvant être apportée par les baigneurs.

En alternative au dérivé chloré, il existe un dérivé bromé, le bromochloro-5,5-diméthylhydantoïn (BCDMH), reconnu pour ses propriétés désinfectantes. Le BCDMH libère en solution aqueuse de l'acide hypobromeux (HOBr) et de l'acide hypochloreux (HOCl) en quantité équimolaire [4] selon le mécanisme réactionnel suivant :



L'originalité de son mode d'action réside par le fait que l'acide hypochloreux libéré lors de l'hydrolyse oxyde les bromures présents en acide hypobromeux dont le potentiel d'oxydo-réduction est plus faible que celui de l'acide hypochloreux ( $E^\circ\text{HOBr}/\text{Br}^- = 1,33$  volts ;  $E^\circ\text{HOCl}/\text{Cl}^- = 1,49$  volts). Par ailleurs, pour un pH compris entre 7 et 8 et dans une eau plutôt chaude (35/38°C), l'acide hypobromeux présenterait une meilleure efficacité que l'acide hypochloreux [7]. À un pH de 8 par exemple, 83 % de la forme active HOBr est présente dans l'eau contre seulement 24 % de la forme active HOCl [4]. Ce désinfectant bromé présente également un intérêt par rapport aux sous-produits qu'il génère en présence de pollution organique azotée. En effet, les chloramines sont stables, persistantes, très peu désinfectantes, malodorantes, cancérigènes et sont plus facilement produites en eaux chaudes. Au contraire, les bromamines ont un pouvoir désinfectant comparable à celui d'HOBr du fait de leur instabilité (la tribromamine instable dans l'eau se transforme en acide hypobromeux), ne dégagent pas d'odeur désagréable et ne provoquent pas d'irritations des yeux et des muqueuses [5].

L'objectif de ce travail est de comparer les deux désinfectants, NaOCl (eau de javel) et BCDMH, vis-à-vis de leur pouvoir désinfectant dans une eau minérale naturelle qui est maintenue à une température de 35°C, comme dans les piscines thermales utilisées en

rhumatologie. Dans un premier temps, le pouvoir absorbant de ces dérivés par l'eau minérale naturelle de Dax est déterminé puis, dans un deuxième temps, l'efficacité du biocide BCDMH est mise en évidence vis-à-vis des germes pathogènes *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus*.

## Matériel et méthodes

### L'eau minérale naturelle

L'eau minérale naturelle provient du forage thermal de la place de la course à Dax et sort à la température de 60°C. Cette eau est sulfatée, calcique, magnésienne et légèrement sodique. Elle présente une conductivité de 1492 µS et un pH de 7,8 à 22°C. Pour chaque essai, l'eau est prélevée directement au forage et utilisée quelques heures après lorsque sa température est descendue à 35°C.

### Les souches bactériennes

Les micro-organismes utilisés proviennent de la collection de l'Institut du thermalisme isolés à partir de prélèvements environnementaux (eau du port de Capbreton, Landes) : *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* et *Enterococcus*. Ces souches ont été mises en culture dans un bouillon R2A à 36°C pendant 48 h, afin d'obtenir des suspensions aux concentrations initiales de  $1 \times 10^{10}$  UFC/mL,  $1,6 \times 10^9$  UFC/mL et  $1,3 \times 10^8$  UFC/mL pour *P. aeruginosa*, *E. coli* et *Enterococcus* respectivement.

### Les solutions désinfectantes

Les solutions utilisées pour la chloration sont préparées régulièrement à partir d'une solution mère d'hypochlorite de sodium à 9,6 %. Le biocide libéré est l'acide hypochloreux.

La bromation est réalisée à partir d'une solution de BCDMH obtenue par dissolution de 2 g de galet formulé en 20 g (Gaches chimie) dans 1 litre d'eau pure, les biocides libérés étant l'acide hypobromeux et l'acide hypochloreux. Les solutions filtrées sont conservées à 4°C et la concentration en brome total vérifiée avant chaque utilisation par la méthode titrimétrique à la DPD dénommée N, N-diethyl-*p*-phenylènediamine (norme NF T 90-037, mars 2000).

### Dosage du chlore libre et du brome total

Le chlore libre en solution est dosé selon la méthode titrimétrique à la DPD, de même que le brome total où est ajouté initialement du sulfate d'ammonium pour piéger le chlore libre.

### Détermination de la demande en halogène

La demande en chlore ou en brome de l'eau minérale naturelle de Dax est réalisée sur 2 litres d'eau maintenue à 35°C, sous agitation vigoureuse afin de simuler des remous. Des quantités d'oxydant constantes (0,4 mg) et à fréquence régulière sont ajoutées à l'eau minérale puis 1 min après l'ajout, 10 mL d'eau sont prélevés pour analyser les teneurs en chlore libre ou en brome total ; chaque expérimentation a été répétée trois fois.

### Étude de l'effet bactéricide

L'effet biocide est étudié sur 25 litres d'eau minérale à 35°C, sous agitation. La quantité désirée de désinfectant est ajoutée à l'eau en tenant compte de la demande en halogène

propre à l'eau étudiée. Les teneurs en chlore libre ou brome total sont vérifiées par dosage titrimétrique. La suspension bactérienne est ensuite ajoutée dans les 25 L, soit une concentration de  $2,24 \times 10^6$  UFC/mL dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa*,  $0,64 \times 10^6$  UFC/mL dans le cas de *E. coli* ou  $1,3 \times 10^5$  UFC/mL dans le cas des Entérocoques. Aux temps  $t = 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5$  et  $3$  min, ou  $t = 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 ; 1,5$  et  $2$  min pour les entérocoques uniquement, 500 mL d'eau sont prélevés dans des flacons contenant du thiosulfate de sodium afin d'inhiber l'action de l'oxydant. Le dosage de l'halogène résiduel est effectué à la fin de l'essai pour déterminer la consommation en oxydant.

Dans l'heure qui suit, 250 mL d'eau sont filtrés sur une membrane de  $0,45 \mu\text{m}$  et déposée sur une gélose cétrimide (AES) pour les *Pseudomonas aeruginosa*, TTC-tergitol (Oxoïd) pour les *E. coli* et Slanetz et Bartley (Oxoïd) pour les *Enterococcus*. Les boîtes sont incubées pendant 48 h à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  pour les *Pseudomonas aeruginosa* et les *Enterococcus* et 48 h à  $44 \pm 2^\circ\text{C}$  pour *E. coli* ; le nombre de colonies est ensuite comptabilisé.

## Résultats et discussion

### Demande en chlore et brome de l'eau minérale naturelle de Dax

Des doses constantes et régulières d'une solution d'hypochlorite de sodium sont ajoutées à l'eau minérale, de façon à introduire 0,4 mg de chlore. Les teneurs en chlore libre en solution sont ensuite dosées par titrimétrie. Il a été vérifié que les teneurs en chlore initiales sont nulles ( $T_0$ ). La demande en chlore de l'eau minérale naturelle correspond à la différence entre la concentration de chlore ajouté et celle de chlore dosé. Ce paramètre correspond à une absorption du chlore par l'eau. La figure 1 décrit la quantité de chlore dosé pour chaque ajout de chlore ainsi que la demande en chlore calculée.

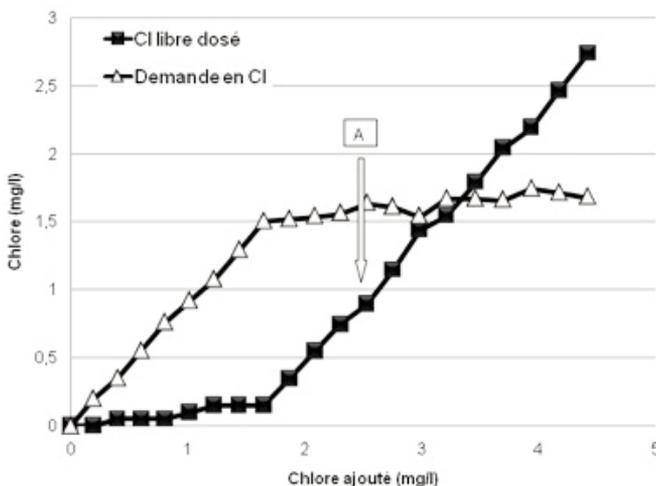
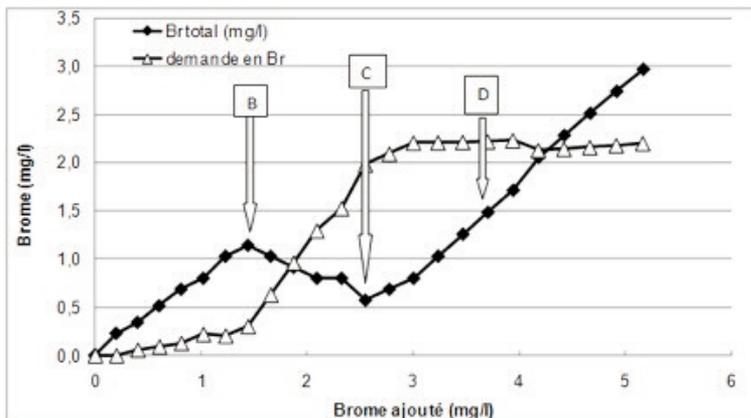


Figure 1. Concentration en chlore libre et demande en chlore de l'eau minérale naturelle de Dax en fonction des quantités de chlore ajoutées. La flèche A positionne la concentration de chlore utilisée pour étudier l'effet biocide du chlore.

Les premières quantités de chlore ajoutées sont fortement absorbées par l'eau minérale, jusqu'à la concentration de 1,65 mg/L de chlore injecté. Au-delà de cette concentration de chlore ajouté, les teneurs en chlore libre dans la solution augmentent régulièrement et de façon linéaire dans l'eau. Ainsi, pour de faibles quantités de chlore ajoutées, la demande en chlore augmente signifiant que l'eau, et notamment certains de ses constituants, absorbent ce chlore ajouté. Dès la concentration de 1,8 mg/L de chlore ajouté, la demande en chlore de l'eau se stabilise, indiquant que tout le chlore ajouté se retrouve sous forme libre dans l'eau minérale. De plus, ce sera à partir de quantités de chlore ajoutées supérieures à 2,53 mg/L (point A) que les teneurs en chlore libre pourront présenter des propriétés désinfectantes (chlore libre actif) en absence de pollution organique azotée (pour un chlore libre mesuré compris entre 0,9 et 3 mg/L, le chlore libre actif est donné pour 25°C, par abaque, entre 0,4 et 1,34 mg/L respectivement, en tenant compte du pH de l'eau minérale naturelle de Dax).

La demande en brome de cette eau a également été évaluée. Pour cela 0,4 mg de brome sont ajoutés régulièrement à l'eau à partir d'une solution titrée de BCDMH. La figure 2 décrit l'évolution du brome total dosé dans l'eau et la demande en brome.



**Figure 2. Concentration en brome total et demande en brome de l'eau minérale naturelle de Dax en fonction des quantités de brome ajoutées.** Les flèches B, C et D positionnent les différentes concentrations de brome total utilisées pour étudier son effet biocide.

Les ajouts successifs de BCDMH dans l'eau minérale donnent une réponse différente des teneurs en halogène de celle obtenue avec les ajouts d'hypochlorite de sodium. Pour des ajouts progressifs de brome, trois zones peuvent être distinguées :

- jusqu'à la concentration de 1,23 mg/L de brome ajouté, le brome se retrouve dans sa quasi-totalité sous forme libre en solution. À l'inverse du chlore, les premiers ajouts de brome ne sont donc pas absorbés par l'eau minérale ;
- à partir de 1,45 mg/L de brome ajoutés (point B), l'absorption du brome par l'eau débute. La demande en brome augmente alors fortement jusqu'à avoir

ajouté 2,55 mg/L de brome. À cette concentration, le brome total en solution se trouve à une concentration très faible de 0,57 mg/L (point C) ;

- au-delà de 2,55 mg/L de brome ajouté, le brome n'est plus absorbé par l'eau et la demande en brome reste stable.

La réglementation indique que le brome total dans une piscine doit être à des quantités comprises entre 1 et 2 mg/L [2]. Ainsi, une piscine d'eau minérale naturelle de Dax désinfectée au brome, devra être alimentée soit par environ 1 mg/L de brome, soit par une dose comprise entre 3,2 et 4,1 mg/L de brome pour respecter la norme, dans le cas d'une absence de pollution organique azotée. Cette expérimentation a été menée en parallèle sur l'eau plate du robinet. Nous avons constaté que l'absorption du chlore ou du brome par cette eau était négligeable (données non montrées), ainsi la demande en halogène est, dans ce cas, nulle. Il est donc probable que les propriétés physico-chimiques propres à cette eau minérale (minéralisation, teneur des ions oxydables,...) soient responsables du profil d'absorption d'une partie du chlore ou du brome additionné [1].

### Effet bactéricide du chlore et du brome

Nous avons dans un premier temps comparé l'effet bactéricide du chlore et du brome sur l'espèce bactérienne : *Pseudomonas aeruginosa*. Concernant le chlore, la quantité d'hypochlorite de sodium nécessaire est ajoutée de façon à obtenir une concentration en chlore libre en solution de 0,97 mg/L (concentration vérifiée par titrimétrie à la DPD), ce qui correspond au point A sur la figure 1 dans la zone où la demande en chlore est stabilisée. Pour le brome, 3 ajouts ont été utilisés de façon à obtenir des concentrations en brome total de 1,1 mg/L, 0,57 mg/L et 1,62 mg/L. Ces trois concentrations correspondent respectivement à des ajouts de brome de 1,45 mg/L, 2,55 mg/L et 3,8 mg/L (points B, C et D annotés sur la figure 2).

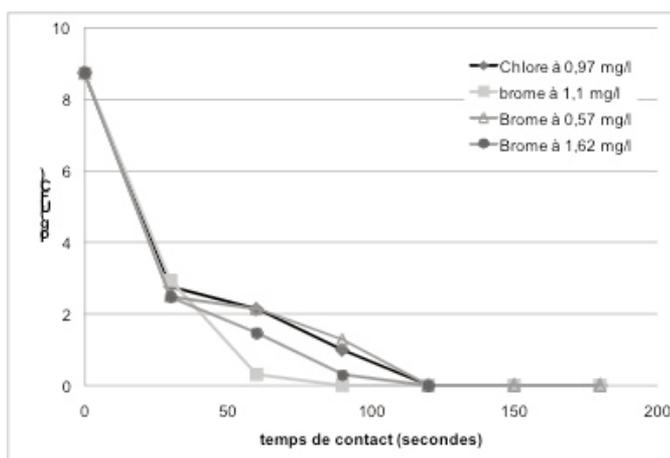


Figure 3. Comparaison de l'effet bactéricide de NaOCl et du BCDMH sur une suspension de *Pseudomonas aeruginosa* inoculée dans l'eau minérale naturelle de Dax à 35°C.

Aux concentrations utilisées, l'ajout de NaOCl (ou de BCDMH) a provoqué une diminution rapide du nombre de colonies de *Pseudomonas aeruginosa* cultivables (figure 3). En effet, pour toutes les doses de désinfectant, aucune bactérie n'est dénombrable après 2 mn de contact.

Un effet dose est observé pour le BCDMH : l'efficacité désinfectante est maximale pour une teneur en brome total de 1,1 mg/L (soit 1,45 mg/L injectés, point B), puis intermédiaire pour une teneur de 1,62 mg/L (soit 3,8 mg/L injectés, point D). La dose la moins efficace est de 0,57 mg/L en brome total (soit 2,55 mg/L injectés, point C), ce qui correspond au point de demande en brome maximal de l'eau minérale. Ainsi, un ajout supérieur à 1,45 mg/L de brome diminue l'efficacité du biocide BCDMH. La dose de 1,1 mg/L en brome total (point B) est la dose nécessaire et suffisante pour éliminer complètement les *Pseudomonas* au bout de 1,5 min, en absence de pollution organique azotée. Un effet désinfectant est également observé : d'une part, une concentration quasi-identique de 0,97 mg/L en chlore libre ne permet l'élimination complète des *Pseudomonas* qu'au bout de 2 min ; à cette concentration, la consommation en oxydant est plus importante pour le chlore que pour le brome (chlore injecté/brome injecté =  $2,53/1,45 = 1,75$ ). D'autre part, une concentration de 0,57 mg/L en brome total produit le même effet désinfectant qu'une concentration de 0,97 mg/L en chlore libre. Mais dans ce cas, la demande en brome est maximale et la consommation en brome est égale à la consommation en chlore (chlore injecté/brome injecté =  $2,53/2,55 = 0,99$ ).

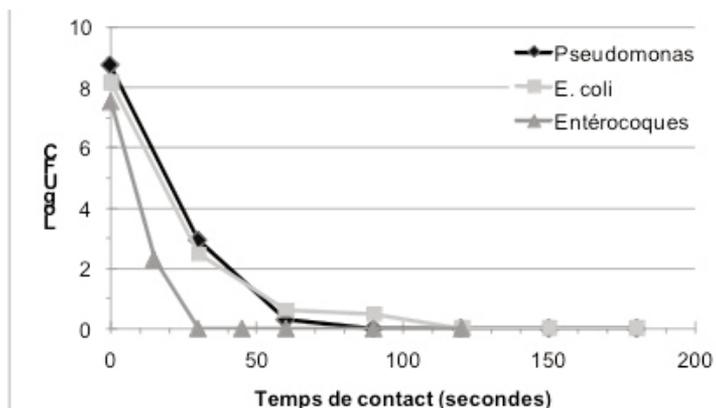
À la dose de 1,1 mg/L, le brome présente donc des propriétés désinfectantes plus marquées que le chlore.

Nos résultats mettent clairement en évidence que, dans le cas de l'eau minérale naturelle de Dax, eau plutôt basique (pH 7,8) et à 35°C, l'efficacité du BCDMH est supérieure à celle de l'hypochlorite de sodium vis-à-vis de l'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*.

### **Effet bactéricide du BCDMH vis-à-vis des 3 espèces bactériennes étudiées**

L'efficacité désinfectante du BCDMH a été comparée vis-à-vis de souches de *Pseudomonas aeruginosa*, d'*E. coli* et d'*Enterococcus*, ensemencées aux concentrations de  $2,24 \times 10^6$ ,  $0,64 \times 10^6$  et  $1,3 \times 10^5$  UFC/mL respectivement. Une concentration de 1 mg/L en brome total est utilisée.

Pour les trois espèces bactériennes, le brome présente une action désinfectante rapide puisque au bout de 2 minutes maximum, aucune espèce n'est plus cultivable sur boîte de Pétri. La teneur en brome résiduel est de 0,3 mg/L environ en fin d'essai soit une consommation de 0,7 mg/L par les bactéries (figure 4). La réponse au brome est souche-spécifique : *Enterococcus* est l'espèce la plus rapidement éliminée par le brome. Par contre, *E. coli* s'avère la plus résistante. Deux minutes de contact sont nécessaires pour éliminer totalement les *E. coli* contre 1,5 min pour les *Pseudomonas* et seulement 30 secondes pour les entérocoques. La résistance d'*E. coli* vis-à-vis du chlore libre a été rapportée plusieurs fois dans la littérature [8,9]. Dans notre étude, *E. coli* se révèle également être plus résistante au biocide bromé. Un des facteurs de résistance serait attribué à une modification de la structure de la paroi bactérienne [8].



**Figure 4.** Comparaison de l'effet bactéricide du BCDMH sur *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* et *Enterococcus*. Les teneurs en brome total sont initialement de 1 mg/L.

## Conclusions

Notre étude a mis en évidence l'existence d'une demande en oxydants, chlore et brome, spécifique à l'eau minérale naturelle de Dax, demande à prendre en compte pour une désinfection efficace des piscines thermales. Une étude de corrélation est en cours pour mieux comprendre la relation entre demande en oxydants et caractéristiques physico-chimiques des eaux minérales naturelles.

L'étude comparative a montré que le brome présente une efficacité bactéricide plus importante que le chlore à des doses inférieures, dans le cas d'une absence de pollution organique azotée. En effet, il faut injecter des doses au moins supérieures à 2,5 mg/L de chlore pour qu'il présente des propriétés désinfectantes vis-à-vis des *P. aeruginosa*, alors qu'il suffit d'injecter une dose maximale de 1,45 mg/L de brome. Le BCDMH présente donc un intérêt particulier pour une application thermique (consommation faible en biocide et meilleure activité désinfectante).

De plus, à dose efficace de 1 mg/L de brome, les entérocoques se révèlent plus sensibles que les deux autres espèces bactériennes étudiées, *P. aeruginosa* et *E. coli*. L'efficacité du brome devra se poursuivre pour d'autres espèces pathogènes susceptibles d'être rencontrées dans les établissements thermaux, notamment les *Staphylococcus aureus* et les *Legionella pneumophila*. De plus, les résultats de cette étude devront être validés à l'échelle pilote (2500 L d'eau minérale naturelle de Dax), en déterminant l'âge de l'eau et l'effet d'une pollution organique azotée apportée par des baigneurs.

## Bibliographie

1. Achour S, Guergazi S. Incidence de la minéralisation des eaux algériennes sur la réactivité de composés organiques vis-à-vis du chlore. *Rev Sci Eau* 2002;15/3:641-660.
2. Arrêté ministériel du 7 avril 1981 fixant les dispositions techniques applicables aux piscines.

3. Circulaire DGS/VS 4 N° 2000-336 du 19 juin 2000 relative à la gestion du risque microbien lié à l'eau minérale dans les établissements thermaux.
4. Duccini Y. Les avantages des désinfectants bromés dans le traitement des eaux de piscines. *L'eau, L'industrie, Les nuisances* 168:62-65.
5. Duccini Y. Les avantages de la chimie du brome dans la désinfection des effluents. *L'eau, L'industrie, Les nuisances* 166:85-88.
6. Dubourg K, Gregoire P, Lagièrre J. La désinfection des piscines thermales de Dax - étude de l'efficacité de l'hypochlorite de sodium. Influence de la chloration sur la composition physico-chimique de l'eau minérale naturelle. *Press Therm Climat* 2008;145:61-71.
7. Vidon D. Étude de l'activité bactéricide du brome sur la microflore de l'eau. *Bull Ass Pharm Fr pour l'hydrologie* Paris 1970;2:35.
8. Virto R, Manas P, Alvarez I, Condon S, Raso J. Absence and presence of a chlorine demanding substrate. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:5022-5028.
9. Williams MM, Braun-Howland EB. Growth of *Escherichia coli* in model distribution system biofilms exposed to hypochlorous acid or monochloramine. *Appl Environ Microbiol* 2003;69:5463-5471.