

ETUDE PRELIMINAIRE SUR LA PREVALENCE DES INFECTIONS A *LEGIONELLA* *PNEUMOPHILA* AU LIBAN

Monzer Hamze, Hassan Mallat et Jacques E. Mokhbat¹

Université Libanaise, Faculté de Santé Publique, Section 3, Tripoli, Liban

¹Université Libanaise, Faculté des Sciences Médicales, Beyrouth, Liban
mhamze@monzerhamze.com

(Received 3 June 2008 - Accepted 11 March 2009)

RESUME

Après la première épidémie de "maladie des légionnaires" reconnue pour la première fois en 1976, la légionellose a été impliquée depuis dans de nombreux foyers épidémiques hospitaliers ou communautaires. Cette maladie reste un modèle de la transmission des infections de l'eau à l'homme.

Au Liban, aucune publication ou rapport scientifique sur la prévalence des infections par *Legionella pneumophila* n'a été rapporté. Ce travail a donc pour but d'étudier la prévalence de légionellose chez les malades hospitalisés pour pneumonie communautaire et les malades ayant présenté des pneumonies durant leur séjour en réanimation «pneumonies nosocomiales».

L'étude a eu lieu au Middle East Institute of Health (MEIH) à Bsalim, Metn, Liban, et à l'hôpital Nini à Tripoli, au Nord du Liban, entre avril 2004 et août 2007. Onze hôpitaux ont participé à l'étude.

Au total 242 prélèvements urinaires et 91 prélèvements pulmonaires ont été analysés, provenant de 242 patients âgés entre 16 et 71 ans : Deux cent quinze admis à l'hôpital pour pneumonies communautaires et 27 ayant présenté des pneumonies durant leur séjour en réanimation « pneumonies nosocomiales ». L'antigène urinaire a été recherché chez 242 malades; le kit Binax[®] a été utilisé pour cette recherche. Dans les sécrétions pulmonaires de 91 patients on a recherché la présence de *Legionella pneumophila* par immunofluorescence directe et par culture.

Parmi les 215 prélèvements urinaires provenant de malades hospitalisés pour pneumonies communautaires, trois seulement étaient positifs en antigène urinaire ce qui aboutit à une prévalence de 1.4% ; parmi les 27 malades admis en réanimation et qui ont présenté des pneumonies nosocomiales, il y avait un cas positif, soit 3.7 %.

Cette étude montre bien que la légionellose existe au Liban, d'où l'importance de la rechercher parmi d'autres agents responsables de pneumopathie.

Il est jugé utile que les laboratoires hospitaliers puissent posséder le test urinaire de *Legionella* et que le ministère de la Santé réalise des progrès dans l'élaboration des normes microbiologiques des eaux des hôpitaux concernant *Legionella*, pour diminuer le risque des légionelloses nosocomiales.

Mots clés: légionellose, *Legionella pneumophila*, Liban

ABSTRACT

After the first outbreak of Legionnaire disease was described for the first time in 1976, legionellosis has been increasingly recognized in association with many outbreaks, both community and hospital acquired. This disease remains a model of water borne transmission.

In Lebanon, no report has yet been published on the prevalence of *Legionella pneumophila* infections.

This study aims to evaluate the prevalence of legionellosis in hospitalized patients with community acquired pneumonia (CAP) and in patients with nosocomial pneumonia (HAP).

The study was conducted between April 2004 and August 2007. Eleven community hospitals participated to this endeavour. Laboratory evaluation was conducted in two centers (Middle East Health Institute, Bsalim, Lebanon and Nini Hospital, Tripoli, Lebanon). Two hundred and forty two urinary samples and ninety one pulmonary samples from 242 patients were analyzed. The age range was 16 to 71 years. Two hundred and fifteen were from community acquired pneumonias and twenty seven were nosocomially acquired in intensive care units. The urinary antigen was investigated in 242 patients; the Binax kit[®] was used in this research. In lung secretions of 91 patients, the presence of *Legionella pneumophila* was searched for using direct immunofluorescence method and culture.

Among the 215 urinary samples from patients with CAP, three were positive for *Legionella* antigen with a prevalence of 1.4 %. Among the 27 patients with HAP, one was positive for *Legionella* antigen with a prevalence of 3.7%.

This preliminary study reveals the fact that legionellosis is indeed present in Lebanon, hence the importance of considering it in the work-up and the management of patients with pneumonia. Hospital laboratories should therefore routinely search for this pathogen through at least urinary antigen detection. Health authorities should also enforce microbiological regulations concerning water sanitation in hospitals and in the community to prevent the establishment of this pathogen and prevent outbreaks such as those witnessed recently in many countries.

Keywords: legionellosis, *Legionella pneumophila*, Lebanon

INTRODUCTION

Depuis la première épidémie de pneumopathies à *Legionella pneumophila* en 1976, les connaissances épidémiologiques et bactériologiques de ses affections ont progressé. La maladie peut revêtir deux tableaux cliniques distincts, l'un bénin, pseudo grippal appelé fièvre de Pontiac; l'autre plus sévère à type de pneumonie dont la gravité est liée au terrain et au retard du diagnostic et du traitement (Bornstain & Fleurette, 1994 ; Edelstein, 1993 ; Jarraud *et al.*, 2000).

Plus de 50 espèces et 64 sérogroupes ont été identifiés. *Legionella pneumophila* est le plus souvent en cause : 90-98 %, tout particulièrement le séro groupe 1 responsable de 84 à 90 % des cas déclarés en France (BEH, 2002).

Cette bactérie vit naturellement dans l'environnement et prolifère dans les eaux tièdes et les endroits tièdes et humides. Elle est fréquente dans les lacs, les rivières, les

ruisseaux, les sources chaudes et divers autres gîtes aquatiques. Elle s'observe également dans le sol et dans le terreau de rempotage (Stojek & Dutkiewicz, 2006).

L'utilisation des eaux dans les diverses activités d'hygiène et de soins, de loisirs et de climatisation permet leur dispersion par aérosols favorisant la contamination humaine (Harf-Monteil & Monteil, 1997; Hugosson *et al.*, 2007; Kawano *et al.*, 2007; O'Neill & Humphreys, 2005).

Les légionelloses représentent, suivant les études de 0.5 % des pneumopathies communautaires, pour certains, jusqu'à 25 % des pneumopathies atypiques, et 10 % des pneumopathies nosocomiales pouvant aller jusqu'à 30 % lors d'épidémies hospitalières (Bornstain & Fleurette, 1994; Grove *et al.*, 2002; Jarraud *et al.*, 2002). Un cas est confirmé lorsque des signes cliniques (signes de pneumopathies et/ou signes radiologiques) sont accompagnés par des examens biologiques : culture et identification, immunofluorescence directe, sérologie, mise en évidence d'antigènes solubles dans les urines et méthodes moléculaires (De Ory *et al.*, 2000; Helbig *et al.*, 2001 ; Jaulhac *et al.*, 1998 ; Kawano *et al.*, 2007; Lo Presti *et al.*, 1998 ; Riffard *et al.*, 1998).

Au Liban, il n'existe aucune publication ou rapport scientifique sur la prévalence des infections par *Legionella pneumophila*. Ce travail a pour but d'étudier la prévalence de légionellose chez les malades hospitalisés pour pneumonie communautaire et les malades ayant présenté des pneumonies durant leur séjour en réanimation « pneumonies nosocomiales ».

L'antigène urinaire spécifique pour *Legionella pneumophila* a été recherché et sa présence dans les sécrétions pulmonaires par immunofluorescence directe et par culture sur milieu sélectif.

MATERIELS ET METHODES

Lieu et période de l'étude

L'étude a eu lieu au Middle East Institut of Health (MEIH) à Bsalim, Metn, Liban et à l'hôpital Nini à Tripoli, au Nord du Liban.

Onze hôpitaux ont participé à l'étude, trois à Beyrouth: Rizk, Militaire et MEIH, 6 au Nord: Nini, Mazloum, Haykal, Islami, Centre Hospitalier du Nord, Centre Médical Al-Yousef, et un au Mont Liban: Notre Dame de secours, Jbeil.

Malades et méthodes de diagnostic

Au total 242 prélèvements urinaires et 91 prélèvements pulmonaires sont analysés, provenant de 242 patients âgés entre 16 et 71 ans, 215 admis à l'hôpital pour pneumonies communautaires et 27 ayant présenté des pneumonies durant leur séjour en réanimation «pneumonies nosocomiales».

Recherche de l'antigène urinaire

Les urines sont collectés dans des pots stériles, acheminés au laboratoire dans des glacières à +4°C. Si l'analyse n'est pas effectuée le jour du prélèvement, les urines sont

conservées à +4°C. Le kit Binax[®] commercialisé par la société Oxoid, Dardilly, France, a été utilisé pour cette recherche. Le protocole proposé par le fabricant a été suivi pour la réalisation du test.

Recherche par immunofluorescence directe (IFD) et culture

Lors de la première partie de l'étude, la présence de *Legionella pneumophila* a été recherchée dans 91 prélèvements pulmonaires par IFD et culture sur milieu spécifique. L'IFD est réalisée en utilisant le Monofluo *Legionella pneumophila* IFA test kit (Biorad). Le protocole proposé par le fabricant a été suivi. La culture est réalisée sur milieux spécifiques de *Legionella*. Le milieu BCYE (Buffer Charcoal Yeast Extract) a été utilisé seul ou supplémenté par des antibiotiques (Biolife-Italie); conditions de culture: à 35±1°C, sans CO₂ ou avec 2.5% de CO₂.

La technique utilisée au Centre National de Référence –Lyon –France (Diagnostic des légionelloses, CNR Lyon, 2004) a été adoptée.

Identification

Les colonies sont observées à la loupe binoculaire et toute colonie suspecte fait l'objet d'une coloration de Gram, d'une recherche de l'oxydase (résultat souvent négatif ou faiblement positif), d'une recherche de la catalase (résultat généralement positif), d'une recherche de l'hydrolyse de l'hippurate (résultat positif pour *Legionella pneumophila* mais aussi pour *Legionella geestiana*, *Legionella spiritensis* et *Legionella waltersii*) et d'une inoculation en galerie API 20E (tous les caractères sont négatifs sauf, pour la majorité des espèces, l'hydrolyse de la gélatine) (Hebert, 1981; Jarraud *et al.*, 2000; Jones & Hebert, 1979).

RESULTATS

Le Tableau 1 regroupe les résultats obtenus lors de la première partie de l'étude sur les 91 prélèvements pulmonaires où, la recherche de l'antigène urinaire a été performée, la culture et l'IFD. Les résultats ont montré un cas positif en antigène urinaire, en culture et IFD. Il s'agit d'un cas de pneumonie nosocomiale.

TABLEAU 1

| Hôpital | Nbr malades | Femmes | Hommes | Ag urinaire | IFD | Culture |
|-----------------------|-------------|--------|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Nini | 13 | 5 | 8 | 13 négatifs | 13 négatifs | 13 négatifs |
| Haykal | 11 | 5 | 6 | 1 positif 10 négatifs | 1 positif 10 négatifs | 1 positif 10 négatifs |
| Rizk | 32 | 11 | 21 | 32 négatifs | 32 négatifs | 32 négatifs |
| MEIH | 23 | 12 | 11 | 23 négatifs | 23 négatifs | 23 négatifs |
| Militaire de Beyrouth | 7 | 3 | 4 | 7 négatifs | 7 négatifs | 7 négatifs |
| Islami – Tripoli | 2 | | 2 | 2 négatifs | 2 négatifs | 2 négatifs |
| CHN | 1 | | 1 | 1 négatif | 1 négatif | 1 négatif |
| Notre Dame - Jbeil | 2 | 1 | 1 | 2 négatifs | 2 négatifs | 2 négatifs |
| Total | 91 | 37 | 54 | 91 | 91 | 91 |

Nbr = nombre ; Ag = antigène ; IFD = immunofluorescence

Le Tableau 2 révèle les résultats d'analyses de 151 prélèvements urinaires réalisés lors de la deuxième phase de l'étude. On note ici la présence de trois cas de pneumonies communautaires positifs.

TABLEAU 2

| Hôpital | Nbr malades | Femmes | Hommes | Ag urinaire |
|-------------------------------|-------------|-----------|-----------|------------------------------------|
| Nini | 37 | 10 | 27 | 37 négatifs |
| Haykal | 22 | 9 | 13 | 1 positif 21 négatifs |
| Rizk | 70 | 38 | 32 | 1 positif 69 négatifs |
| MEIH | 16 | 11 | 5 | 16 négatifs |
| Islami – Tripoli | 3 | 1 | 2 | 3 négatifs |
| Al-Youssef Medical Center | 1 | | 1 | 1 négatif |
| Mazloum | 1 | 0 | 1 | 1 positif |
| Notre-Dame de Secours - Jbeil | 1 | 0 | 1 | 1 négatif |
| Total | 151 | 69 | 82 | 148 négatifs 3 positifs |

Nbr = nombre ; Ag = antigène.

Le Tableau 3 regroupe les caractéristiques des patients atteints des légionelloses.

TABLEAU 3

| Cas clinique | âge | profession | facteur de risque et antécédents | présentation clinique | Radiologie |
|--------------|-----|------------------------------|--|---|--|
| Homme (1) | 47 | Chauffeur de taxi | Tabac (1paquet / jour) lithotripsie + sonde double J | Fièvre Dyspnée Toux productive Confusion mentale | Pneumonie lobaire gauche inférieur avec épanchement pleural minime |
| Homme (2) | 43 | Menuisier | Tabac (1 paquet et demi / jour) diabète HTA | Fièvre > 40 Céphalée intense Toux productive | Broncho pneumonie bilatérale avec un foyer du segment supérieur du lobe inférieur gauche |
| Homme (3) | 66 | Commerçant | Tabac , corticothérapie | Intubé Fièvre Dyspnée | Pneumopathie bilatérale |
| Homme (4) | 47 | Fonctionnaire dans une usine | Transplanté rénale | Fièvre Dyspnée | Pneumonie lobaire gauche inférieur |

DISCUSSION

Legionella pneumophila est une bactérie ubiquiste, non commensale, à développement intracellulaire facultatif. Le diagnostic de l'infection peut être évoqué devant toute pneumopathie vu la non spécificité radiologique et/ou clinique de la légionellose. Le diagnostic peut être confirmé par des examens biologiques réalisables selon différentes

méthodes : isolement de la bactérie à partir d'un prélèvement bronchique sur milieu spécifique, présence d'antigènes solubles dans les urines, augmentation des titres d'anticorps par quatre entre deux prélèvements sanguins successifs, immunofluorescence directe positive et par les méthodes moléculaires (De Ory *et al.*, 2000; Helbig *et al.*, 2001; Jaulhac *et al.*, 1998; Kawano *et al.*, 2007; Lo Presti *et al.*, 1998; Riffard *et al.*, 1998).

Les connaissances sur l'importance clinique des autres espèces de *Legionella* sont limitées, car les tests disponibles sont orientés vers la détection du sérotype 1 de *L. pneumophila*. Les pratiques en manière courante de laboratoire réduisent la probabilité de cultiver des espèces de *Legionella* à partir des isolats cliniques. La séroconversion est souvent tardive et peut être indétectable en particulier avec des espèces autres que *L. pneumophila*. La recherche d'antigènes urinaires manque de sensibilité, ils détectent seulement des infections du sérotype 1 de *L. pneumophila*. La PCR offre des techniques extrêmement sensibles pour un diagnostic rapide pour toutes les espèces de *Legionella*, mais les limitations dans les essais courants rendent difficile sa validation (Waterer *et al.*, 2001).

Au Liban, il n'existe aucune information sur la prévalence de la légionellose. Les tests de diagnostic ne sont pratiqués dans presque la totalité des hôpitaux. En plus, la recherche de *Legionella* dans le réseau hydrique hospitalier n'est jamais réalisée. Par conséquent, la légionellose ne figure pas dans la liste des maladies à déclaration obligatoire.

Cette étude est la première tentative pour rechercher la prévalence de la légionellose au Liban. Parmi 215 prélèvements urinaires provenant de malades hospitalisés pour pneumonies communautaires, trois seulement étaient positifs en antigène urinaire ce qui aboutit à une prévalence de 1.4 % ; parmi les 27 malades admis en réanimation et qui ont présenté des pneumonies nosocomiales, il y avait un cas positif, soit une prévalence de 3,7 % ; à signaler que ce cas était positif en antigène urinaire, IFD et en culture. Ces taux sont proches des données de la littérature (Jarraud *et al.*, 2002; Muder *et al.*, 1989). Beaucoup d'études ont rapporté, l'intérêt du test urinaire dans le diagnostic des infections à *Legionella pneumophila*. Environ 80 % des malades présentent des antigènes solubles urinaires dès l'apparition des symptômes et chez certains sujets, l'élimination se prolonge durant plusieurs semaines ou plusieurs mois. La détection de cet antigène se réalise grâce à des tests commercialisés faisant appel à la radio-immunologie, à l'immuno-enzymologie ou à une immunochromatographie sur membrane. Aucun test ne permet la détection de tous les sérotypes de *Legionella pneumophila* et de toutes les espèces de légionelles. Compte tenu de la sensibilité et de la spécificité de ces tests et compte tenu de la prévalence de l'infection, la valeur prédictive positive est estimée à 86 % et la valeur prédictive négative à 95 %. Les avantages sont toutefois nombreux : précocité, rapidité, détection possible des antigènes malgré une antibiothérapie, recueil facile du prélèvement, conservation possible des urines plusieurs jours à température ambiante, plusieurs mois à 4 °C et jusqu'à 265 jours à -70° C. L'utilisation de ce test dans le diagnostic rapide de l'infection a permis une prise en charge adaptée et précoce des légionelloses et contribué de ce fait à la diminution de la mortalité (Helbig *et al.*, 2001; Montagna *et al.*, 2005 ; Stypułkowska-Misiurewicz & Pancer, 2003).

La culture des légionelles est difficile mais elle reste la méthode de choix pour un diagnostic de certitude. Les prélèvements (liquide broncho-alvéolaire, ponction transtrachéale, liquide pleural, biopsie pulmonaire broyée, crachats...) contaminés peuvent être traités par la chaleur (60 °C durant 2 minutes) ou par acidification (HCl-KCl 0.2 N, pH 2, temps de contact de 15 minutes, neutralisation à la potasse 0.1 N durant 15 minutes). Chang *et*

al. (1995), en comparant la culture à la multiplex PCR pour la détection de *Legionella* dans les échantillons d'eau, ont constaté que l'isolement de *Legionella* était possible dans les échantillons où la PCR était positive.

L'immunofluorescence directe sur les prélèvements (expectorations, aspirations trachéales, lavages bronchiques, biopsies pulmonaires, liquide pleural) fait appel à des réactifs commercialisés. La majorité d'entre eux permet le diagnostic de tous les sérogroupes de *Legionella pneumophila* mais, aucun kit ne permet la détection de toutes les espèces du genre. Cette technique, couramment employée, permet une détection des légionelles en moins de deux heures mais elle manque de sensibilité et de spécificité (réactions croisées avec *Bacteroides fragilis*, *Bordetella pertussis*, *Francisella tularensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* et *Stenotrophomonas maltophilia*) (Lück *et al.*, 1989; Wever *et al.*, 2003; Yamamoto *et al.*, 1993).

L'incidence des légionelloses pulmonaires communautaires varie considérablement selon le lieu de l'étude et la méthode de diagnostic utilisée. Dans la mesure où un grand nombre de pays manque de moyens diagnostiques appropriés ou des systèmes de surveillance capables de suivre la situation, l'ampleur réelle du problème est inconnue. En 2003, 34 de 36 pays du groupe de travail européen sur les légionelloses (soit 467.76 millions d'habitants) ont signalé un total de 4578 cas, ce qui aboutit à une fréquence moyenne en Europe de 9.8 cas par million d'habitants. D'après les données venant du Danemark, où la recherche des légionelles en cas de pneumopathie est bien développée, il serait plus réaliste d'envisager une incidence proche de 10 000 cas par an pour ces mêmes 36 pays. Aux Etats-Unis, les CDC (Centers for Diseases Control) estiment qu'entre 8.000 et 18.000 personnes contractent une légionellose chaque année mais les autorités sanitaires estiment que seulement 10 % sont déclarées. (Stypulkowska-Misiurewicz & Pancer, 2003; WHO, 2005).

En France, la surveillance de la légionellose a commencé en 1987 avec un système de déclaration obligatoire à partir des cliniciens. Entre 1988 et 1995, cinquante quatre cas en moyenne ont été déclarés chaque année et six agrégats de cas non-nosocomiaux ont été identifiés. En 1995, une évaluation des systèmes français de surveillance des maladies infectieuses a été réalisée et la révision de la surveillance de la légionellose a été considérée comme une priorité (BEH, 1997). La loi du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique a défini comme objectif prioritaire de santé publique la réduction de 50 % de l'incidence de la légionellose à l'horizon 2008 (Hubert & Haury, 1996).

Le Tableau 3 révèle les caractéristiques de ces malades. D'après ce tableau on constate que deux de ces patients ont développé la maladie en été et le troisième en automne. Les légionelloses sont observées tout au long de l'année, mais il existe un pic saisonnier en été et à l'automne (Edelstein, 1993).

Les facteurs de risque de la légionellose contractée en communauté ou à l'occasion d'un voyage sont notamment: sexe masculin, âge plus de 50 ans, tabagisme, antécédents d'alcoolisme, immunodépression, affection chronique débilante. Chez ces patients, le tabagisme est retrouvé chez les trois et le diabète chez un. Le patient 1 prenait son bain dans un espace très étroit et insuffisamment aéré, ce qui permet l'inhalation massive des gouttelettes d'eau. Le patient 2 utilisait fréquemment la climatisation dans son lieu de travail et dans la salle à coucher; le troisième était transplanté du rein et qui travaille dans une usine avec un système de climatisation centrale.

Les légionelloses nosocomiales existent sous forme épidémique, mais aussi sous forme sporadique; les taux d'incidence reportés dans la littérature sont corrélés à la disponibilité des tests de diagnostic et la présence de *Legionella* dans le réseau hydrique hospitalier (Grove *et al.*, 2002; O'Neill & Humphreys, 2005; Ozerol *et al.*, 2006; Sopena *et al.*, 2005; Stout & Yu, 1997).

Les facteurs de risque de pneumonie nosocomiale sont : chirurgie récente, intubation, ventilation assistée et utilisation de dispositifs de traitement respiratoire. Les patients les plus sensibles sont les immunodéprimés, notamment les receveurs de greffe d'organes et les patients sous corticoïdes.

Dans cette étude, la recherche de *Legionella* était positive (culture, IFD et Ag urinaire) chez un malade transféré d'un autre hôpital aux soins intensifs et qui a développé par la suite une pneumonie nosocomiale.

CONCLUSION

Cette étude montre bien que la légionellose existe au Liban, d'où l'importance de la rechercher parmi d'autres agents responsables de pneumopathie. Il est possible de réduire le risque lié aux légionelles en agissant prioritairement sur une bonne conception et sur l'entretien des circuits et des installations susceptibles de diffuser des aérosols contaminés par des légionelles: tours aérofrigorifères, jacuzzis, installations de production et de distribution d'eau chaude sanitaire (ballons de stockage, réseaux d'eau, pommeaux de douche, robinets, etc...) dans les établissements recevant du public, les établissements de santé, les établissements thermaux, les logements collectifs et les maisons individuelles.

Il est jugé utile que les laboratoires hospitaliers puissent posséder le test urinaire de *Legionella* et que le ministère de la Santé réalise des progrès dans l'élaboration des normes microbiologiques des eaux des hôpitaux concernant *Legionella*, pour diminuer le risque des légionelloses nosocomiales.

Il est important de continuer ce travail afin de mieux connaître la situation réelle de la légionellose dans ce pays.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les hôpitaux qui ont collaboré à cette étude.

REFERENCES

- BEH 2002. numéro spécial consacré à la légionellose. n° 30-31 / .
<http://www.invs.sante.fr/beh/>
- BEH 1997. Epidémiologie des maladies à déclaration obligatoire en France. Special issue.
www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=96
- Bornstain, N., Fleurette, J. 1994. In: Freney, J., Renaud, F., Hansen, D., Bollet, C. éd. *Manuel de bactériologie clinique*, Amsterdam, Elsevier, pp. 1327-1354.
- Chang, H.R., Loo, L.H., Kuah, B.G., Heng, B.H. 1995. Comparison of multiplex PCR and culture for detection of *Legionellae* in cooling tower water samples. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 26(2): 258-62.

- De Ory, F., Echevarría, J.M., Pelaz, C., Téllez, A., Mateo, M.A., López, J. 2000. Detection of specific IgM antibody in the investigation of an outbreak of pneumonia due to *Legionella pneumophila* serogroup 1. *Clin. Microbiol. Infect.*, 6(2): 64-9.
- Diagnostic des légionelloses. http://nte-serveur.univ-lyon1.fr/hcl2004/CNR_legionelles/
- Edelstein, P.H. 1993. Legionnaires' disease. *Clin. Infect. Rev.*, 16: 741-749.
- Grove, D.I., Lawson, P.J., Burgess, J.S., Moran, J.L., O'Fathartaigh, M.S., Winslow, W.E. 2002. An outbreak of *Legionella longbeachae* infection in an intensive care unit. *J Hosp. Infect.*, 52(4): 250-258.
- Harf-Monteil, C., Monteil, H. 1997. Legionella dans son milieu naturel. Colloque sur le diagnostic microbiologique et prévention des légionelloses, organisé par Section de Microbiologie Clinique et Réseau National de Santé Publique, Institut Pasteur, Paris.
- Hebert, G.A. 1981. Hippurate hydrolysis by *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol.*, 13:240-242.
- Helbig, J.H., Uldum, S.A., Lück, P.C., Harrison, T.G. 2001. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine samples by the Binax NOW immunochromatographic assay and comparison with both Binax *Legionella* Urinary Enzyme Immunoassay (EIA) and Biotest *Legionella* Urin Antigen EIA. *J. Med. Microbiol.*, 50(6): 509-516.
- Hubert, B., Haury, B. (rapporteurs) 1996. Orientations pour la révision des modalités de surveillance des maladies transmissibles en France. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 26: 115-117.
- Hugosson, A., Hjorth, M., Bernander, S., Claesson, B.E., Johansson, A., Larsson, H., Nolskog, P., Pap, J., Svensson, N., Ulleryd, P. 2007. A community outbreak of Legionnaires' disease from an industrial cooling tower: assessment of clinical features and diagnostic procedures. *Scand. J. Infect. Dis.*, 39(3): 217-224.
- Jarraud, S., Reyrolle, M., Etienne, J. 2000. *Legionella* et légionellose. In : J. Freney, F. Renaud, W. Hansen et C. Bollet, *Précis de bactériologie clinique*. Editions ESKA, Paris, pp. 1389-1405.
- Jarraud, S., Girardo, P., Reyrolle, M., Burel, E. 2002. Les légionelloses. *Revue Française des Laboratoires*, supplément au n° 339, pp. 28-34.
- Jaulhac, B., Reyrolle, M., Sodahlon, Y.K., Jarraud, S. 1998. Comparison of sample preparation methods for detection of *Legionella pneumophila* in culture-positive bronchoalveolar lavage fluids by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 36: 2120-2122.
- Jones, J.L., Hebert, G.A. 1979. *Legionnaires: the disease, the bacterium and methodology*. US Department of Health Education and Welfare, Center for Diseases Control, Atlanta, Georgia.
- Kawano, K., Okada, M., Kura, F., Amemura-Maekawa, J., Watanabe, H. 2007. Largest outbreak of legionellosis associated with spa baths: comparison of diagnostic tests. *Kansenshogaku Zasshi*, 81(2): 173-182.
- Lo Presti, F., Riffard, S., Vandenesch, F., Etienne, J. 1998. Identification of *Legionella* species by random amplified polymorphic DNA profiles. *J. Clin. Microbiol.*, 36(11): 3193-3197
- Lück, P.C., Helbig, J.H., Pilz, C., Witzleb, W. 1989. Detection of *Legionella* in clinical samples using FITC-marked antibodies. *Z. Gesamte Hyg.*, 35(10): 601-604.
- Montagna, M.T., Napoli, C., Tatò, D., Spilotros, G., Como, D., Barbuti, S. 2005. Legionellosis in Apulia (Italy): an underevaluated disease. *Ann. Ig.*, 17(1): 3-9.
- Muder, R.R., Yu, V.L., Fang, G.D. 1989. Community acquired Legionnaires' disease. *Semin. Respir. Infect.*, 4: 32-39.

- O'Neill, E., Humphreys, H. 2005. Surveillance of hospital water and primary prevention of nosocomial legionellosis: what is the evidence? *J. Hosp. Infect.*, 59(4): 273-279.
- Ozerol, I.H., Bayraktar, M., Cizmeci, Z., Durmaz, R., Akbas, E., Yildirim, Z., Yologlu, S. 2006. Legionnaire's disease: a nosocomial outbreak in Turkey. *J. Hosp. Infect.*, 62(1): 50-57.
- Riffard, S., Lo Presti, F., Normand, P., Forey, F., Reyrolle, M., Etienne, J., Vandenesch, F. 1998. Species identification of *Legionella* via intergenic 16S-23S ribosomal spacer PCR analysis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 18(3): 723-730
- Sopena, N., Sabrià, M., Neunos 2000 Study Group 2005. Multicenter study of hospital-acquired pneumonia in non-ICU patients, 127(1): 213-219.
- Stojek, N., Dutkiewicz, J. 2006. *Legionella* and other gram-negative bacteria in potable water from various rural and urban sources. *Ann Agric Environ Med.*, 13(2): 323-335.
- Stout, E.J., Yu, L.V. 1997. Legionellosis. *N.E.J.M.*, 337; 682-687.
- Stypułkowska-Misiurewicz, H., Pancer, K. 2003. Legionellosis in Poland in 2001-2002 and epidemiological situation in Europe. *Przegl Epidemiol.*, 57(4): 599-606.
- Waterer, G.W., Baselski, V.S., Wunderink, R.G. 2001. *Legionella* and community-acquired pneumonia: a review of current diagnostic tests from a clinician's viewpoint. *Am. J. Med.*, 110(1): 41-48.
- Wever, P.C., Notermans, D.W., Tulevski, I.I., Eeftinck Schattenkerk J.K.M., De Jong, M.D. 2003. Detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen in bronchoalveolar lavage fluid by an immunochromatographic assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(5): 2265.
- WHO 2005. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs285/fr/index.html>
- Yamamoto, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T. 1993. Comparison of detection methods for *Legionella* species in environmental water by colony isolation, fluorescent antibody staining, and polymerase chain reaction. *Microbiol. Immunol.*, 37(8): 617-622.