

Évaluation du risque légionelles : de l'environnement au risque sanitaire, synthèse des connaissances

FRANCE WALLET

EDF
Service des études
médicales
45, rue Kléber
92309 Levallois-Perret
Cedex
France
<france.wallet@edf.fr>

Tirés à part :
F. Wallet

Résumé. La légionellose, pneumopathie causée par la bactérie *Legionella* et transmise par inhalation d'aérosols contaminés, est une maladie à déclaration obligatoire en France depuis 1987. Même si l'incidence de la maladie semble stable en France, le nombre de cas est en augmentation en Europe et dans le monde.

La réglementation, basée sur des seuils de concentration dans l'eau, diffère selon les installations à risque et selon les pays. Cet article fait la synthèse des connaissances sur l'évaluation quantitative des risques liés à cette bactérie, les différentes évaluations publiées et les lacunes scientifiques qui restent à combler.

Mots clés : *Legionella* ; évaluation du risque ; évaluation quantitative du risque microbiologique.

Abstract

A synthesis of knowledge about legionellosis risk assessment: from the environment to the health risk

Legionellosis, a pneumonia caused by Legionella bacteria and transmitted by inhalation of contaminated aerosols, has been a reportable disease in France since 1987. Although the incidence of the disease seems stable in France, it is increasing in Europe and throughout the world.

Regulations to prevent this disease are based on concentration thresholds in water and differ according to the type of facility at risk and between countries. This article summarizes current knowledge about the quantitative risk assessment of this bacteria, the various published assessments, and the scientific gaps that remain to be filled.

Key words: *Legionella*; health risk assessment; quantitative microbial risk assessment.

La bactérie du genre *Legionella*, identifiée en 1977 suite à une épidémie chez des légionnaires américains survenue l'année précédente, regroupe près de 60 espèces, dont environ 30 sont pathogènes pour l'homme, et 70 sérogroupes [1-3]. Elle se développe dans les milieux aquatiques naturels ou artificiels. L'espèce *L. pneumophila* (principalement le séro groupe 1) est la principale cause de légionellose en Europe et aux États-Unis. L'espèce *L. longbeachae*, peu connue en Europe bien que quelques cas aient été répertoriés en Écosse [4-8], est la cause d'environ la moitié des cas de légionellose en Australie et en Nouvelle-Zélande.

La transmission s'effectue par inhalation de microgouttelettes contaminées de taille respirable (inférieure à 10 µm voire 5 µm), sauf pour *L. longbeachae* pour laquelle la transmission, peu claire, serait liée à la manipulation de compost contaminé. Un seul cas de transmission interhumaine de *L. pneumophila* a été rapporté mais dans des conditions très particulières [9, 10].

Les installations à risque sont celles présentant les conditions de développement et de dissémination par aérosols de la bactérie. Ce sont principalement les installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air (IRDEFA),

Article reçu le 3 mai 2018,
accepté le 2 août 2018

Pour citer cet article : Wallet F. Évaluation du risque légionelles : de l'environnement au risque sanitaire, synthèse des connaissances. *Environ Risque Sante* 2018 ; 17 : 572-582. doi : 10.1684/ers.2018.1243

doi : 10.1684/ers.2018.1243

également nommées tours aéroréfrigérantes (TAR), et l'eau chaude sanitaire (ECS) *via* les douches, même si la source de contamination est inconnue dans la grande majorité des cas.

La légionellose est une infection respiratoire qui se manifeste, après une période d'incubation de deux à dix jours, sous deux formes principales : la maladie des légionnaires caractérisée par une pneumonie et une forme moins grave, pseudo-grippale, la fièvre de Pontiac. Entre ces deux formes cliniques, de multiples tableaux cliniques sont possibles avec des localisations diverses neurologiques, cardiaques voire même cutanées [1].

L'évolution du nombre de cas de légionellose, depuis la mise en place de sa déclaration obligatoire en 1987, montre une augmentation entre 1996 et 2005 liée notamment à la mise en place de l'analyse des antigènes urinaires, méthode de diagnostic facile et rapide, et à l'amélioration du système de surveillance. L'exhaustivité de la déclaration obligatoire a en effet progressé : 10 % en 1995, 33 % en 1998, 88,5 % en 2010 [11]. Depuis 2005, malgré des fluctuations annuelles, le nombre de cas de légionellose survenus en France a suivi une baisse jusqu'à atteindre un plateau depuis 2008 environ, avec une incidence de 1,8/100 000 habitants [12]. On note en 2017 une hausse inexpliquée du nombre de cas (1 630 cas notifiés) avec un taux d'incidence de 2,4/100 000 habitants.

L'incidence mondiale exacte de la légionellose est inconnue, du fait notamment des disparités de performance des systèmes de surveillance [13, 14] et des critères de définition différents selon les régions du monde. Le nombre de cas diagnostiqués est en augmentation en Europe [15, 16] et dans le reste du monde. Elle représenterait entre 2 et 18 % des cas de pneumopathies communautaires [17-19] en fonction de la gravité de l'infection ou l'existence de facteurs de risque.

Les réglementations sont basées sur des seuils de concentration dans l'eau déterminés empiriquement, différents selon les installations à risque et selon les pays. L'évaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS) pourrait permettre de rationaliser et harmoniser ces seuils de gestion en fonction des installations. Cet article fait la synthèse des connaissances sur l'EQRS pour les légionelles.

Légionelles : de l'environnement jusqu'aux réseaux d'eau

Les légionelles sont présentes dans tous types d'eaux douces, aussi bien dans le milieu naturel que dans les milieux hydriques artificiels. Plusieurs méthodes de dénombrement des légionelles dans l'eau existent avec des limites de quantification et une signification du résultat dépendants de la méthode (par exemple, pour la méthode de culture, existence de bactéries viables et non

cultivables) [20, 21] et de la qualité de l'eau (eau brute, eau traitée) [22]. Dans les eaux brutes, la concentration en légionelles cultivables peut atteindre 10^5 UFC/l par culture [23], jusqu'à presque 10^6 UG/l par PCR (*polymerase chain reaction*) [24] et jusqu'à 10^8 cellules/l en dénombrement par fluorescence directe [25]. Les réponses ne sont pas les mêmes au regard de la capacité des méthodes à distinguer ou pas les cellules viables, cultivables ou uniquement l'ADN. L'abondance relative des légionelles varie durant l'année mais pourrait atteindre jusqu'à 2 % des taxons bactériens [26-29]. Peu d'études existent sur sa dissémination dans l'environnement [24, 30].

La présence de cette bactérie, considérée comme un pathogène opportuniste des réseaux d'eau [31, 32], va dépendre :

- de l'origine de l'eau (eau de surface ou eau souterraine, eau recyclée) [2,3] ;
- de la qualité chimique de l'eau et de son traitement [33, 34] qui peut notamment avoir un impact sur la demande en chlore et la corrosion [35]. L'exemple de la ville de Flint, aux États-Unis, a montré une multiplication par 7 du nombre de légionellose en 18 mois lors du changement d'approvisionnement en eau de la ville, lié à la corrosion des tuyaux en plomb du fait des substances toxiques présentes dans la rivière, au relargage de fer et à une température de l'eau plus élevée [36-38] ;
- de la qualité microbiologique de l'eau et de l'écologie microbienne des réseaux, notamment la présence d'amibes libres à l'intérieur desquelles les légionelles se multiplient [39-42] ;
- de la conformation du réseau d'eau (matériaux, réseau individuel, collectif, bouclage, etc.) [43], de son hydraulique (stagnation), et de son usage avec notamment l'importance du paramètre température [44] avec un effet potentiel de sélection des souches de légionelles [45].

Les réseaux d'eau potable froide ou d'ECS et les circuits de refroidissement sont donc des milieux complexes, et doivent être étudiés dans leur dimension globale incluant leur « microbiome » [46-49].

De l'aérosolisation à l'inhalation

Du fait du mode de contamination des légionelles par inhalation de microgouttelettes, les installations à risque sont donc toutes celles favorisant la multiplication des légionelles, d'une part, et la propagation par aérosolisation, d'autre part.

L'aérosolisation peut se faire de diverses façons : impaction à forte pression sur une surface, bouillonnement ou pulvérisation. De multiples installations peuvent donc être concernées, principalement les IRDEFA avec un impact potentiel important sur une grande population et donc pourvoyeuses d'épidémies [50, 51], mais également l'ECS, probablement la principale

pourvoyeuse de cas *via* les douches. Cependant, de multiples autres installations sont mises en cause comme potentiellement à l'origine de cas de légionellose [52] : fontaines décoratives [53, 54], lagunes aérées [55-57], spas [58-61], brumisateurs [62-64], terreaux ou composts [5, 6, 65, 66], stations de lavage de voiture [67], lave-glaces de voiture [68-70], lavages des voiries [71], unités dentaires [72], nettoyeurs haute pression [73], appareils respiratoires à pression positive [74, 75], utilisations d'eau recyclée [76-79], arrosages de jardins [80] ainsi que des sources en milieu de travail [81, 82].

La quantité de légionelles émises par l'installation et leur dispersion jusqu'à la personne qui va les inhaler sont deux étapes importantes à caractériser. L'état physiologique des légionelles lors de l'inhalation et la taille des aérosols inhalés sont aussi fonction de chacune de ces étapes.

– La quantité d'aérosols et leur contenu en légionelles émises par l'installation dépendent de la contamination initiale et des caractéristiques de l'installation (taille de l'installation, hydraulique, coefficient de passage eau-air, flux d'aérosols émis, vitesse d'émission, taille des aérosols émis). Dans cette étape, le coefficient de transfert eau-air est un paramètre clé mais pas très bien caractérisé. Pour les installations du type bains à remous (jacuzzis), un coefficient de transfert a été déterminé [83], en se basant sur le transfert d'endotoxine dans une piscine [84], sans que l'adéquation de ce facteur au transfert des légionelles n'ait été démontrée. Armstrong et Haas [85] prennent en compte un possible enrichissement de l'air par rapport à l'eau d'un facteur 10, basé, d'une part, sur des travaux montrant un possible enrichissement bactérien des aérosols par rapport au milieu aqueux de trois ordres de grandeur et, d'autre part, l'enrichissement en légionelles de l'écume de surface dans des bassins de TAR.

– L'enrichissement effectif des aérosols en légionelles n'a pas été démontré, mais Schoen et Ashbolt prennent en compte la possibilité d'enrichissement par détachement de biofilms [86]. Hines et Ruiz proposent des « facteurs d'émission » correspondant à des taux de transfert eau/air, pour plusieurs installations domestiques potentiellement productrices d'aérosols [87].

– La dispersion des aérosols est fonction des installations à risque et de leurs caractéristiques d'émission. Pour les IRDEFA, des modèles de dispersion plus ou moins sophistiqués sont utilisés en fonction des caractéristiques géographiques et des paramètres météorologiques. Plusieurs publications montrent que la zone autour des TAR, où la concentration en légionelles est la plus élevée, est un périmètre autour de la tour de rayon 0,5 à 0,8 km [88, 89]. Walser *et al.* [90] ont fait une analyse de la littérature à propos des épidémies de légionellose attribuées à des TAR et publiées entre 2001 et 2012 [90]. Ils montrent que la plupart des épidémies dont on connaît la TAR à l'origine sont concentrées dans un rayon maximum de 2 km sauf pour certaines exceptions, avec des distances à la source supérieures à 10 km [91, 92],

potentiellement liées à des concentrations particulièrement élevées dans les installations, ou pour des installations mises en cause autres que des TAR avec des paramètres d'émissions inconnus telles que les lagunes aérées. Il apparaît toutefois que, même pour ces cas particuliers, le plus fort taux d'attaque¹ se trouve dans le périmètre le plus proche de la source [93].

– La taille des aérosols au moment de l'inhalation dépend de la granulométrie des aérosols produits, des conditions atmosphériques (vent, humidité), de la distance entre l'installation et la personne qui va inhaler ces aérosols [91, 94]. L'évolution des aérosols dans l'air (évaporation, condensation) sera fonction des conditions atmosphériques mais également de la composition organique de l'aérosol [95].

– L'état physiologique de la bactérie va évoluer tout au long de cette phase de dispersion. Les légionelles peuvent être émises soit libres dans les microgouttelettes d'eau, seules ou sous forme d'agrégats [96], soit protégées par les constituants organiques ou biologiques de l'eau comme par exemple les vésicules amibiennes [97-102] ou les biofilms décrochés. Pour la plupart des microorganismes, l'air est un milieu extrême et la létalité occasionnée par l'aérosolisation est généralement importante [103]. Armstrong et Haas montrent une chute de 40 % de la cultivabilité à 400 m de la source pour le cas de TAR [104].

De l'inhalation des légionelles aux impacts sanitaires

Évaluation de la relation dose-réponse

Pour les légionelles, les relations dose-réponse existantes sont issues d'études animales (*encadré 1*). Les études disponibles ont été réalisées sur des cochons d'Inde [104-107] ou sur un modèle murin [108] pour leurs caractéristiques physiopathologiques proches de l'homme.

Deux relations dose-réponse ont été développées : la première, issue de travaux de doctorat de l'université de Nancy, n'a pas fait l'objet de publication dans une revue scientifique [109] ; la seconde a été publiée [83, 85, 104, 110] et reprise dans le guide de l'*United States Environmental Protection Agency* (US-EPA) sur l'évaluation quantitative des risques microbiologiques [111] et dans d'autres publications sur l'évaluation des risques légionelles [112, 113]. Ces deux études sont basées sur les mêmes données en termes d'infectiosité [114] et de mortalité [115]. Les relations dose-réponse développées sont construites à partir de la dose restant au

¹ Taux d'attaque : nombre de malades rapporté à la population à la fin d'une épidémie (représenté le plus souvent par l'incidence dans un intervalle de temps couvrant tout l'événement).

Encadré 1**Détermination de la relation dose-réponse légionelles**

Plusieurs étapes se succèdent lors des études animales : inhalation par les animaux d'une dose déterminée de légionelles suite à la production d'un aérosol contaminé, détermination de la dose, établissement de la courbe dose-réponse en fonction des effets sur les animaux et extrapolation animal-homme [111, 117].

Le concept de dose est toujours complexe en évaluation des risques et comprend différents types : dose potentielle, dose appliquée, dose absorbée, dose interne ou dose biologique efficace [111]. En microbiologie, cette dose est fortement dépendante de la méthode de mesure, pas toujours consensuelle ni normée et dotée d'une variabilité importante. Dans le cas des légionelles, la dose efficace correspondant à la dose de légionelles cultivables retenues dans les alvéoles pulmonaires est exprimée en UFC/m³, sachant que se pose la question de la présence des légionelles viables non cultivables mais potentiellement infectantes [118] et que les méthodes de mesure dans l'air ne sont pas validées, même si quelques rares travaux existent [119-122]. Les relations dose-réponse ont été élaborées avec *L. pneumophila* séro-groupe 1, la plus retrouvée en clinique. Cependant cette relation peut différer en fonction de la virulence des souches de légionelles, encore peu connue [23] et avec un nombre limité de marqueurs [123]. Par ailleurs, se pose la question de savoir comment intégrer dans le calcul de risque l'inhalation d'agrégats de légionelles libres ou des vésicules amibiennes pouvant contenir de nombreuses légionelles et compter comme une seule colonie en culture [96, 98] ?

La dose efficace se calcule avec la formule suivante :
Dose efficace = C_{air} x AI x TE x TR

Avec :

C_{air} : concentration dans l'air (UFC/m³) ; AI : quantité d'air inhalée par unité de temps (m³/h) ; TE : temps d'exposition (h) ; TR : fraction des aérosols inhalés retenus dans les alvéoles pulmonaires (0,5).

Des améliorations à cette formule simple peuvent être faites en prenant en compte, par exemple, la fraction d'aérosols retenus dans les alvéoles pulmonaires en fonction de la taille des gouttelettes [86].

Les nouveaux développements méthodologiques en évaluation des risques microbiologiques tentent de prendre en compte l'effet du temps (durée après inoculation pour considérer le temps de développement du pathogène), de comprendre l'effet d'infections répétées ou encore l'effet de l'âge des sujets dans la relation dose-réponse [124].

niveau des alvéoles pulmonaires, appelée la dose efficace. Elle est estimée égale à 50 % de la dose inhalée d'après une étude ancienne [116] et serait jugée identique entre cochon d'Inde et homme [85]. L'analyse de sensibilité des modèles d'évaluation des risques, développés par Ambroise et Armstrong [83, 109], révèle que ce paramètre, considéré comme déterministe dans ces modèles, a une influence importante sur les résultats d'évaluation.

Le choix de l'effet sanitaire considéré est différent selon les modèles. Ambroise considère un seul modèle dose-réponse alors qu'Armstrong construit deux modèles séparés : un pour la maladie des légionnaires basé sur des données animales de mortalité et un autre pour la fièvre de Pontiac basé sur des données animales d'infection, considérés comme deux effets différents. À ce jour, la différence entre les deux pathologies n'est pas totalement expliquée (taille des gouttelettes inhalées ? Concentration de légionelles inhalées ? Rôle de l'immunité de l'hôte ? Rôle des endotoxines dans la fièvre de Pontiac ? [125]) Plusieurs épisodes épidémiques ont été décrits avec l'association de cas de légionellose et de fièvre de Pontiac [109].

L'extrapolation animal-homme diverge dans les deux modèles avec un fort impact sur les résultats. Pour Armstrong, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur d'ajustement interspèces pour les adultes en bonne santé, car le mécanisme d'infection est le même entre l'homme et le cochon d'Inde [83]. De son côté, Ambroise utilise un facteur d'ajustement égal à 2,5.10⁻⁴ afin de caler le modèle sur les données d'incidence de la maladie, avec une influence non négligeable sur les résultats [109].

Les caractéristiques du pathogène (espèce, souche, virulence) ne sont pas prises en compte dans ces modèles [123]. La sensibilité de la population infectée est considérée uniquement par Ambroise.

Par ailleurs, très peu d'informations sont disponibles quant au rôle possible de l'immunité dans la réponse aux légionelles [126, 127].

Le modèle dose-réponse pour la fièvre de Pontiac développé par Armstrong est un modèle exponentiel de paramètre 0,06. Le risque de maladie des légionnaires, basé sur les données de mortalité animale, est un modèle exponentiel de paramètre 1,07.10⁻⁴ ou 8,7.10⁻⁵ selon les données utilisées. Seul le modèle concernant la fièvre de Pontiac est retenu dans le rapport de l'US-EPA sans justification particulière, mais probablement car il s'agit du modèle le plus protecteur pour la santé [111].

D'autres études permettent également d'appréhender la relation dose-réponse des légionelles.

À partir d'un modèle murin, la « biomasse bactérienne » de *L. pneumophila* nécessaire pour induire une infection *in situ* au contact de l'interface épithéliale alvéolaire de l'animal [108] correspondrait aux valeurs suivantes :

- 10⁶ UFC : déclenchement d'une fièvre de Pontiac ;
- 10⁷ UFC : légionellose avec un taux de mortalité de 10 à 25 % ;
- 10⁸ UFC : dose létale.

Schoen et Ashbolt considèrent une infection reproductible à partir d'une dose efficace de 5 UFC. Afin de prendre en compte les incertitudes inhérentes à l'évaluation de cette dose, ces auteurs retiennent une incertitude de dose comprise entre 1 et 100 UFC [86].

Des études expérimentales récentes avec un contrôle plus fin de la dose administrée et la caractérisation des dépôts de légionelles dans le poumon vont peut-être permettre d'appréhender plus finement la dose efficace inhalée [128-130].

Caractérisation des expositions

Cette étape va déterminer la quantité inhalée de légionelles viables dans des microgouttelettes. Il faut pour cela estimer la durée et la fréquence d'exposition, le risque microbiologique étant considéré comme une exposition aiguë : exposition unique, de courte durée, à une concentration donnée à l'instant t .

Il convient donc de s'interroger sur la durée de cette exposition. Est-il possible de cumuler les doses inhalées et sur combien de temps ? Est-il possible de faire l'hypothèse que l'inhalation de légionelles au cours d'une journée est un événement indépendant de l'inhalation de légionelles le lendemain, ou faut-il procéder au cumul des doses potentiellement liées à des sources multiples et sur quelles périodes de temps ?

La quantité d'air inhalée va dépendre de l'activité du sujet et du scénario d'exposition (budget espace-temps). Le temps d'exposition varie selon le type d'exposition considérée.

– Les évaluations de risque publiées concernent principalement les douches ou les spas avec des périodes d'exposition relativement courtes (15 minutes). Ces valeurs correspondent aux données connues pour l'adulte. La durée d'exposition est considérée comme un paramètre déterministe (une seule valeur), la réalité des expositions devant être théoriquement modélisée par une loi de distribution à définir. La population exposée est dans ce cas assez facile à déterminer.

– L'exposition liée à une IRDEFA est plus délicate et source de discussion. Il est possible de prendre comme indicateur le temps passé à l'extérieur, sous l'hypothèse que la contamination liée à la TAR ne s'effectue que dans le milieu extérieur. Ceci affranchit donc du passage éventuel du panache de la tour à l'intérieur des habitations *via* des prises d'air ou des fenêtres ouvertes. Ambroise [109] prend en compte le temps passé à l'extérieur des locaux selon les valeurs humaines d'exposition disponibles [131, 132] à savoir une moyenne de 154 min et 480 min au 95^e percentile par jour. Les données issues de l'épidémie du Pas-de-Calais de 2004, la plus grosse épidémie française de légionellose, montrent que le risque de légionellose augmente lorsque le temps passé à l'extérieur est supérieur à une heure [91]. La population exposée à inclure est ici plus difficile à

déterminer car prendre en compte uniquement les habitants autour de la zone n'est pas suffisant.

Caractérisation du risque

L'expression du calcul de risque est très diverse selon les auteurs. Ainsi, les évaluations de risque réalisées ont conduit à calculer :

- pour le modèle développé par Ambroise [109], un nombre de personnes infectées, de malades et de morts en se servant de paramètres de virulence et de létalité calculés à partir des données de la littérature. Les données de virulence, définie comme la probabilité pour un sujet infecté de développer la maladie, ont été estimées à partir de plusieurs épidémies en prenant le rapport entre le taux d'attaque de la maladie et celui des sérologies positives qui traduisent l'infection ;
- pour le modèle développé par Armstrong et Haas [85, 104], un risque d'infection bénigne (fièvre de Pontiac) et un risque de légionellose typique ;
- pour Azuma *et al.* [112], utilisant la relation dose-réponse développée par Armstrong, une probabilité d'infection et une probabilité de mort par légionellose ;
- pour Bouwknegt *et al.* [113], une probabilité d'infection ;
- pour Schoen et Ashbolt [86], effectuant une évaluation des risques « inversée » de la cible à la source, une concentration dans l'eau susceptible de provoquer une infection ;
- pour Schlosser *et al.* [133], la combinaison des probabilités pour déterminer le risque professionnel pour le personnel des stations d'épuration des eaux usées.

Le *tableau 1* synthétise les éléments clés de chacune des évaluations quantitatives de risque publiées.

Les documents guides de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et de l'US-EPA récents sur l'évaluation de risque microbiologique [111, 117, 134] montrent que le résultat peut prendre plusieurs formes et il n'existe actuellement aucun consensus sur un éventuel seuil d'acceptabilité du risque microbiologique. Seuls Azuma *et al.* [112] comparent leurs résultats aux valeurs acceptables par an de 10^{-4} pour le risque d'infection et 10^{-7} pour le risque de mortalité, sans donner de justification à ces chiffres.

La validation de ces modèles peut se faire à partir d'études épidémiologiques, mais de nombreuses incertitudes se dressent, notamment en ce qui concerne la dose d'exposition et la proportion de sujet infectés ou malades. En effet, l'estimation de la dose d'exposition dans des épidémies se fait toujours rétrospectivement et est sujette à toutes les incertitudes décrites plus haut, d'autant plus que la mesure sera faite de façon différée. Par ailleurs, calculer la proportion de sujets infectés ou malades suppose de dépister toutes les personnes infectées (maladie des légionnaires et fièvre de Pontiac) et de connaître le nombre de personnes exposées.

Tableau 1. Synthèse de différentes publications d'évaluation du risque microbiologique légionelles.

Table 1. Summary of different publications on quantitative microbial risk assessments (QRMA) of Legionella.

Référence	Méthode	Relation dose-réponse	Particularités du modèle	Installation à risque	Résultats
Ambroise (2003) [109]	EQRM	Exponentielle paramètre 0,6	Évaluation globale et calage des données sur l'incidence annuelle en France Prise en compte des facteurs de risque (âge, sexe, tabac)	TAR et douche	L'incidence des légionelloses en France correspondrait à : 0,02 UFC/m ³ pour les IRDEFA 2 UFC/m ³ pour les douches
Armstrong et Haas (2007, 2008) [85, 104]	EQRM	Exponentielle paramètre 0,6 (infection bénigne) et 1,07.10 ⁻⁴ pour légionellose	Enrichissement (x10) lors de l'aérosolisation	Spa	Essais de modélisations comparées à des épidémies liées à des spas, exposition florale (Pays-Bas)
Schlosser et al. (2007) [133]	Probabiliste	Estimation d'une probabilité d'infection	Combinaison de probabilités	STEP	Risque professionnel nul à négligeable selon les scénarii d'exposition
Schoen et Ashbolt (2011) [86]	EQRM	Basé sur le modèle animal de Muller, infection pour une dose efficace comprise entre 1 et 100 UFC	Évaluation des risques « inverse » de la cible à la source Enrichissement lors de l'aérosolisation, modélisation du détachement de biofilms	Douche	Concentration dans l'air critique pour une infection pour 15 min de douche : 35 à 3 500 UFC/m ³ correspondant à une concentration dans l'eau de 3,5.10 ⁶ à 3,5.10 ⁸ UFC/l
Azuma et al. (2013) [112]	EQRM	Exponentielle paramètre 0,6 (infection bénigne) et 8,7.10 ⁻⁵ pour légionellose	Basé sur les données d'une épidémie	Douche	100 UFC/L correspond à une probabilité d'infection 10 ⁻² et une mortalité de 10 ⁻⁵ Les auteurs recommandent une concentration < 1 UFC/l
Bouwknegt et al. (2013) [113]	EQRM	Exponentielle paramètre 0,6	Modélisation du passage des bulles d'air dans l'eau et enrichissement en légionelles La publication n'est pas claire sur la prise en compte ou non de la dose inhalée ou de la dose efficace	Spa	Risque d'infection égal à 0,29 pour une utilisation du spa pendant 15 minutes avec concentration en légionelles de 100 UFC/l ; 0,95 pour une concentration de 1000 UFC/l

EQRM : évaluation quantitative des risques microbiologiques ; IRPEFA : installation de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air ; STEP : station d'épuration ; TAR : tour aéroréfrigérante.

Cette dernière donnée est difficile à déterminer notamment lorsque les épidémies surviennent en « milieu ouvert », comme les épidémies liées aux IRDEFA. Les données utilisées par Armstrong et Haas [85] pour cette validation étaient des épidémies en « milieu fermé », où le nombre de personnes exposées est plus facile à estimer quoiqu'incertain. Néanmoins, même ces estimations restent imprécises, car la classification entre sujet exposé non infecté, sujet infecté et sujet malade semble floue. Selon cette étude, le risque d'infection subclinique calculé est légèrement supérieur au risque calculé à partir des études épidémiologiques, avec environ un ordre de grandeur d'écart.

Ambroise [109] compare ses données, basées sur des expositions populationnelles moyennes, aux données épidémiologiques nationales. D'après son modèle, l'incidence des légionelloses en France (données de 2003) correspondrait à des concentrations dans l'air comprises entre 0,02 UFC/m³ pour les TAR et 2 UFC/m³ pour les douches. Par comparaison, les gammes de

concentrations mesurées ou modélisées dans l'air lors d'épidémies de légionellose dépassent l'unité par m³ [88, 89, 104, 135]. Il faut toutefois rappeler que la mesure dans l'air n'est pas scientifiquement validée ni normée et que les concentrations peuvent rapidement fluctuer à l'occasion de détachement de biofilms. Par ailleurs, la probabilité d'infection étant calculée pour une installation et dans des conditions de contamination particulières, il ne paraît pas correct d'annualiser ce résultat pour en déterminer un risque annuel et le comparer aux données épidémiologiques.

Des incertitudes aux besoins d'évaluation du risque

L'évaluation quantitative des risques microbiologiques, encore peu développée en dehors des pathogènes entériques [136], peut être un outil utile pour la gestion du

risque légionelles même si de nombreuses interrogations demeurent [137]. Les données manquent sur la caractérisation des aérosols émis par les installations à risque (quantité, taille, contenu en légionelles), les relations dose-réponse ne font pas consensus, la caractérisation des expositions se heurte à de nombreuses interrogations et aucun seuil d'acceptabilité du risque n'est actuellement validé en évaluation des risques microbiologiques. Du fait de ces nombreuses incertitudes, Bentham et Whiley [138] concluent qu'une EQRS n'est actuellement pas faisable pour les légionelles. Mais dans un contexte de changement global, la diminution prévisible de la ressource en

eau entraîne le développement de l'utilisation de diverses sources d'eaux (eaux pluviales, eaux usées traitées, eaux de rivières, etc.) et va amener un besoin de développement et d'utilisation de cette méthodologie [139]. Les études en cours devraient permettre de lever les verrous scientifiques identifiés afin d'aboutir à une quantification de ce risque. ■

Remerciements et autres mentions

Financement : aucun ; **liens d'intérêts** : salariée d'EDF.

Références

- Cunha BA, Burillo A, Bouza E. Legionnaires' disease. *Lancet* 2016 ; 387 : 376-85.
- Gomez-Alvarez V, Humrighouse BW, Revetta RP, Santo Domingo JW. Bacterial composition in a metropolitan drinking water distribution system utilizing different source waters. *J Water Health* 2015 ; 13 : 140-51.
- Wallet F, Emery C, Briand E, Cabanes P. Prévalence de *Legionella* dans les installations de production et de distribution d'eau chaude sanitaire. *Environ Risque Sante* 2016 ; 15 : 29-38.
- Amodeo MR, Murdoch DR, Pithie AD. Legionnaires' disease caused by *Legionella longbeachae* and *Legionella pneumophila*: comparison of clinical features, host-related risk factors and outcomes. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : 1405-7.
- Casati S, Conza L, Bruin J, Gaia V. Compost facilities as a reservoir of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : 945-7.
- Currie SL, Beattie TK, Knapp CW, Lindsay DS. *Legionella* spp. in U.K. composts – a potential public health issue? *Clin Microbiol Infect* 2014 ; 20 : O224-9.
- Potts A, Donaghy M, Marley M, et al. Cluster of Legionnaires disease cases caused by *Legionella longbeachae* serogroup 1, Scotland, August to September 2013. *Euro Surveill* 2013 ; 18 : 20656.
- Whiley H, Bentham R. *Legionella longbeachae* and legionellosis. *Emerg Infect Dis* 2011 ; 17 : 579-83.
- Borges V, Nunes A, Sampaio DA, et al. *Legionella pneumophila* strain associated with the first evidence of person-to-person transmission of Legionnaires' disease: a unique mosaic genetic backbone. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 26261.
- Correia AM, Ferreira JS, Borges V, et al. Probable person-to-person transmission of Legionnaires' disease. *N Engl J Med* 2016 ; 374 : 497-8.
- Campese C, Jarraud S, Sommen C, Maine C, Che D. Legionnaires' disease in France: sensitivity of the mandatory notification has improved over the last decade. *Epidemiol Infect* 2013 ; 141 : 2644-9.
- Campese C, Descours G, Lepoutre A, et al. Legionnaires' disease in France. *Med Mal Infect* 2015 ; 45 : 65-71.
- Cunha BA, Wu G, Raza M. Clinical diagnosis of legionnaire's disease: six characteristic clinical predictors. *Am J Med* 2015 ; 128 : e21-2.
- Phin N, Parry-Ford F, Harrison T, et al. Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *Lancet Infect Dis* 2014 ; 14 : 1011-21.
- Beaute J. Legionnaires' disease in Europe, 2011 to 2015. *Euro Surveill* 2017 ; 22 (46) : 171116-21.
- Beaute J, Zucs P, de Jong B. Legionnaires disease in Europe, 2009-2010. *Euro Surveill* 2013 ; 18 : 20417.
- Gomez-Junyent J, Garcia-Vidal C, Viasus D, et al. Clinical features, etiology and outcomes of community-acquired pneumonia in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* 2014 ; 9 : e105854.
- Hadler SC, Castro KG, Dowdle W, Hicks L, Noble G, Ridzon R. Epidemic intelligence Service investigations of respiratory illness, 1946-2005. *Am J Epidemiol* 2011 ; 174 : S36-46.
- Lim WS, Baudouin SV, George RC, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. *Thorax* 2009 ; 64 (Suppl 3) : iii1-55.
- Kirschner AKT. Determination of viable *legionellae* in engineered water systems: do we find what we are looking for? *Water Res* 2016 ; 93 : 276-88.
- Marinelli L, Cottarelli A, Solimini AG, Del Cimmuto A, De Giusti M. Évaluation of timing of re-appearance of VBNC *Legionella* for risk assessment in hospital water distribution systems. *Ann Ig* 2017 ; 29 : 431-9.
- ANSES. *Méthodes de détection et de dénombrement de Legionella dans l'eau*. Paris, France : Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail, 2011.
- Zhang L, Li Y, Wang X, et al. High prevalence and genetic polymorphisms of *Legionella* in natural and man-made aquatic environments in Wenzhou, China. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14 (3).
- Parthuisot N, West NJ, Lebaron P, Baudart J. High diversity and abundance of *Legionella* spp. in a pristine river and impact of seasonal and anthropogenic effects. *Appl Environ Microbiol* 2010 ; 76 : 8201-10.
- Ortiz-Roque CM, Hazen TC. Abundance and distribution of *Legionellaceae* in Puerto Rican waters. *Appl Environ Microbiol* 1987 ; 53 : 2231-6.

26. Ji WT, Hsu BM, Chang TY, *et al.* Surveillance and evaluation of the infection risk of free-living amoebae and *Legionella* in different aquatic environments. *Sci Total Environ* 2014 ; 499 : 212-9.
27. Peabody MA, Caravas JA, Morrison SS, *et al.* Characterization of *Legionella* Species from watersheds in British Columbia, Canada. *mSphere* 2017 ; 2 (4) : e00246-317.
28. Sales-Ortells H, Agostini G, Medema G. Quantification of waterborne pathogens and associated health risks in urban water. *Environ Sci Technol* 2015 ; 49 : 6943-52.
29. Shen SM, Chou MY, Hsu BM, *et al.* Assessment of *Legionella pneumophila* in recreational spring water with quantitative PCR (Taqman) assay. *Pathog Glob Health* 2015 ; 109 : 236-41.
30. Magnet A, Peralta RH, Gomes TS, *et al.* Vectorial role of *Acanthamoeba* in *Legionella* propagation in water for human use. *Sci Total Environ* 2015 ; 505 : 889-95.
31. Falkinham JO 3rd, Hilborn ED, Arduino MJ, Pruden A, Edwards MA. Epidemiology and ecology of opportunistic premise plumbing pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 749-58.
32. Falkinham JO, Pruden A, Edwards M. Opportunistic premise plumbing pathogens: increasingly important pathogens in drinking water. *Pathogens* 2015 ; 4 : 373-86.
33. Liu G, Tao Y, Zhang Y, *et al.* Hotspots for selected metal elements and microbes accumulation and the corresponding water quality deterioration potential in an unchlorinated drinking water distribution system. *Water Res* 2017 ; 124 : 435-45.
34. Portier E, Bertaux J, Labanowski J, Hechard Y. Iron availability modulates the persistence of *Legionella pneumophila* in complex biofilms. *Microbes Environ* 2016 ; 31 : 387-94.
35. Lytle DA, Liggett J. Impact of water quality on chlorine demand of corroding copper. *Water Res* 2016 ; 92 : 11-21.
36. Rhoads WJ, Garner E, Ji P, *et al.* Distribution system operational deficiencies coincide with reported Legionnaires' disease clusters in Flint, Michigan. *Environ Sci Technol* 2017 ; 51 : 11986-95.
37. Rhoads WJ, Pruden A, Edwards MA. interactive effects of corrosion, copper and chloramines on *Legionella* and mycobacteria in hot water plumbing. *Environ Sci Technol* 2017 ; 51 : 7065-75.
38. Rosen MB, Pokhrel LR, Weir MH. A discussion about public health, lead and *Legionella pneumophila* in drinking water supplies in the United States. *Sci Total Environ* 2017 ; 590-591 : 843-52.
39. Al-Quadani T, Price CT, Abu Kwaik Y. Exploitation of evolutionarily conserved amoeba and mammalian processes by *Legionella*. *Trends Microbiol* 2012 ; 20 : 299-306.
40. Ashbolt NJ. Microbial contamination of drinking water and human health from community water systems. *Curr Environ Health Rep* 2015 ; 2 : 95-106.
41. Bigot R, Bertaux J, Frere J, Berjeaud JM. Intra-amoeba multiplication induces chemotaxis and biofilm colonization and formation for *Legionella*. *PLoS One* 2013 ; 8 : e77875.
42. Jung AL, Stoiber C, Herkt CE, Schulz C, Bertrams W, Schmeck B. *Legionella pneumophila*-derived outer membrane vesicles promote bacterial replication in macrophages. *PLoS Pathog* 2016 ; 12 : e1005592.
43. Shen Y, Monroy GL, Derlon N, *et al.* Role of biofilm roughness and hydrodynamic conditions in *Legionella pneumophila* adhesion to and detachment from simulated drinking water biofilms. *Environ Sci Technol* 2015 ; 49 : 4274-82.
44. Buse HY, Ji P, Gomez-Alvarez V, Pruden A, Edwards MA, Ashbolt NJ. Effect of temperature and colonization of *Legionella pneumophila* and *Vermamoeba vermiformis* on bacterial community composition of copper drinking water biofilms. *Microb Biotechnol* 2017 ; 10 : 773-88.
45. Whiley H, Bentham R, Brown MH. *Legionella* persistence in manufactured water systems: pasteurization potentially selecting for thermal tolerance. *Front Microbiol* 2017 ; 8 : 1330.
46. National Academies of Sciences, National Academy of Engineering. *Microbiomes of the built environment: a research agenda for indoor microbiology, human health and buildings*. Washington, DC : The National Academies Press, 2017.
47. Pereira RP, Peplies J, Brettar I, Hofle MG. Development of a genus-specific next generation sequencing approach for sensitive and quantitative determination of the *Legionella* microbiome in freshwater systems. *BMC Microbiol* 2017 ; 17 : 79.
48. Wang H, Bedard E, Prevost M, Camper AK, Hill VR, Pruden A. Methodological approaches for monitoring opportunistic pathogens in premise plumbing: a review. *Water Res* 2017 ; 117 : 68-86.
49. Whiley H, Keegan A, Fallowfield H, Bentham R. The presence of opportunistic pathogens, *Legionella spp.*, *L. pneumophila* and *Mycobacterium avium* complex, in South Australian reuse water distribution pipelines. *J Water Health* 2015 ; 13 : 553-61.
50. Lau R, Maqsood S, Harte D, Caughley B, Deacon R. Prevalence of *Legionella* strains in cooling towers and legionellosis cases in New Zealand. *J Environ Health* 2013 ; 75 : 82-9.
51. Maisa A, Brockmann A, Renken F, *et al.* Epidemiological investigation and case-control study: a Legionnaires' disease outbreak associated with cooling towers in Warstein, Germany, August-September 2013. *Euro Surveill* 2015 ; 20 (46).
52. van Heijnsbergen E, de Roda Husman AM, Lodder WJ, *et al.* Viable *Legionella pneumophila* bacteria in natural soil and rainwater puddles. *J Appl Microbiol* 2014 ; 117 : 882-90.
53. Haupt TE, Heffernan RT, Kazmierczak JJ, *et al.* An outbreak of Legionnaires disease associated with a decorative water wall fountain in a hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012 ; 33 : 185-91.
54. Smith SS, Ritger K, Samala U, *et al.* Legionellosis outbreak associated with a hotel fountain. *Open Forum Infect Dis* 2015 ; 2 (4) : ofv164.
55. Gregersen P, Grunnet K, Uldum SA, Andersen BH, Madsen H. Pontiac fever at a sewage treatment plant in the food industry. *Scand J Work Environ Health* 1999 ; 25 : 291-5.
56. Kusnetsov J, Neuvonen LK, Korpio T, *et al.* Two Legionnaires' disease cases associated with industrial waste water treatment plants: a case report. *BMC Infect Dis* 2010 ; 10 : 343.
57. Olsen JS, Aarskaug T, Thrane I, *et al.* Alternative routes for dissemination of *Legionella pneumophila* causing three outbreaks in Norway. *Environ Sci Technol* 2010 ; 44 : 8712-7.
58. Coetzee N, Duggal H, Hawker J, *et al.* An outbreak of Legionnaires' disease associated with a display spa pool in retail premises, Stoke-on-Trent, United Kingdom, July 2012. *Euro Surveill* 2012 ; 17 (37). pii: 20271.
59. Costa J, da Costa MS, Verissimo A. Colonization of a therapeutic spa with *Legionella spp.*: a public health issue. *Res Microbiol* 2010 ; 161 : 18-25.
60. McEvoy M, Batchelor N, Hamilton G, *et al.* A cluster of cases of legionnaires' disease associated with exposure to a spa pool on display. *Commun Dis Public Health* 2000 ; 3 : 43-5.

61. Ruscoe Q, Hill S, Blackmore T, McLean M. An outbreak of *Legionella pneumophila* suspected to be associated with spa pools on display at a retail store in New Zealand. *N Z Med J* 2006 ; 119 : U2253.
62. Centers for disease control (CDC). Legionnaires' disease outbreak associated with a grocery store mist machine—Louisiana, 1989. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1990 ; 39 (7) : 108-10.
63. Barrabeig I, Rovira A, Garcia M, et al. Outbreak of Legionnaires' disease associated with a supermarket mist machine. *Epidemiol Infect* 2010 ; 138 : 1823-8.
64. Mahoney FJ, Hoge CW, Farley TA, et al. Communitywide outbreak of Legionnaires' disease associated with a grocery store mist machine. *J Infect Dis* 1992 ; 165 : 736-9.
65. Conza L, Pagani SC, Gaia V. Presence of *Legionella* and free-living Amoebae in composts and bioaerosols from composting facilities. *PLoS One* 2013 ; 8 : e68244.
66. Currie SL, Beattie TK. Compost and *Legionella longbeachae*: an emerging infection? *Perspect Public Health* 2015 ; 135 : 309-15.
67. Baldovin T, Pierobon A, Bertoncello C, et al. May car washing represent a risk for Legionella infection? *Ann Ig* 2018 ; 20 : 57-65.
68. Alexandropoulou IG, Konstantinidis TG, Parasidis TA, Nikolaidis C, Panopoulou M, Constantinidis TC. First report of *Legionella pneumophila* in car cabin air filters. Are these a potential exposure pathway for professional drivers? *Scand J Infect Dis* 2013 ; 45 : 948-52.
69. Sakamoto R, Ohno A, Nakahara T, et al. Is driving a car a risk for Legionnaires' disease? *Epidemiol Infect* 2009 ; 137 : 1615-22.
70. Schwake DO, Alum A, Abbaszadegan M. Automobile windshield washer fluid: a potential source of transmission for *Legionella*. *Sci Total Environ* 2015 ; 526 : 271-7.
71. Coscolla M, Fenollar J, Escribano I, Gonzalez-Candelas F. Legionellosis outbreak associated with asphalt paving machine, Spain, 2009. *Emerg Infect Dis* 2010 ; 16 : 1381-7.
72. Zemouri C, de Soet H, Crielaard W, Laheij A. A scoping review on bio-aerosols in healthcare and the dental environment. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0178007.
73. Castor ML, Wagstrom EA, Danila RN, et al. An outbreak of Pontiac fever with respiratory distress among workers performing high-pressure cleaning at a sugar-beet processing plant. *J Infect Dis* 2005 ; 191 : 1530-7.
74. Eryuksel E, Karakurt S, Balci M, Celikel T. Non-invasive positive pressure ventilation for a severe *Legionella pneumonia* case. *Tuberk Toraks* 2009 ; 57 : 348-51.
75. Stephens JH, Shaw DD, Koehler AP. *Legionella pneumophila*: probable transmission from a contaminated respiratory device. *Commun Dis Intell Q Rep* 2015 ; 39 : E201-3.
76. Blanky M, Sharaby Y, Rodriguez-Martinez S, Halpern M, Friedler E. Greywater reuse – Assessment of the health risk induced by *Legionella pneumophila*. *Water Res* 2017 ; 125 : 410-7.
77. de Man H, Bouwknegt M, van Heijnsbergen E, Leenen EJ, van Knapen F, de Roda Husman AM. Health risk assessment for splash parks that use rainwater as source water. *Water Res* 2014 ; 54 : 254-61.
78. Hamilton KA, Ahmed W, Toze S, Haas CN. Human health risks for *Legionella* and *Mycobacterium avium* complex (MAC) from potable and non-potable uses of roof-harvested rainwater. *Water Res* 2017 ; 119 : 288-303.
79. Hamilton KA, Hamilton MT, Johnson W, et al. Health risks from exposure to *Legionella* in reclaimed water aerosols: toilet flushing, spray irrigation and cooling towers. *Water Res* 2018 ; 134 : 261-79.
80. Thomas JM, Thomas T, Stuetz RM, Ashbolt NJ. Your garden hose: a potential health risk due to *Legionella spp.* growth facilitated by free-living amoebae. *Environ Sci Technol* 2014 ; 48 : 10456-64.
81. Principe L, Tomao P, Visca P. Legionellosis in the occupational setting. *Environ Res* 2017 ; 152 : 485-95.
82. Tarnaud E. Recensement des sources potentielles de légionelles (hors tours aéroréfrigérantes et eaux chaudes sanitaires), pouvant présenter un risque de contamination croisée sur un site industriel. Verneuil-en-Halatte (Oise, France) : INERIS, 2007.
83. Armstrong TW. A quantitative microbial assessment model for human inhalation exposure to *Legionella*. Drexel University, 2005.
84. Rose CS, Martyny JW, Newman LS, et al. "Lifeguard lung": endemic granulomatous pneumonitis in an indoor swimming pool. *Am J Public Health* 1998 ; 88 : 1795-800.
85. Armstrong TW, Haas CN. A quantitative microbial risk assessment model for Legionnaires' disease: animal model selection and dose-response modeling. *Risk Anal* 2007 ; 27 : 1581-96.
86. Schoen ME, Ashbolt NJ. An in-premise model for *Legionella* exposure during showering events. *Water Res* 2011 ; 45 : 5826-36.
87. Hines SA, Chappie DJ, Lordo RA, et al. Assessment of relative potential for *Legionella* species or surrogates inhalation exposure from common water uses. *Water Res* 2014 ; 56 : 203-13.
88. Bhopal RS, Fallon RJ, Buist EC, Black RJ, Urquhart JD. Proximity of the home to a cooling tower and risk of non-outbreak Legionnaires' disease. *BMJ* 1991 ; 302 : 378-83.
89. Brown CM, Nuorti PJ, Breiman RF, et al. A community outbreak of Legionnaires' disease linked to hospital cooling towers: an epidemiological method to calculate dose of exposure. *Int J Epidemiol* 1999 ; 28 : 353-9.
90. Walser SM, Gerstner DG, Brenner B, Holler C, Liebl B, Herr CE. Assessing the environmental health relevance of cooling towers – A systematic review of legionellosis outbreaks. *Int J Hyg Environ Health* 2014 ; 217 : 145-54.
91. Nguyen TM, Illef D, Jarraud S, et al. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers—how far can contaminated aerosols spread? *J Infect Dis* 2006 ; 193 : 102-11.
92. Nygard K, Werner-Johansen O, Ronsen S, et al. An outbreak of legionnaires disease caused by long-distance spread from an industrial air scrubber in Sarpsborg, Norway. *Clin Infect Dis* 2008 ; 46 : 61-9.
93. Centre national de référence des légionelles, Préfecture du Pas-de-Calais, DRIRE, du Nord Pas-de-Calais, DDASS, du Pas-de-Calais, Institut national de veille sanitaire. *Epidémie communautaire de légionellose Pas-de-Calais, France, novembre 2003-janvier 2004*. France : Institut de veille sanitaire, 2004.
94. Jacob M, Ramos HC, Morgado B. Severe *Legionella Pneumophila* infection in an immunocompetent patient: a success story 300 kilometers away. *Cureus* 2016 ; 8 : e937.
95. Davies JF, Miles REH, Haddrell AE, Reid JP. influence of organic films on the evaporation and condensation of water in aerosol. *PNAS* 2013 ; 110 : 8807-12.
96. Blatny JM, Ho J, Skogan G, Fykse EM, Aarskaug T, Waagen V. Airborne *Legionella* bacteria from pulp waste treatment plant: aerosol particles characterized as aggregates and their potential hazard. *Aerobiologia* 2011 ; 27 : 147-62.

97. Berendt RF. Influence of blue-green algae (cyanobacteria) on survival of *Legionella pneumophila* in aerosols. *Infect Immun* 1981 ; 32 : 690-2.
98. Berk SG, Ting RS, Turner GW, Ashburn RJ. Production of respirable vesicles containing live *Legionella pneumophila* cells by two *Acanthamoeba* spp. *Appl Environ Microbiol* 1998 ; 64 : 279-86.
99. Bouyer S, Imbert C, Rodier MH, Hechard Y. Long-term survival of *Legionella pneumophila* associated with *Acanthamoeba castellanii* vesicles. *Environ Microbiol* 2007 ; 9 : 1341-4.
100. Buse HY, Ashbolt NJ. Counting *Legionella* cells within single amoeba host cells. *Appl Environ Microbiol* 2012 ; 78 : 2070-2.
101. Isberg RR, O'Connor TJ, Heidtman M. The *Legionella pneumophila* replication vacuole: making a cosy niche inside host cells. *Nat Rev Microbiol* 2009 ; 7 : 13-24.
102. Jager J, Steinert M. Enrichment of outer membrane vesicles shed by *Legionella pneumophila*. *Methods Mol Biol* 2013 ; 954 : 225-30.
103. Stetzenbach L. Introduction to aerobiology. In : Hurst CCR, Garland J, Lipson D, Mills A, Stetzenbach L, editors. *Manual of environmental microbiology*. Washington, DC : ASM Press, 2007.
104. Armstrong TW, Haas CN. Legionnaires' disease: evaluation of a quantitative microbial risk assessment model. *J Water Health* 2008 ; 6 : 149-66.
105. Kliment V. Similarity and dimensional analysis, evaluation of aerosol deposition in the lungs of laboratory animals and man. *Folia Morphol (Praha)* 1973 ; 21 : 59-64.
106. Palm PE, McNerney JM, Hatch T. Respiratory dust retention in small animals; a comparison with man. *AMA Arch Ind Health* 1956 ; 13 : 355-65.
107. Rechnitzer C, Williams A, Wright JB, Dowsett AB, Milman N, Fitzgeorge RB. Demonstration of the intracellular production of tissue-destructive protease by *Legionella pneumophila* multiplying within guinea-pig and human alveolar macrophages. *J Gen Microbiol* 1992 ; 138 (8) : 1671-7.
108. Ader F, Le Berre R, Fackeur R, et al. *In vivo* effect of adhesion inhibitor heparin on *Legionella pneumophila* pathogenesis in a murine pneumonia model. *Intensive Care Med* 2008 ; 34 : 1511-9.
109. Ambroise D. *Influence de la variabilité de la mesure des bactéries de l'air sur l'évaluation du risque infectieux : exemple de la légionellose*. Nancy-I : université Henri Poincaré, 2003.
110. Armstrong TW, Haas CN. Quantitative microbial risk assessment model for Legionnaires' disease: assessment of human exposures for selected spa outbreaks. *J Occup Environ Hyg* 2007 ; 4 : 634-46.
111. US-EPA. *Microbial risk assessment (MRA) tools, methods and approaches for water media*. Washington DC : US Environmental Protection Agency, 2014.
112. Azuma K, Uchiyama I, Okumura J. Assessing the risk of Legionnaires' disease: the inhalation exposure model and the estimated risk in residential bathrooms. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013 ; 65 : 1-6.
113. Bouwknecht M, Schijven JF, Schalk JA, de Roda Husman AM. Quantitative risk estimation for a *Legionella pneumophila* infection due to whirlpool use. *Risk Anal* 2013 ; 33 : 1228-36.
114. Muller D, Edwards ML, Smith DW. Changes in iron and transferrin levels and body temperature in experimental airborne legionellosis. *J Infect Dis* 1983 ; 147 : 302-7.
115. Baskerville A, Fitzgeorge RB, Broster M, Hambleton P, Dennis PJ. Experimental transmission of legionnaires' disease by exposure to aerosols of *Legionella pneumophila*. *Lancet* 1981 ; 2 : 1389-90.
116. Harper GJ, Morton JD. The respiratory retention of bacterial aerosols: experiments with radioactive spores. *J Hyg (Lond)* 1953 ; 51 : 372-85.
117. WHO. *Quantitative microbial risk assessment: application for water safety management*. Geneva, Switzerland : WHO, 2016.
118. Dusserre E, Ginevra C, Hallier-Soulier S, et al. A PCR-based method for monitoring *Legionella pneumophila* in water samples detects viable but noncultivable *legionellae* that can recover their cultivability. *Appl Environ Microbiol* 2008 ; 74 : 4817-24.
119. Mirzaee SA, Nikaeen M, Hajizadeh Y, Nabavi BF, Hassan-zadeh A. Detection of *Legionella* spp. by a nested-PCR assay in air samples of a wastewater treatment plant and downwind distances in Isfahan. *Adv Biomed Res* 2015 ; 4 : 48.
120. Montagna MT, De Giglio O, Cristina ML, et al. Evaluation of *Legionella* air contamination in healthcare facilities by different sampling methods: an italian multicenter study. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14 (7). pii : E670.
121. Palmer CJ, Bonilla GF, Roll B, Paszko-Kolva C, Sangermano LR, Fujioka RS. Detection of *Legionella* species in reclaimed water and air with the EnviroAmp *Legionella* PCR kit and direct fluorescent antibody staining. *Appl Environ Microbiol* 1995 ; 61 : 407-12.
122. Sirigul C, Wongwit W, Phanprasit W, Paveenkittiporn W, Blacksell SD, Ramasoota P. Development of a combined air sampling and quantitative real-time PCR method for detection of *Legionella* spp. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006 ; 37 : 503-7.
123. Gomez-Valero L, Rusniok C, Rolando M, et al. Comparative analyses of *Legionella* species identifies genetic features of strains causing Legionnaires' disease. *Genome Biol* 2014 ; 15 : 505.
124. Prasad B, Hamilton KA, Haas CN. Incorporating time-dose-response into *Legionella* outbreak models. *Risk Anal* 2017 ; 37 : 291-304.
125. Fields BS, Haupt T, Davis JP, Arduino MJ, Miller PH, Butler JC. Pontiac fever due to *Legionella micdadei* from a whirlpool spa: possible role of bacterial endotoxin. *J Infect Dis* 2001 ; 184 : 1289-92.
126. Blander SJ, Horwitz MA. Vaccination with the major secretory protein of *Legionella pneumophila* induces cell-mediated and protective immunity in a guinea pig model of Legionnaires' disease. *J Exp Med* 1989 ; 169 : 691-705.
127. Friedman H, Klein TW, Widen R, Newton C, Blanchard DK, Yamamoto Y. *Legionella pneumophila* immunity and immunomodulation: nature and mechanisms. *Adv Exp Med Biol* 1988 ; 239 : 327-41.
128. Allegra S, Leclerc L, Massard PA, Girardot F, Riffard S, Pourchez J. Characterization of aerosols containing *Legionella* generated upon nebulization. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 33998.
129. Perinel S, Forest V, Landraud M, et al. Deposition pattern of aerosolized *Legionella* using an *ex vivo* human-porcine respiratory model. *Int J Hyg Environ Health* 2018 ; 221 : 252-9.
130. Pourchez J, Leclerc L, Girardot F, Riffard S, Prevot N, Allegra S. Experimental human-like model to assess the part of viable *Legionella* reaching the thoracic region after nebulization. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0186042.

- 131.** Phillips L, Moya J. The evolution of EPA's exposure factors handbook and its future as an exposure assessment resource. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2013 ; 23 : 13-21.
- 132.** Phillips LJ, Moya J. Exposure factors resources: contrasting EPA's exposure factors handbook with international sources. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2014 ; 24 : 233-43.
- 133.** Schlosser O, Martin-Ruel S, Courtois S. *Legionella* en station d'épuration des eaux usées : évaluation et prévention du risque professionnel. *Eau Ind Nuis* 2009 ; 319 : 75-9.
- 134.** Parkin RT. Addressing susceptibility in microbial pathogen risk assessment. *Hum Ecol Risk Assess* 2004 ; 10 : 135-49.
- 135.** Addiss DG, Davis JP, LaVenture M, Wand PJ, Hutchinson MA, McKinney RM. Community-acquired Legionnaires' disease associated with a cooling tower: evidence for longer-distance transport of *Legionella pneumophila*. *Am J Epidemiol* 1989 ; 130 : 557-68.
- 136.** Jahne MA, Schoen ME, Garland JL, Ashbolt NJ. Simulation of enteric pathogen concentrations in locally-collected grey-water and wastewater for microbial risk assessments. *Microb Risk Anal* 2017 ; 5 : 44-52.
- 137.** Whiley H, Keegan A, Fallowfield H, Ross K. Uncertainties associated with assessing the public health risk from *Legionella*. *Front Microbiol* 2014 ; 5 : 501.
- 138.** Bentham R, Whiley H. Quantitative microbial risk assessment and opportunist waterborne infections – Are there too many gaps to fill? *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15 : 1150-60.
- 139.** Harder R, Peters GM, Ashbolt N, Svanström M. Using quantitative microbial risk assessment and life cycle assessment to assess management options in urban water and sanitation infrastructures: opportunities and unresolved issues. *Microb Risk Anal* 2017 ; 5 : 71-7.