

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

جامعة جيجل

Faculté des Sciences Exactes et
Sciences de la Nature et de la vie

كلية العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biologie
Moléculaire et Cellulaire

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلية



جامعة جيجل
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المختبر
رقم الجرد : 1589

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme des
études supérieures en Biologie
Option : Microbiologie

Intitulée

La maladie des légionnaires

Membre de Jury :

Examineurs: M^{me} BENHAMADA W

Encadreur: M^{lle} LAGGOUNE Souheïla

Présenté par :

MAHROUK Houda

GUAHAMA Samia

MERIMECH Salima

Année Universitaire : 2009/2010

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tous, nous rendons grâce à Dieu qui nous a données le courage, la volonté et la patience pour accomplir ce travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à Melle Laggoune Souheila pour qu'elle ait bien voulu accepter d'être notre encadreur et nous somme extrêmement reconnaissantes pour ses conseils, sa patience et sa disponibilité.

Nous tenons à remercier l'examineur Ben hamada W d'assister à notre soutenance

Nous remercions très sincèrement, le personnel de PARAMEDICAL de Jijel pour le bon accueil et la bonne prise en charge.

Nos remerciements s'adressent également à tous ceux qui nous ont aidées de près ou de loin à accomplir ce travail.



Les abréviations

- **LLAPs** : Legionella Like Amoebal Pathogens
- **CYE**: Charcoal Yeast Extract
- **CLPH**: Chromatographie Liquide Haute Performance
- **CPG**: Chromatographie Gaz Liquide
- **LPS** : Lipo Poly Saccharide
- **MOMP** : Major- Outer Membran Protein
- **IFI** : Immuno Fluorescence Indirectes
- **IRM** : Imagerie Résonance Magnétique
- **BCYE** : Buffered Charcoale Yeast Extract
- **IFD** : Immuno Fluorescence Directes
- **HSR** : Hyper Sensibility Retarded
- **Mip** : Macrophage Infectivity Potentiate
- **CDC**: Center Disease Control
- **ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- **RIA** : Radio Immuno Assay
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **EWGLI** : European-Working-Group for Legionella- Infection
- **CLIN**: les Comites de Lutte Contre les infections Nosocomiales
- **CDS_c** : English Center Communicable Disease Surveillance
- **CDC** : C'est une approche pour la perturbation des affections nosocomiales.
- **MFC/L** : Unité Formant Colonie par Litre.

Liste des tableaux

Tableau 1: classification de <i>Legionella pneumophila</i>	10
Tableau 2 : Sensibilité et spécifié des méthodes diagnostique légionellose	25

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : La maladie des legionnaires et le genre Legionella	2
I.1. Définition et historique.....	2
I.2. Présentation du Genre Legionella	3
I-3-L'écologie	4
I-3-1- Habitats	4
I.3.2. Paramètres Favorables à la survie et à la multiplication des légionelles	4
I.4. Pouvoir pathogène.....	5
I.4.1. Pouvoir pathogène naturel.....	5
I.4.1.1. Forme clinique habituelle : la maladie des légionnaires.....	5
I.4.1.2. Autres forme cliniques.....	6
I.4.2. Pouvoir pathogénie expérimentale	6
I.5. Physiopathologie et l'immunité	7
I.5.1. Mécanisme de la maladie	7
I.5.2. Virulence de L. pneumophila	8
I.5.3. L'immunité contre Legionella pneumophila.....	9
Chapitre II : Bactériologie, clinique et diagnostique de legionelloses	10
II.1. Bactériologie	10
II.1.1. Taxonomie.....	10
II-1-2 Caractères morphologiques et cultureux	10
II.1.3. Caractères métaboliques et facteurs de croissance.....	12
II.1.4. Structure chimique et antigénique	13
II.2. Clinique	16
II.2. 1. Forme classique (maladie des légionnaires).....	16
II.2.2. Formes inapparentes.....	16
II.2.3. Formes Bénignes	17
II.2.4. Formes extra pulmonaires	17
II.3. Diagnostic.....	19
II.3.1. Diagnostic clinique.....	19
II.3.2. Diagnostic Bactériologique et sérologique.....	19
II.3.2.1. Diagnostic direct	20
II.3.2.1.1. Mise en culture du prélèvement	20
II.3.2.1.2. Examen des prélèvements en immunofluorescence	
Directe	22
II.3.2.1.3. Détection par sondes nucléiques	22
II.3.2.1.4. Détection par amplification génique	23
II.3.2.1.5. Recherche d'antigènes solubles.....	24
II.3.3. Diagnostic sérologique	24
Chapitre III: Epidémiologie, prévention et traitement de legionelloses.....	26
III.1.1. Circonstances épidémiologiques.....	26
III.1.2. Taux d'attaque	26
III.1.3. Influence climatique et saisonnière.....	26

III.1.4. Facteurs de risques.....	27
III.1.5. Les voies de transmission	28
III.1.5.1. Inhalation d'aérosols contaminés.....	28
III.1.5.1.1. Nature de L'aérosol	28
III.1.5.1.2. Situations entraînant la formation d'aérosols.....	28
III.1.5.1.3. Les systèmes de traitement de L'air.....	28
III.1.5.1.4. L'eau à usage domestique	28
III.1.5.1.5. Les eaux thermales.....	29
III.1.5.2. Instillation directe	29
III.1.5.3. Contamination par voie digestive.....	29
III.1.6. Incidence des légionelloses	30
III.2. Surveillance épidémiologique	31
III.3. Prévention.....	32
III.3.1. Mesures Générales de prévention.....	32
III.3.2. Stratégie d'action devant la survenue de cas de légionelloses	34
III.3.2.1. Cas confirmé.....	34
III.3.2.2. Cas possible.....	34
III.3.2.3. Devant un cas isolé.....	34
III.3.2.4. Cas groupés	34
IV. Traitement	35
Conclusion.....	36

Introduction

Introduction

La légionellose est une pneumopathie due à des bacilles à Gram négatif du genre *Legionella* (Fields *et al.*, 2002). Cette maladie est la conséquence de l'altération de l'environnement au profit de l'homme. Les légionelloses sont relativement difficile à caractériser dans l'environnement et plus encore dans les prélèvements cliniques. La nature très exigeante de ces bactéries est surtout due au fait qu'elles puisent leurs nutriments et se multiplient dans un environnement intracellulaire, à l'intérieur de cellules de protozoaires dans l'environnement et dans les cellules macrophages chez l'homme. Les *Legionella* apparaissent comme des microorganismes aquatiques qui trouvent une aptitude optimale à se développer dans des environnements chauds et humides. Elles sont capables de survivre dans des conditions défavorables aux autres organismes (températures élevées, présence de biocides...) (Jarraud et Freney, 2006).

son nom vient du fait que l'affection s'est déclarée pour la première fois en 1976, chez des personnes qui participaient à un Congrès de la Légion américaine. Les légionelles sont des bactéries ubiquitaires de l'environnement que l'on retrouve avec une grande fréquence dans l'eau, en particulier sanitaire, dans laquelle elles se développent de façon optimale entre 25 et 45°C. La transmission à l'homme se fait principalement par l'inhalation d'eau contaminée diffusée en aérosol (Fields *et al.*, 2002).

Il s'agit d'une maladie sporadique avec des épidémies communautaires survenant essentiellement à la fin de l'été et en automne dont le taux d'attaque est faible soit 5% (Zahar et Kouatchet, 2008).

La survenue d'une légionellose dépend de plusieurs facteurs liés au type et à l'intensité de l'exposition, à l'âge du patient et à son statut immunitaire.

La colonisation des réseaux hydriques par *Legionella pneumophila* (Steinert *et al.*, 1998) est un excellent exemple illustrant la complexité de la gestion des systèmes trophiques :

L'infection à *Legionella pneumophila* est mal connue en Algérie et généralement en pays en voie de développement, pour cette raison on a choisissais ce thème pour donner quelques informations sur cette infection.

Notre travail a été organisé en 3 chapitres :

- Le premier, englobe des généralités sur le genre *Legionella* et la physiopathologie.
- Le 2^{ème} chapitre, renferme la bactériologie, diagnostic et clinique.
- Alors qu'on parle dans le dernier chapitre, sur l'épidémiologie et la prévention de la maladie des légionnaires.

chapitre I:

La maladie legionnaire et le genre Legionella

I. La maladie des légionnaires et le genre *Legionella*

I.1. Définition et historique

La maladie des légionnaires est une infection respiratoire communautaire ou nosocomiale, maladie à déclaration obligatoire, elle se manifeste par des symptômes pseudo grippaux (Hygis, 1998).

L'agent responsable des infections est une bactérie appartenant au genre *Legionella*, *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 étant l'espèce majoritairement isolée.

Ces bactéries sont largement distribuées dans la nature et retrouvées dans les eaux et au niveau du sol. Dans les systèmes de distribution d'eau. Chaleur et stagnation favorisent la multiplication des germes (Hygis, 1998).

L'étude modernes des bactéries appelées à former le genre *Legionella* à commencé très récemment, en 1976, à la suite d'une large épidémie de pneumopathies survenues à Philadelphie, au cours de la convention annuelle de l'American légion (Festy *et al.*, 1993).

En 1943, Tatlock avait isolé une souche de *Legionella micdadei* sous l'appellation « Rickettsia-like » (Avril *et al.*, 1992).

En 1965 à Washington, on recensait à l'Hospital psychiatrique Sainte- Elisabeth 18 malades atteints de pneumonie grave dont 14 décédaient. L'infection avait touché les sujets dormant la fenêtre ouverte sur le parc et ceux se promenant dans ce même parc ou des travaux de terrassement étaient effectués (Avril *et al.*, 1992).

En 1968 à Pontiac, Michigan, on recensait 144 cas de maladies fébriles aiguës bénignes chez les employés et les clients d'un centre de santé, l'infection était synchronisée avec la mise en marche du système de climatisation (Avril *et al.*, 1992).

En 1973 à Benidorm en Espagne, huit touristes écossais contractaient des infections pulmonaires, trois en mouraient, ils avaient tous séjourné dans le même hôtel en juillet (Avril *et al.*, 1992).

Ultérieurement, des enquêtes sérologiques rétrospective permirent de rattacher à cette maladie plusieurs épidémies de pneumopathie aiguës inexplicables (Avril *et al.*, 1992).

En 1974 à Philadelphie, vingt personnes participaient à un congrès à l'hôtel Bellevue-Stratford onze développaient une pneumopathie sévère, deux en décédaient (Avril *et al.*, 1992).

En 1974 à Philadelphie, vingt personnes participaient à un congrès à l'hôtel Bellevue-Stratford onze développaient une pneumopathie sévère, deux en décédaient (Avril *et al.*, 1992).

Du 21 au 24 juillet 1976 à lieu à l'hôtel Bellevue- Stratford de Philadelphie, le 58^{ème} congrès de l'Américain légion (Anciens combattants).

Parmi les 4400 participants, 182 personnes (légionnaires et accompagnent) furent atteintes de pneumopathie, 15.9% en moururent, seize autres personnes présentèrent des formes asymptomatiques découvertes à posteriori, des cas identiques (appelés « pneumonies de la grand-rue ») furent observés chez des personnes qui n'étaient pas entrées dans l'hôtel, mais s'étaient trouvées dans le rue proche durant le même mois de juillet, de même, d'autres cas furent observés chez des participants à d'autres réunions dans le même hôtel, la notion d'épidémie n'apparut pas tout de suit car la plupart des cas ne ce déclarèrent qu'après la fin du congrès et ce n'est que trois jours plus tard que les praticiens de la ville alertèrent les services sanitaire, déclenchant ainsi une vaste enquête épidémiologique. Il apparut alors que la contamination s'était faite par voie aérienne dans le hall de l'hôtel ou sur le trottoir, l'agent causal, infectieux ou non, fut alors activement recherché, on chercha ainsi longtemps un métal ou un autre agent toxique dans les tissus des sujets décédés ; d'autre part, on employa 14 types de milieux bactériologiques au mycologiques et 13 types de cultures cellulaires afin de mettre en évidence un éventuel agent infectieux (Avril *et al.*, 1992).

Finalement, le 18 janvier 1977, Macdade et Coll. annoncèrent qu'une bactérie à Gram négatif avait été isolée de fragments. Pulmonaires prévenant de 4 des sujet décédés, ces broyats de poumon furent inoculés, par voie péritonéale, à des cobayes qui présentèrent en quelque jours une maladie fébrile mortelle, les examens de frottis de foie et de rate montrèrent de nombreux bacilles et l'inoculation d'un broyat de ces organes dans la membrane vitelline d'œufs embryon nés entraîna leur mort en 4 à 6 jours, le rôle étiologique de cette bactéries dans l'épidémie de Philadelphie fut démontré par immunofluorescence indirecte sur des sérums de convalescents de la maladie (Avril *et al.*, 1992).

On constate donc qu'il ne s'agissait pas d'une maladie nouvelle, finalement en 1980, cette bactérie fut dénommée *Legionella pneumophila* (Avril *et al.*, 1992).

I.2. Présentation du Genre *Legionella*

Les legionelles sont des bacilles Gram négatif aérobies, Dans la nature, ce sont des parasites des microorganismes unicellulaires, alors que chez l'homme ce sont des envahisseurs opportunistes des cellules phagocytaires elles sont retrouvées également très souvent dans les systèmes de distribution d'eau (Assous *et al.*, 1999).

I-3-L'écologie

1-3-1- Habitats

Les *Legionella* sont des bactéries aquatiques banales de notre environnement naturel, on les trouve dans l'eau (chaude de préférence) où leur survie est longue : lacs, rivières, marais, terres humides, conduites d'eau, dans l'air : vapeur d'eau,.....(Edelstein, 1985 ; Bornstein et Fleurette, 1992).

L'étude des cas de légionellose a montré que la présence du germe est liée à la proximité de travaux de terrassement, de réservoirs hydriques, d'aérosols engendrés soit par les tours de réfrigération des systèmes de climatisation, soit par les pommeaux de douches, les robinets grand ouverts(Avril *et al.*, 1992).

Les réservoirs naturels sont très rarement à l'origine de légionelloses, à la différence des eaux « domestiquées » qui constituent des sites de prolifération et de dissémination (Brucker, 1998).

La présence ubiquitaire des légionelles est une apparence paradoxale pour des micro-organismes ayant des exigences de cultures particulières. Ce contraste a suscité l'hypothèse selon laquelle les légionelles ne seraient pas libres dans l'environnement mais hébergées par d'autres organismes (amibes libres telles *Acanthamoeba* ou *Naegleria fowbri*). L'inclusion de *Legionella* dans les kystes des amibes leur permet de survivre dans des conditions très défavorables et par la suite d'amplifier leur présence. Les légionelles sont ainsi protégées de l'action des agents désinfectants mais aussi des rayonnements germicides (Brucker, 1998).

I.3.2. Facteurs favorables à la survie et à la multiplication des légionelles

La multiplication qui permet d'atteindre un seuil critique est en fonction de plusieurs paramètres (WHO, 1998).

- **Température de l'eau**

La température idéale de multiplication de *Legionella* est de 40°C, température fréquemment obtenue en bout de réseau.

A partir de 50°C, leur nombre diminue et les légionelles sont détruites à des températures supérieures à 60°C. Inversement, lorsque la température décroît, les *Legionelles* ralentissent ou stoppent leur multiplication, mais elles survivent eux (Brucker, 1998).

- **Stagnation de l'eau**

La Stagnation de l'eau est un facteur favorisant la multiplication des Legionelles dans la canalisation. Les lieux de prédilection du développement bactérien sont les ballons de production d'eau chaude sanitaire, les bras- morts des tuyauteries de distribution, des robinetteries (joints et têtes de robinets) et des diffuseurs de douches (Brucker, 1998).

- **Biofilm**

Les microorganismes dans le Biofilm sont protégés de l'action des désinfectants et temporairement des hautes températures par le glycocalyx qui constitue une barrière de pénétration pour les Biocides (Brucker, 1998).

La dureté de l'eau (concentration élevées de calcium et de manganèse) ou la présence de métaux (aluminium, calcium, cuivre, plomb, manganèse) ont une influence sur la présence des légionelles, la nature des joints joue également un rôle : les caoutchoucs contenant du thuram ne favorisent pas la croissance de *Legionella pneumophila*, les rondelles en néoprène la favorisent particulièrement (Brucker, 1998).

I.4. Pouvoir pathogène

I.4.1. Pouvoir pathogène naturel

Les infections humaines causées par les Legionelles sont généralement dues à *L. pneumophila* (90% des cas), les autres espèces étant plus rarement en cause et leur pathogénicité encore mal connue.

Les légionelloses surviennent en général sur un terrain particulier, elles touchent plus souvent l'homme de plus de 50 ans, le fumeur, l'éthylique, les personnes porteuses d'une affection cardio-pulmonaire chronique d'une insuffisance rénale chronique ou diabète, les sujets en état d'immunodépression cellulaire (Avril *et al.*, 1992).

I.4.1.1. Forme clinique habituelle

L'incubation dure 2 à 10 jours, après un début progressif, le malade présente la phase d'état : un syndrome infection intense et une atteinte respiratoire (pneumonie extensive mal systématisée), souvent associée à un épanchement pleural (Avril *et al.*, 1992).

Dans ¼ des cas, il existe des troubles neurologiques sous signes de focalisation (céphalées, confusion mentale, crises convulsives).

Il existe rarement une méningite, une encéphalite, une polyradiculonévrite, le mécanisme le plus souvent avancé est celui d'une toxine neurotrope (Avril *et al.*, 1992).

- Les troubles digestifs sont fréquents (diarrhées notamment).
- Le diagnostic de légionellose est donc à évoquer devant une pneumopathie très fébrile extensive associée à des manifestations extra-pulmonaires (diarrhée) survenant sur un
- Terrain privilégié, pour laquelle les examens bactériologiques usuels sont négatifs (Avril *et al.*, 1992).

I.4.1.2. Autres formes cliniques

a) Légionellose des immunodéprimés : (Légionelloses nosocomiales)

Les sujets transplantés, les malades ayant une leucémie à tricot-leucocytes, ou en cancer bronchique constituent des groupes à très haut risque, pour les sujets atteints de Sida, cancers génitaux ou du sein, ce risque semble plus faible. L'étiologie généralement pluri-microbienne et un terrain fragile font que l'évolution est souvent très grave avec un taux de létalité très élevé (environ 40%) (Avril *et al.*, 1992).

b) La fièvre de Pontiac

C'est une atteinte bénigne des voies aériennes supérieures, causée par une souche particulière de *L. pneumophila* serogroupe 1 (Avril *et al.*, 1992), l'incubation est courte (36 heures), les clichés pulmonaires sont normaux, la guérison spontanée en quelques jours (Berche *et al.*, 1988).

c) Les formes inapparentes sont fréquentes

Les études sérologiques montrent que plus de 10% de la population a un taux élevé d'anticorps anti-*pneumophila* serogroupe 1 (Avril *et al.*, 1992).

I.4.2. Pouvoir pathogénie expérimentale

Le cobaye inoculé par voie intra-péritonéale développe une maladie fébrile évoluant vers la mort en quelques jours (Avril *et al.*, 1992).

On observe pendant les 4 premiers jours une péritonite, puis le germe passe dans les vaisseaux sanguins et les lymphatiques des foyers de nécrose apparaissent ensuite au niveau de la rate, du foie, des poumons où l'on retrouve ces germes en grand nombre (Avril *et al.*, 1992).

Les bacilles sont phagocytés par les monocytes- macrophages, cellules dans lesquelles les *Legionella* peuvent survivre. La lyse de ces cellules immunitaires est à l'origine de la dissémination microbienne (Avril *et al.*, 1992).

Une réaction d'hypersensibilité retardée (H.S.R) a été mise en évidence chez des cobayes sensibilisés après inoculation de bactéries vivantes ou tuées par la chaleur.

Cette H.S.R est détectée par l'antigène protéique commun aux divers sérogroupes de *L. pneumophila* (Avril *et al.*, 1992).

Cette bactérie possède une endotoxine dont l'activité *In vivo*. Est beaucoup plus faible que celle des autres bactéries à Gram négatif. *L. pneumophila*, *L. micdadei*, *L. bozemanii* possèdent un antigène de virulence mip (macrophage infectivity potentiator) dont le gène porte par un plasmide à été cloné et Séquencé (Avril *et al.*, 1992).

I.5. Physiopathologie et l'immunité

I.5.1. Mécanisme de la maladie

Dans les voies aériennes pulmonaires, les légionelles sont ingérées par les macrophages alvéolaires résidents ces phagocytes qui sont considérés comme la première ligne de défense contre les germes envahisseurs, ne peuvent ni détruire ni même inhiber la multiplication des légionelles dans le poumon, les modèles expérimentaux de légionellose montrent que, *L. pneumophila* pousse plus vite dans les cultures de macrophages humains que dans des milieux artificiels, de plus, On a la preuve que la phagocytose et la croissance intracellulaires, sont des avènements essentiels de la pathogénicité de la maladie des légionnaires dans la maladie humaine, des coupes histologiques de tissu pulmonaire infecté montrent que la plupart des bactéries sont intracellulaires, dans la maladie expérimentale chez l'animal (Assous *et al.*, 1999).

Les légionelles, éliminées des poumons au cours des premières étapes de l'infection, sont présentes dans presque toutes les cellules, en fait, la sensibilité d'une espèce animale donnée *vis- à- vis* de l'infection peut – être extrapolée à partir de la capacité des macrophages de cette espèce à supporter la croissance des légionelles, par exemple, *L. pneumophila* se développe rapidement dans des macrophages de cobaye, *in vitro*, et ces derniers sont excrément sensibles à l'infection, alors que les légionelles ne peuvent ni pousser dans les macrophages de souris, ni infecter les souris, enfin, des souches mutants de *L. pneumophila* perdu partiellement ou complètement la capacité d'infecter les macrophages, perdent, de la même façon, la capacité à provoquer une légionellose chez des animaux sensibles (Assous *et al.*, 1999).

I.5.2. Virulence de *L. pneumophila*

L. pneumophila est une bactérie à multiplication intracellulaire facultative qui échapper aux défenses de l'hôte en parasitant les monocytes les macrophages dans lesquels elle survit les polynucléaires semblent également incapables de la détruire. Les bactéries sont dans des vacuoles de phagocytose, leur croissance pourrait être liée à la sécrétion d'une exotoxine dans le micro-environnement bactérien. Deux exotoxines ont été décrites, une cytotoxique, une hémolysine qui présente une activité lytique *vis-à-vis* des globules rouges de lapin ou de cobaye, de plus de très nombreuses enzymes sont sécrétées par *Legionella pneumophila* : protéase, lipase, DNAase, RNAase, phosphatase, leur rôle était dans la croissance intracellulaire et dans la genèse et l'excrétion des lésions pulmonaires ou extra-pulmonaires. Enfin, *L. pneumophila* présente une endotoxine qui pourrait être incriminée dans la fièvre, les céphalées, le choc ou la coagulation intra-vasculaire disséminée (Berche *et al.*, 1988).

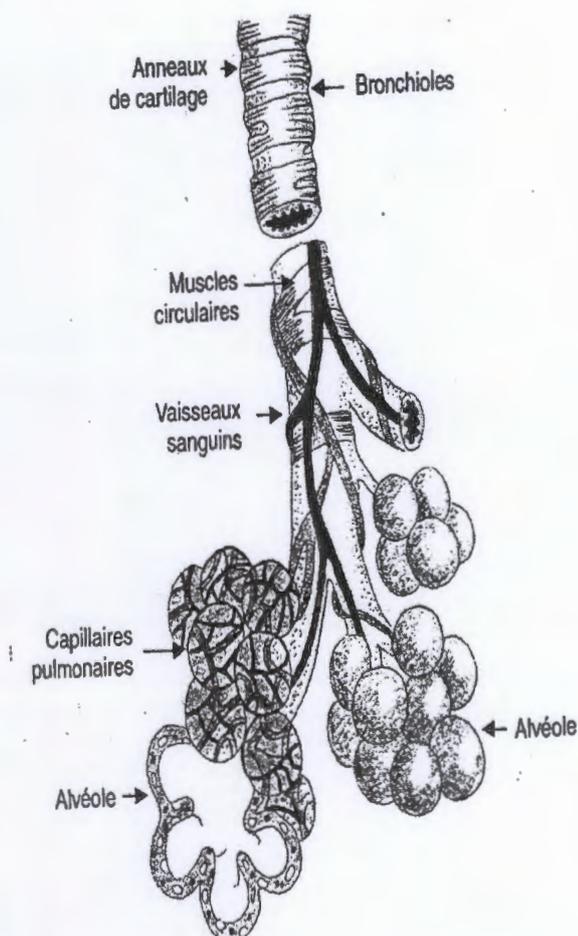


Figure 1. Schéma d'une alvéole pulmonaire (Jarraud et Freney, 2006)

I.5.3. L'immunité contre *Legionella pneumophila*

Tout port à croire que cette bactérie induit une immunité cellulaire T de pendant, lors de la maladie, un état d'hypersensibilité retardée contre des antigènes de *Legionella*, s'instaure et l'on peut mettre en évidence des cellules T circulants réagissent spécifiquement contre les antigènes de légionellose par blastogenèse pendant la phase aigue de la maladie, en fin, la croissance intramacrophagique est inhibée *in vitro* par l'adjonction de lymphokines qui activent ces macrophages (Berche *et al.*, 1988)

chapitre II:

Bactériologie, clinique et diagnostique de Legionellose

II. Bactériologie, clinique et diagnostique de legionelloses

II.1. Bactériologie

II.1.1. Taxonomie

Les *Legionella* sont aérobies, non sporulés, non capsulés. Leurs caractères phénotypiques spécifiques, notamment leurs exigences culturales en L-cystéine et en fer, et la composition particulière de leur paroi en acides gras (>70%), permettent de les rassembler dans une seule famille, les legionellaceae. Le rapport du contenu en guanine et cytosine (GC%) de leur acide désoxyribonucléique (ADN) est de 38-52 mol %. Le pourcentage d'homologie de l'ADN entre les espèces varie de 0 à 67 % (Bornstein, 2001).

La famille des *Legionellaceae* comporte l'heure actuelle 43 espèces différentes correspondant à 65 sérogroupes antigéniquement distincts. Bien qu'il y ait eu une controverse pour la séparation en trois genres *Legionella*, *Tatlockia*, *Fluoribacter*; toutes les espèces de *Legionella* sont actuellement classées dans un genre unique : *Legionella* (Bornstein, 2001).

Quelques *Legionella* ne peuvent Croître sur les milieux de culture spécifiques classiquement utilisés et ont été appelées *Legionella* Like Amoebal Pathogènes (LLAPs). Ces souches ont été isolées et cultivées avec l'hôte protozoaire (Rowbotham, 1996).

La première souche de LLAPs isolée du sol en 1954 a été appelée *Sarcobium lyticum*. L'analyse de l'acide ribonucléique ribosomal (ARNr) 16S a permis récemment de la rattacher à la famille des *Legionellaceae* (Hookey *et al.*, 1996). Ces souches peuvent être pathogènes (Rowbotham, 1996).

Le séquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S confirme la taxonomie des *Legionella* actuellement admise. L'arbre phylogénétique construit à partir des séquences des ARNr montre une très grande proximité des *Legionella* avec l'espèce *Coxiella burnetii* (Harrison et saunders, 1994).

Tableau 1: Taxonomie de *Legionella pneumophila* (Site 1)

Regne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Legionellales
Famille	Legionellaceae
Genre	<i>Legionella</i>
espèce	<i>Legionella pneumophila</i>

II-1-2 Caractères morphologiques et cultureux

La plupart des caractères décrits sont essentiellement ceux de *L. pneumophila*, l'espèce la mieux connue (Bornstein, 2001).

L. pneumophila, est un bacille à Gram négatif non acido-résistant (Avril *et al.*, 1992). Il mesure 0.2 à 0.9 μ m et apparaît coccobacillaire dans les tissus, mais devient filamenteux sur milieu artificiel et peut atteindre des dimensions de 2 à 20 μ m.



Figure 2. *Legionella pneumophila* sous microscope électronique (Site 2).



Figure 3. Aspect filamenteuse de *Legionella pneumophila* sous microscope électronique (Site 3).

L. pneumophila n'est pas sporulé. La coloration par le noir soudan fait apparaître des inclusions noires correspondant à des réserves lipidiques. Il ne possède pas de capsule polysaccharidique (Bornstein, 2001).

L'examen en microscopie électronique montre une structure procaryotique de bacille à Gram négatif avec un nucléotide filamenteux, des ribosomes, une double enveloppe avec des couches externe et interne opaques aux électrons et une couche moyenne transparente aux électrons. *L. pneumophila*, se divise par un étranglement central et comporte de nombreuses vacuoles une couche de peptidoglycanes est également visible (Bornstein, 2001).

Des flagelles ont été observés en immunofluorescence et en microscopie électronique. Ils confèrent une mobilité assez lente. La plupart des souches de *Legionella* sont flagellées, flagelle polaire ou latéral, à l'exception de *L. oakridgensis*, *L. nautarum*, et *L. londiniensis*. L'existence d'un glycocalyx (*in vitro* et *in vivo*) est controversée (Bornstein, 2001).

La présence de pili (fimbriae) de longueurs variables a été observée chez *L. pneumophila* en microscopie électronique un des gènes responsables de l'expression de ces pili a été identifié (Stone et Kwait, 1998) et mis en évidence chez 13 des sérogroupes de *L. pneumophila* mais de façon variable dans les autres espèces, la présence de ce gène et son expression jouent un rôle probable dans la colonisation des tissus pulmonaires et dans l'invasion des amibes dans l'environnement (Bornstein, 2001).

Les *Legionella* sont des bactéries aérobies strictes dont la croissance peut être favorisée par la présence de CO₂ (2.5%). Surtout lors du premier isolement. Elles cultivent en milieu légèrement acide pH 6.9, mais tolèrent des pH inférieurs à 6.5 et même à 5.5 (Bornstein, 2001).

La température optimale de croissance est de 35°C mais *L. pneumophila* peut cultiver à 42°C et par fois même à 50°C (Jones et Hebert, 1979).

Le milieu gélosé spécifique de la culture des *Legionella* est le milieu Charcoal Yeast Extrait (CYE) qui comporte extrait de levure, L-Cystéine, pyrophosphate ferrique et charbon (Feeley *et al.*, 1979). Sur ce milieu, la croissance est visible en 3 à 7 jours à partir de produits pathologiques, parfois plus tard. Les colonies sont grises, muqueuses, polymorphe et présentent un aspect dit en « verre brisé » lorsqu'elles sont observées à la loupe (Bornstein, 2001).



Figure 4. Aspect des colonies sur le milieu (CYE) (Site 4).

En milieu liquide, après une phase de latence de 3 à 5 heures, la croissance des *Legionella* est relativement lente, le temps de génération est de 4 heures et la croissance maximale est atteinte après 40 heures (Bornstein, 2001).

II.1.3. Caractères métaboliques des *Legionella*

Les aminoacides ont un rôle indispensable dans le métabolisme des *Legionella* lors de leur croissance. L'exigence en L-cystéine caractéristique des *Legionella*, est un élément fondamental lors de leur identification. Même après adaptation, la L-cystéine reste indispensable à leur culture, à l'exception d'une espèce : *L. oakridgensis*. La présence de fer apporté sous forme de pyrophosphate, de nitrate ou d'hémine, est également nécessaire à leur croissance, en particulier lors de l'isolement initial (Bornstein, 2001).

Dans la fonction respiratoire des *Legionella*, interviennent des ubiquinones qui ont une structure particulière chez les *Legionella*. L'analyse de ces ubiquinones en Chromatographie Liquide Haute Performance (CLPH) permet de classer les *Legionella* en grands groupes d'espèces. De nombreuses enzymes ont été détectées chez les *Legionella* (phosphatases, estérases, protéases, bêtalactamases, catalases.....). L'analyse des variations de mobilité électrophorétique de certaines de ces enzymes (isoenzymes) a permis de déterminer des types électrophorétiques, confirmant la classification taxonomique des espèces. Ces types sont utilisés à l'intérieur de certaines espèces comme marqueurs épidémiologiques (Bornstein, 2001).

L'infiltration initiale est suivie rapidement d'une zone de condensation, unique ou multiple, siégeant surtout dans les lobes inférieurs ; abcès et cavernes surviennent rarement.

Par ailleurs, des anomalies biologiques sont également observées. Certaines peu spécifiques témoignent du caractère systémique de la maladie : Atteintes rénale et hépatique, polynucléose sanguine, signes d'insuffisance respiratoire. D'autres, telles qu'hyponatrémie, augmentation des transaminases et surtout hypophosphatémie seraient plus caractéristiques des légionelloses (Bornstein, 2001).

II.1.4. Structure chimique et antigénique

La paroi des *Legionella* se caractérise par la présence de peptidoglycanes de structure proche de celle des autres bacilles à Gram négatif. Sa richesse en acides gras ramifiés qui, chez les *Legionella*, arrivent à constituer jusqu'à 90% de l'ensemble des thermophiles. La composition en acide gras, étudiées en Chromatographie Gaz liquide (CPG) permet de différencier les espèces de *Legionella* (Marmet *et al.*, 1988).

Sur la membrane externe, l'analyse électrophorétique (SDS-PAGE) révèle, chez toutes les souches de *L. pneumophila*, la présence d'une protéine dit majeure ayant un poids moléculaire de 29 KDa (Bornstein, 2001).

La structure antigénique des *Legionella* est plus ou moins bien connue et a surtout été étudiées chez *L. pneumophila* (Bornstein, 2001).

Sur la membrane externe, il existe une activité antigénique : le Lipo-polysaccharide (LPS), la protéine majeure (Major Outer Membrane Protéine [MOMP]), protéine majeure de la membrane externe, et d'autre, antigènes protéiques (Bornstein, 2001).

La structure générale du LPS des *Legionella* est semblable à celle des autres bactéries à Gram négatif, mais sa composition chimique est différente. Il contient des sucres, une forte proportion d'acides gras ramifiées et peu d'acides gras hydroxylés. Son activité biologique est conforme à celle d'une endotoxine. La chaîne polysaccharidique est le support de l'antigénicité O et elle est caractéristique de chaque séro groupe de *L. pneumophila*. Chez les patients, les anticorps détectés par la réaction d'Immunofluorescence Indirectes (IFI) sont, en majorité, dirigés contre le LPS (Bornstein, 2001).

La MOMP est présente chez tous les sérogroupe de *L. pneumophila* et serait spécifique de cette espèce (Ehret et Ruckdeschel, 1985).

D'autres antigènes protéiques ont été mis en évidence par électrophorèse (SDS-PAGE) et immunoblotting, parmi eux, un antigène de 57-62 KDa de situation profonde dans la membrane à été retrouvé chez toutes les espèces de *Legionella*, ainsi que chez d'autres espèces de bacilles à Gram négatif (Ministère de la Santé, 1997).

L'identification de *L. pneumophila* est représentée dans la figure suivante (figure :5)

Aspect des colonies suspectes :
 - colonies arrondies brillantes à 3 jours, blanchâtres possibilité d'un poutour rosé. Plus lourages si incubation prolongée ;
 - Aspection verre fritté à la loupe binoculaire ;
 - autofluorescence sous UV (quelques autres autres que L.pneuphila).

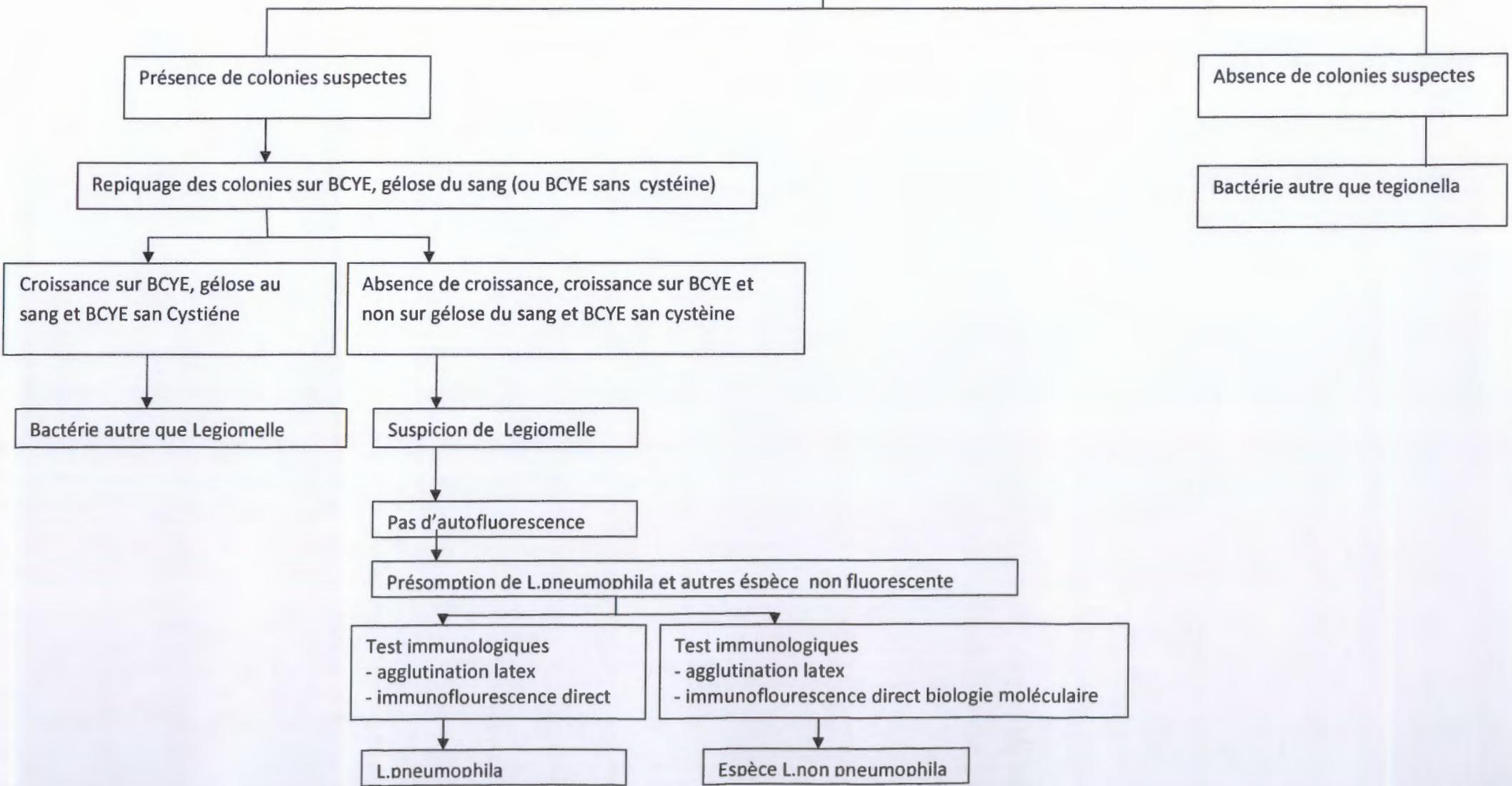


Figure 5 : Shéma générale d'identification de L.Pneophila d'après Stout et al (1992)

-14-

II.2. Clinique

Les légionelloses se présentent cliniquement sous, des formes et une gravité très variées, avec des manifestations pulmonaires et extrapulmonaires (Edelstein et Meyer, 1994 ; Plouffe et File, 1999 ; Stout et Yu, 1997).

Le tableau clinique de légionelloses n'est pas spécifique, ce qui rend souvent très difficile le diagnostic différentiel avec les autres pneumonies bactériennes ou avec les pneumonies atypiques. Il peut aller de la pneumonie aiguë, forme la plus fréquente, décrite pour la première fois à Philadelphie en 1976, et appelée maladie des légionnaires, à la forme fébrile d'évolution bénigne dite fièvre de Pontiac, en passant par des formes extraréspiratoires. Si *L. pneumophila* sérotype 1 est le plus souvent responsable de la maladie des légionnaires, toutes les espèces de *Legionella* peuvent être à l'origine de légionelloses, en particulier chez les malades en immunosuppression : *L. anisa* chez des patients atteints de leucémie, *L. micdadei* dans un lupus érythémateux, *L. bozemanii* chez des malades atteints du sida, *L. longbeachae* après une transplantation cardiaque (Bornstein, 2001).

II.2. 1. Forme classique

Après une incubation de 2 à 10 jours, les malades présentent de la fièvre, un malaise général, des myalgies, des céphalées parfois sévères, de l'anorexie et une toux sèche sans signes rhinopharyngés (Bornstein, 2001).

En quelques jours, la toux devient plus importante, avec douleurs thoraciques, dyspnée fréquente et parfois expectoration purulente ou sanglante (Bornstein, 2001).

Une insuffisance respiratoire grave observée lorsque les lésions pulmonaires se sont étendues avec atteinte bilatérale (Bornstein, 2001).

Une insuffisance rénale aiguë avec anurie, justifiant une épuration extrarénale (Bornstein, 2001).

A côté de cette forme clinique habituelle, d'autres formes cliniques de légionelloses, de présentation et de gravité différentes, ont été décrites, dont certaines pour lesquelles les signes extrapulmonaires dominent (Bornstein, 2001).

II.2.2. Formes inapparentes

Elles ont été mises en évidence lors d'épidémies par diagnostic sérologique. Leur incidence n'est pas connue (Bornstein, 2001).

II.2.3. Formes Bénignes

Observées pour la première fois lors d'une épidémie d'affections pseudogrippales à Pontiac en 1968 et diagnostiquées rétrospectivement par sérodiagnostic comme légionellose due à *L. pneumophila* séro groupe 1, elles se présentent comme une infection aigue des voies respiratoires supérieures avec signes neurologiques (céphalées, vertiges, troubles de conscience) (Luttichau *et al.*, 1998 ; Sakai *et al.*, 1998 ; Spieker *et al.*, 1998).

Mais sans pneumonie, elles se caractérisant par une incubation courte d'environ 48 heures et une évolution spontanément favorable, sans traitement (Bornstein, 2001).

Depuis cette épidémie, d'autres épidémies de fièvre de Pontiac ont été décrites, dont certaines causées par d'autres espèces de *Legionella* (Edelstein et Meyer, 1994).

Pour la première fois, lors d'une épidémie récente apparue chez des adultes et des enfants, la souche probablement responsable (*L. pneumophila* séro groupe 1, type Olda) a pu être isolée chez l'un des enfants (Luttichau *et al.*, 1998).

II.2.4. Formes extra pulmonaires

Elles se présentent soit comme des pneumonies au cours desquelles les manifestations extrapulmonaires sont prédominantes, soit comme des syndromes atteignant divers organes à l'exclusion du poumon et pour lesquels le diagnostic s'est fait par l'isolement de la bactérie et/ou par antigénurie et/ou par une sérologie positive. Ces légionelloses sont rares. Elles surviennent surtout chez les malades immunodéprimés. Elles peuvent résulter de diagnostic tardif lors de légionellose peu typique, avec alors une dissémination bactérienne par bactériémie. Si la diffusion septicémique de la bactérie est probable dans 20% des formes sévères de légionellose (Edelstein, 1993).

Sa présence dans les organes est rarement retrouvée dans ces formes extrapulmonaires et le rôle possible des exotoxines peut être envisagé.

Il peut s'agir aussi de formes nosocomiales avec porte d'entrée d'origine chirurgicale souillée par de l'eau contenant des *Legionella* (plaie sternale postchirurgicale, tube de drainage ...) ou suite à l'ingestion d'eau péritonite, colite) (Bornstein, 2001).

- **Neurologiques**

Les formes neurologiques peuvent prendre différents aspects (Sire *et al.*, 1994 ; Spieker *et al.*, 1998).

Obnubilation et confusion, voire délire et coma profond sont le témoin d'une atteinte encéphalique peut-être de nature toxique, le liquide céphalorachidien est normal ou présente une pléiocytose et une hyperprotéinorachie modérées ; l'électroencéphalogramme peut montrer des signes d'irritation cérébrale et l'imagerie par Résonance Magnétique (IRM) révéler des signes, d'atteinte encéphalique ; la tomographie est exceptionnellement anormale. Ces signes encéphaliques ne laissent généralement aucune séquelle, sauf l'amnésie de l'épisode aigu (Bornstein, 2001).

- **Cardiaques**

Les atteintes cardiaques sont localisées le plus souvent sur le péricarde, en association ou non avec une pneumonie, avec isolement de *Legionella* dans le liquide de ponction. Des myocardites avec bradycardie et troubles du rythme ont été observées chez l'enfant, d'origine probablement toxinique. Des cas d'endocardite sur prothèse valvulaire ont été confirmés par la culture (Bornstein, 2001).

- **Digestives :**

Il s'agit d'atteintes directes du tube digestif par les *Legionella* avec péritonite, colite nécrosant et perforation, faisant figure de complications graves. Si l'atteinte hépatique est classique au cours des légionelloses, elle est probablement de nature toxinique et non due à un développement *in situ* des *Legionella*. En effet, un seul cas d'abcès hépatique a été rapporté (Sire *et al.*, 1994).

- **Rénales**

L'atteinte rénale, constatée dans 50% des cas de légionelloses et traduite par une protéinurie et une hématurie microscopiques, est en général transitoire ; mais chez 13% des malades, une insuffisance rénale aigüe peut survenir, secondaire généralement à une rhabdomyolyse (Sire *et al.*, 1994). Au cours de ces atteintes rénales, la bactérie a rarement été isolée dans le rein alors que l'antigénurie est fréquente dans les légionelloses. Un cas de pyélonéphrite interstitielle avec abcès rénal à *L. pneumophila* séro groupe 4 est décrit (Sire *et al.*, 1994).

- **Musculaires**

En dehors des myalgies banales, des myosites ont été signalées avec élévation de la créatine phosphokinase, myosites, pouvant conduire à une rhabdomyolyse, parfois associée à une myocardite asymptomatique. Dans un seul cas, des *Legionella* ont été mises en évidence dans le muscle (Warner *et al.*, 1991).

- **Cutanées**

Mis à part l'existence de rash cutané peu spécifique, des cas d'abcès avec isolement de *Legionella* ont été rapportés au cours d'une infection périrectale à *L. pneumophila* succédant à une diffusion hématogène ou au cours d'une légionellose à *L. micdadei* chez un malade atteint de sida. Des sur infections nosocomiales de fistules, d'hémodialyse ont été observées (Bornstein, 2001).

- **Diverses**

Des localisations variées ont été aussi signalées de manière anecdotique. C'est le cas des atteintes rétiniennes, d'un cas de sinusite maxillaire à *L. pneumophila* séro groupe 1, de septicémies chez des malades immunodéprimés et d'atteintes hématologiques (Thrombopénie isolée, coagulopathie de consommation, purpura, anémie hémolytique) (Bornstein, 2001).

II.3. Diagnostic

II.3.1. Diagnostic clinique

Les légionelloses sont des pneumopathies soit acquises dans la communauté (les plus fréquentes), soit nosocomiales, et dans les deux cas elles peuvent être sporadique, endémiques, ou épidémiques. Lorsqu'elles sont communautaires et qu'elles surviennent en l'absence de tout contexte épidémique, il faut pouvoir les différencier des pneumonies – causées par d'autres micro-organismes (Bornstein, 2001).

Si le tableau clinique de légionellose n'est pas typique, l'association de certains éléments symptomatiques peut orienter le clinicien. Ainsi, dans sa forme classique, la légionellose se caractérise par une pneumonie fébrile, associée à une diarrhée aqueuse non sanguinolente et un état confusionnel, ce qui ne s'observe ni dans les pneumopathies atypiques, ni dans le pneumocoque (Bornstein, 2001).

Bien que tardive, la résistance au traitement par les bêta-lactamines est un bon élément d'orientation. Certains indiquent que les signes de bradycardie peuvent aussi être un élément différentiel. Des autres pneumonies bactériennes (Bornstein, 2001). Parmi les anomalies biologiques décrites, l'hypophosphatémie serait la plus caractéristique des légionelloses, et si ni l'hyponatrémie, ni parfois l'augmentation des transaminases ne constituent par elles mêmes des critères diagnostiques spécifiques, leur association aux autres perturbations pourrait renforcer la suspicion de légionellose. D'une manière générale, le diagnostic de légionellose doit plus particulièrement être suspecté chez les patients immunodéprimés ne réagissant pas aux bêta-lactamines, provenant d'une région où des légionelloses épidémiques sont signalées, ou chez des personnes exposées à un risque professionnel (Bornstein, 2001).

Au cours des pneumopathies nosocomiales, le diagnostic de légionellose doit être évoqué en fonction des circonstances épidémiologiques et chez des sujets présentant un risque particulier (réanimation, chimiothérapie, corticothérapies...) (Bornstein, 2001).

Il existe des infections mixtes dont la fréquence n'est pas négligeable (5 à 10%) selon Edelstein (Edelstein, 1993). Qui rendent le diagnostic clinique encore plus difficile et nécessitent un diagnostic bactériologique. C'est ainsi que les Legionelles ont été trouvées à l'origine de pneumonie, en association avec *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Moraxella Catarrhalis*, *Haemophilus Sp*, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Aspergillus Sp*, *Pneumocystis carinii*, *Klebsiella Sp*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, etc. De plus, dans 20 à 30% des cas de légionellose nosocomiale confirmée, l'un de ces agents peut être isolé dans les crachats (Bornstein, 2001).

II.3.2. Diagnostic Bactériologique et sérologique

Le diagnostic biologique des légionelloses reste difficile et repose sur l'obtention de prélèvements de qualité tant pour effectuer un diagnostic direct par culture qu'un sérodiagnostic (Bornstein, 2001).

II.3.2.1. Diagnostic direct

Le diagnostic direct avec mise en évidence de l'agent étiologique dans les produits pathologiques, fait appel à différents types de méthodes (Bornstein, 2001).

II.3.2.1.1. Mise en culture du prélèvement

C'est la méthode de choix car la culture de l'agent pathogène reste le diagnostic de certitude. Son succès dépend de la nature des prélèvements (aspirations endobronchiques, lavages bronchoalvéolaires, liquides pleuraux, biopsies pulmonaires ...) et du moment où ils sont paraliés, c'est-à-dire dès l'apparition des premiers symptômes et avant toute antibiothérapie spécifique. Dans certains cas, les *Legionella* peuvent être également isolées à partir du sang et notamment des leucocytes séparés par centrifugation et lysés avant d'être mis en culture. L'isolement de l'agent responsable requiert, en raison des exigences culturelles des *Legionella*, l'emploi de milieux gélosés spécifiques CYE ou BCYE, parfois rendus sélectifs par adjonction d'antibiotiques ou d'anti-fongiques. Si ces antibiotiques restent inefficaces sur les bactéries de la flore banale, les échantillons sont traités par acidification (pH 2) avant leur mise en culture. La spécificité de la culture est de 100%, sa sensibilité de 50 à 80. Le délai de réponse est de plusieurs jours (2 à 3 jours au minimum) (Bornstein, 2001).

L'identification et la différenciation des colonies de *Legionella* reposent sur l'étude de leurs caractères cultureux (exigence en L-Cystéine), biochimiques et enzymatiques, de leurs caractères antigéniques IFD ou par agglutination à l'aide d'immunsérums spécifique, de la composition en acides gras ramifiés structuraux de la paroi et de la composition en ubiquinones en (Bornstein, 2001).

L'analyse des protéines de paroi en électrophorèses (SDS-PAGE) peut être un complément d'identification non négligeable (Bornstein, 2001).

L'association de ces différentes méthodes n'est parfois pas assez discriminante pour permettre une identification précise au niveau de l'espèce. Parmi les nombreuses méthodes de biologie moléculaire récemment développées, celles basées sur l'analyse des gènes codant pour l'ARN 16S et 23S, ou pour l'espèce intergénique 16S-23S (Benson et Fields, 1998). Semble être un outil d'avenir pour l'identification des *Legionella* (Bornstein, 2001).

La dernière étape déterminante est alors l'identification par hybridation de l'ADN, technique réservée à des rares laboratoires spécialisés, et qui pour le Centre for Disease Control (CDC) reste la méthode de référence (Bornstein, 2001).

L'isolement de l'agent étiologique et son identification sont particulièrement importants dans la perspective d'une enquête épidémiologique (Bornstein, 2001).

- Comparaison des souches isolées chez différents à la malade hospitalisés (épidémie, endémie.....) ;
- Comparaison des souches cliniques aux souches isolées du prode environnement des maladies (Bornstein, 2001).

L'ubiquité des *Legionella* dans l'environnement, en particulier de *L. pneumophila* serogroupe 1, rend nécessaire l'emploi de marqueurs épidémiologiques (anticorps monoclonaux, profils de restriction de l'ADN chromosomique en champ continu au non, profils de mobilités électrophorétiques des isoenzymes, amplification génique....) (Bornstein, 2001).

Cependant, le simple stade de l'identification complète peut parfois servir de marqueur épidémiologique car chez des malades hospitalisés et fragilisés, des espèces plus rarement désolées peuvent être impliquées : *L. pneumophila* sérotype 3, sérotype 8, *L. anisa*, *L. parisiensis*, *L. longbeachae*, *L. micdadei*, *L. feeleii*, *L. jordanis*, (Aubert et al., 1990 ; Plouffe et al., 1995 ; Bornstein et al., 1989 ; Plouffe et al., 1999).

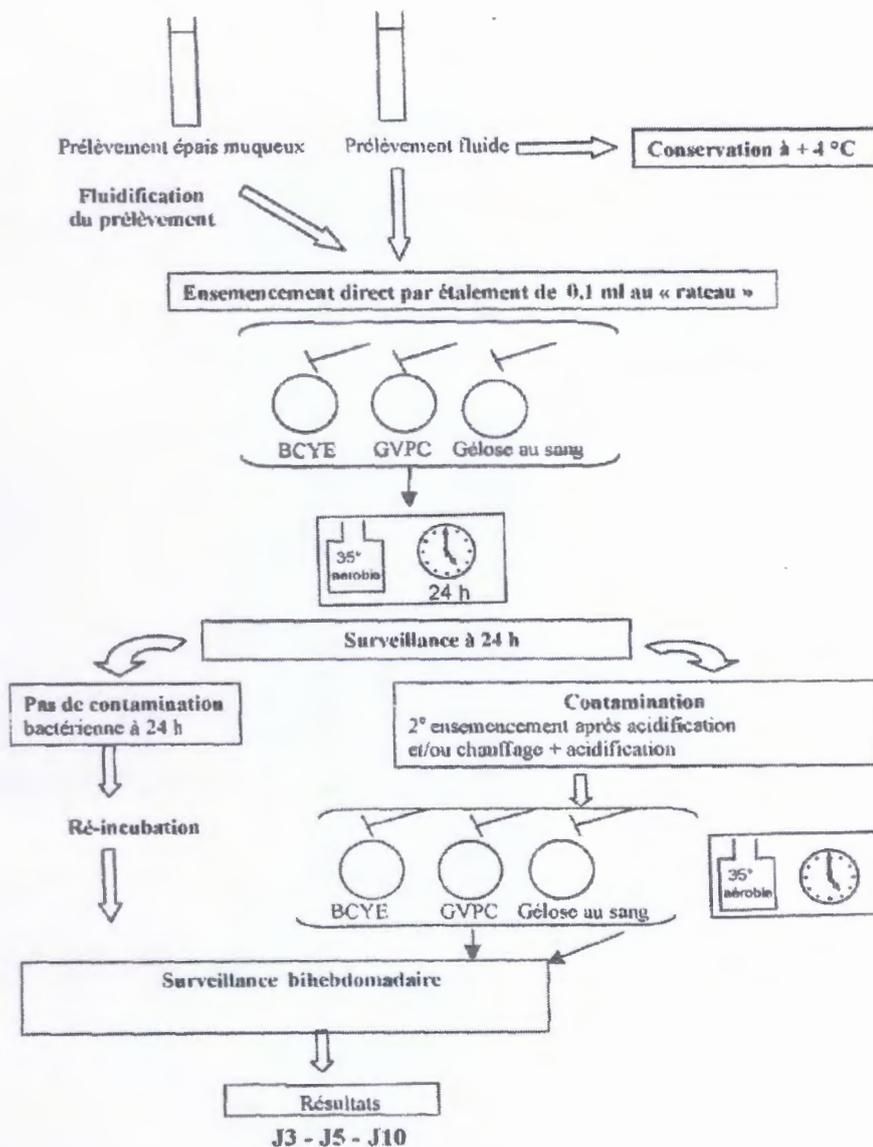


Figure 6. Mise en culture d'un prélèvement pulmonaire (Jarraud et Freney, 2006)

II.3.2.1.2. Examen des prélèvements en immunofluorescence directe

L'observation en IFD, à l'aide de conjugués polyvalents puis monovalent, permet un diagnostic rapide. Les *Legionella* apparaissent comme des petits bacilles polymorphes. Leur sensibilité est assez mal connue : 25 à 70% des prélèvements positifs en culture ont une IFD positive (Edelstein, 1993). Bien que des réactions croisées aient été décrites, notamment avec *Pseudomonas fluorescens*, *Bactéroïdes fragilise*, *Bordetella pertussis* ou *Bordetella bronchiseptic*, leur spécificité est de l'ordre de 95% lorsqu'elle est réalisée par des bactériologistes entraînés (Bornstein, 2001).

L'IFD peut également se pratiquer à l'aide d'anticorps monoclonaux qui rendent les réactions très spécifiques. Il existe en particulier un anticorps monoclonal commun à tous les sérogroupes de *L. pneumophila* (Bornstein, 2001).



Figure 7. Immunofluorescence directe (Site2)

II.3.2.1.3. Détection par sondes nucléiques

Plusieurs auteurs ont proposé des sondes destinées à l'identification de *Legionella* en culture ou dans les prélèvements. En 1985, Grimont *et al.*, on réuni fragments de restriction d'ADN Chromosomique de plusieurs souches de *L. pneumophila* et les ont utilisés comme sonde après marquage radioactif, cette méthode permet de détecter environ 10^5 bactéries (Grimont *et al.*, 1985).

D'autres sondes génomiques ou clonées ont été proposées, telle qu'une sonde reconnaissant l'ARNr 5S des *Legionella*, ou encore une sonde décrit, spécifique de l'ARN 16S du genre *Legionella* et utilisée pour mettre en évidence les *Legionella* directement dans l'environnement. Polyclonaux produits à partir de souche de *L. pneumophila* séro groupe 1 (Bornstein, 2001).

La sensibilité du test, appliqués à la recherche de *L. pneumophila* séro groupe 1, varie du 60 à 80%, sa spécificité est de 100% cependant, des réactions antigéniques croisées ont permis aussi de diagnostiquer d'autres sérogroupes de *L. pneumophila* ou d'autres espèces de *Legionella*.

Il existe des réactifs commercialisés permettant d'effectuer ce test. Parmi eux ; Boiter EIA présenterait d'avantage de détecter tous les sérogroupes de *L. pneumophila* et d'autres espèces de *Legionella* (Dominguez *et al.*, 1998).

La performance des réactifs utilisés est améliorée lorsque les urines sont chauffées et préalablement concentrées par ultrafiltration (Bornstein, 2001). Les antigènes qui sont éliminés dans les urines sont probablement de nature LPS. Ils peuvent être décelés dès les premiers jours de l'infection et jusqu'à plus de 60 jours plus tard, même une antibiothérapie adaptée, ce qui permet un diagnostic précoce dès le début des signes ou au contraire tardif (Bornstein, 2001).

L'intérêt pour cette méthode, rapide, peu coûteuse et spécifique, n'a cessé de croître ces dernières années, un bilan de 1997 au Royaume-uni montra que le test d'antigénurie a pris part au diagnostic de 60% des cas confirmés de légionellose et de 46% de tous les cas (Joseph *et al.*, 1998).

De même, parmi les 1360 cas mortifiés en Europe en 1997 (WHO, 1998). 19.5% ont été diagnostiqués par culture, 29% par séroconversion, 27% par antigénurie et 18% par diagnostic présomptif (Bornstein, 2001).

II.3.2.1.4. Détection par amplification génique

Différents systèmes d'amorces ont été initialement proposés pour la détection de *L. pneumophila* dans l'environnement, un système d'amorces et de sondes, choisi d'après la séquence du gène codant pour le gène mip, a été décrit et testé sur des prélèvements cliniques et environnementaux. Le système reconnaît spécifiquement trois espèces : *L. pneumophila* (sérogroupe 1 à 14), *L. micdadie* et *L. bozemanii* sérogroupes 1. Sa sensibilité de détection est de 50 UFC par échantillon (Jaulha *et al.*, 1992).

Une réaction commercialisée par les laboratoires parking elmer pour la recherche des *Legionella* dans l'environnement également été appliquée à des produits pathologiques (Matsiota-Bernerdt *et al.*, 1994).

Il amplifie d'une part une séquence du gène codant pour l'ARNr 5S spécifique de *Legionella* et d'autre part une séquence du gène mip spécifique de *L. pneumophila*. Sa sensibilité est de 10^2 bactéries par échantillon (Bornstein, 2001).

Plus récemment, l'amplification d'un segment de 700 bp de *L. pneumophila* a montré la présence d'ADN dans le sérum de patients atteints de pneumonie. Cet ADN résulterait soit d'une phase bactériennique, soit de la lyse bactérienne (Matsiota-Bernard *et al.*, 1997).

Sa recherche pourrait contribuer au diagnostic rapide des légionelloses (Bornstein, 2001).

Toutes ces méthodes sont encore en cours d'évaluation dans l'objectif d'une application au diagnostic de routine (Weir *et al.*, 1998).

II.3.2.1.5. Recherche d'antigènes solubles

Une autre méthode de diagnostic rapide est la recherche d'antigènes solubles dans les urines. Leur détection se fait par méthode immunoenzymatique (Enzyme- Linked Immunosorbent Assay [ELISA] ou Radio- Immunologique (RIA) utilisant le plus souvent des anticorps.

Au vu de ces résultats, le groupe EWGLI a convenu de modifier la définition en vigueur du « cas de légionellose » (Memorandum *et al.*, 1990). En considérant la détection antigénique dans les urines comme un diagnostic confirmé au lieu d'un diagnostic présomptif (Bornstein, 2001).

II.3.3. Diagnostic sérologique

Il apparaît toujours comme le monde le plus fréquent de diagnostic des légionelloses, bien qu'il soit souvent tardif, voire rétrospectif (Bornstein, 2001).

Une séquence de sérums est indispensable pour saisir la montrée d'anticorps parfois très tardive (de 1 à 9 semaines après le début de l'affection, mais en moyenne de 2 semaines) (Bornstein, 2001).

L'IFI reste la méthode de référence. Deux types différents de préparations antigéniques peuvent être utilisés à partir soit de cultures sur milieu gélose et thermo-inactivées, soit de sacs vitellins d'œufs embryonnés inoculés par voie vitelline et formoles (Bornstein, 2001).

Ces deux antigènes possédant des différences de sensibilité et de spécificité qui peuvent entraîner certaines divergences d'interprétation du sérodiagnostic (Bornstein, 2001).

Ainsi, constatait *L. pneumophila* serogroupe 1, avec l'antigène thermo inactivé (Bornstein, 2001).

Cependant, les critères d'interprétation généralement adaptés résultent des recommandations de l'organisation mondiale de santé (OMS) (Memorandum, 1990).

Et d'études de séroprévalences effectuées dans différents types de populations et chez des donneurs de sang d'origines géographiques variées (Bornstein *et al.*, 1987 ; Edelstein et Meyer, 1994).

Une variation de deux dilutions entre sérum précoce et sérum tardif, dans le cas des antigènes de *L. pneumophila* serogroupe 1, traduit une infection récente. Concernant les autres serogroupes de *L. pneumophila* et les autres espèces de *Legionella*, il n'existe pas d'évaluation internationale des antigènes, ni de standardisation de l'interprétation des résultats. La cause en est notamment la difficulté de disposer d'un grand nombre d'observations de légionelloses dues à d'autres espèces que *L. pneumophila* serogroupe 1, et pour les quelles le diagnostic a été effectué à la fois par la culture et la sérologie (Bornstein, 2001).

La controverse persiste entre les différentes équipes quant à l'utilisation systématique ou non d'antigènes autres que *L. pneumophila* séro-groupe 1, pour certaines, leur emploi doit être réservé aux enquêtes épidémiologiques (Breiman et Butler, 1998 ; Edelsteind et Meyer, 1994).

Dans notre expérience, l'utilisation d'antigènes polyvalents représentatifs d'antigènes variés de *L. pneumophila* et de *Legionella* nous a permis de déceler rapidement plusieurs cas de légionelloses, épidémiques ou endémiques, qui autrement nous auraient échappé (Aubert *et al.*, 1990 ; Bornstein *et al.*, 1989 ; Bornstein *et al.*, 1992).

Selon les auteurs, la sensibilité de la réaction IFI dans le diagnostic des légionelloses varie de 67 à 90% (Bornstein *et al.*, 1994).

Bien que des réactions croisées aient été décrites avec différentes espèces (*Compylobacter*, *Leptospires*, *Rickhsies*, *Mycoplasmes*, *Chlamydiae*), la spécificité se l'IFI reste bonne puisqu'elle varie selon les équipes et le type de préparation antigénique de 75 à 99% (Bornstein *et al.*, 1994).

A coté de l'IFI, d'autres méthodes comme l'Elisa ou la micro- agglutination ont été évaluées. La méthode de micro agglutination est une méthode de dépistage rapide en routine de laboratoire.

Tableau 2. Sensibilité et spécifié des méthodes diagnostique légionellose (Benhamou *et al.*, 2005 ; Murdoch, 2003).

Méthodes	Délai de résultat	Échantillon	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Avantages	Inconvénients
Culture	3 à 10 jours	Respiratoire	< 10-80	100	- Permet un diagnostic de certitude - Détecte toutes les espèces et séro-groupe - Indispensable pour les enquêtes épidémiologiques	- Méthode lente et peu sensible - Négativation rapide sous traitement
		Sang	< 10	100		
IFD	< 4 h	Respiratoire	25-70	> 95	- Technique rapide	- Laboratoires spécialisés - Quelques réactions croisées
Sérologie	3 à 10 semaines	Sérum	60-80	> 95	- Identification des sérogroupes	- Peu d'intérêt en aigu - Doit être interprétée avec précaution - Diagnostiques rétrospectifs
Ag soluble urinaire	< 1 h	Urine	56-80 (80 si on considère Lp1)	> 99	- Diagnostic rapide et précoce - Reste positif même sous traitement	- Ne permet la détection fiable que de Lp1
PCR	24 h	Respiratoire	80-100	> 90	- Détecte toutes les espèces et sérogroupes - Technique rapide	- Laboratoires spécialisés - Technique non encore incluse dans les critères de définition des cas
		Sérum	30-50			
		Urine	46-86			

Chapitre III:

Epidémiologie, prévention et traitement de Legionelloses

III.1. Epidémiologie, prévention et traitement de legionelloses

Les légionelloses sont observées dans tous les pays où elles sont recherchées avec les moyens appropriés, mais elles sont encore sens diagnostiquées et sens-notifiées, une étude récente estime à 1300 le nombre de cas/an aux Etats- Unis ; 1630 cas ont été déclarés en Europe en 1997, et une tendance à la hausse est observées de puis 1995 (Breiman et Buther, 1998 ; Who, 1998).

III.1.1.Circonstances épidémiologiques

Les légionelloses sont observées sous trois formes épidémiologiques.

- Il existe des épidémies d'extension plus ou moins grande dans des hôtels, dans de grands immeubles ou dans des hôpitaux ;
- Des Etats endémiques peut être observés, notamment dans des hôtels ou des hôpitaux. Ils résultent généralement, soit de retard au diagnostic clinique, microbiologique ou épidémiologique, soit de difficultés d'éradication de la source infectieuse, soit de la multiplicité des réservoirs de micro- organismes (Bornstein, 2001).
- La majorité des cas de légionelloses se présentent sous forme sporadique, du moins en apparence. En effet, les liens épidémiologiques ne sont pas toujours aisés à mettre en évidence (cas observés chez des voyageurs) et la recherche de la source de contamination est rarement effectuée (Bornstein, 2001).

Néanmoins, les légionelloses apparaissent comme l'une des maladies liées au type de civilisation urbaine actuelle (Seltzer, 1994).

III.1.2. Taux d'attaque

Au cours de la fièvre de Pontiac, ce taux est très élevé, de l'ordre de 95 à 100%. Au cours des épidémies de maladie des légionnaires, il est de 1.5 à 7% (Bornstein, 2001).

III.1.3. Influence climatique et saisonnière

Les légionelloses sont observées tout au long de l'année, Mais il existe un pic saisonnière en été et à l'automne, correspondent, notamment aux états- Unis, à l'utilisation des climatiseurs au aux voyages touristiques (Bornstein, 2001).

III.1.4. Facteurs de risques de la transmission

Ils sont bien identifiés et en particulier l'âge (>50 ans), le sexe masculin, le tabagisme, l'alcoolisme, le diabète, tous les états d'immunodépression constituent des facteurs favorisants :

Maladies immunosuppressives dont le syndrome d'immunodéficience acquise (sida), chimiothérapie anticancéreuse, corticothérapie, transplantations d'organes (rein, Cœur), greffe de moelle osseuse (Blatt *et al.*, 1994 ; Edelstain, 1993 ; Harris *et al.*, 1998).

L'exposition plus ou main prolongée ou fréquente à des sources de contamination constitue un risque non négligeable : voyages et hébergements dans des hôtels climatisés (Lephonte, 1993).

Fréquentation de centres de loisirs (centres de remise en forme, bains bouillonnants) ou de soins (établissements thermaux) (Bornstein *et al.*, 1989), risque professionnels (entretien des systèmes de climatisation, travail dans les mines et dans l'industrie textile (Memorandum, 1990).

Exposition aux brouillards émis par les tours de refroidissement, dans les hôpitaux, il n'y a pas de risque de contagion au contact des malades, mais le personnel est soumis au même risque que ceux-ci (systèmes de climatisation et/ou de distribution d'eau potable). Le risque existe aussi dans les maisons et appartements individuels (Straus *et al.*, 1996).

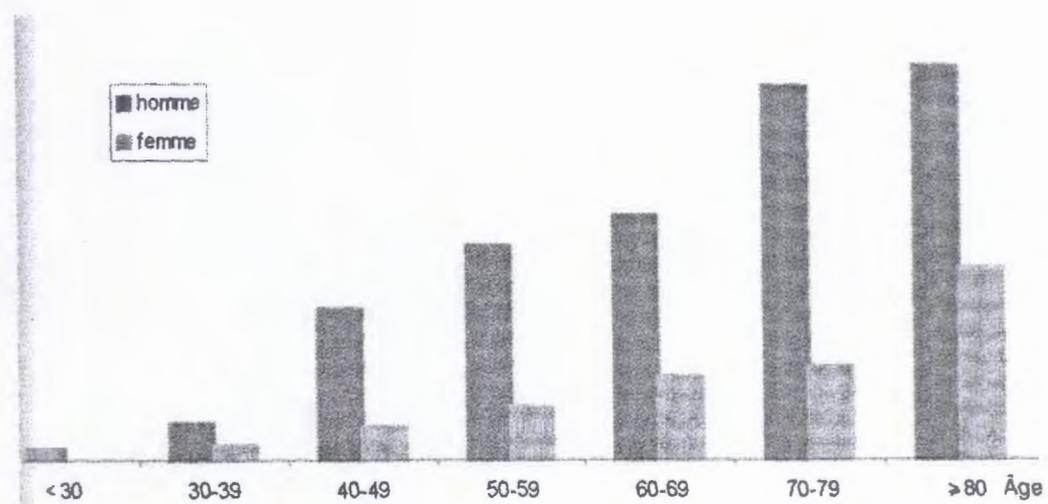


Figure 8. Incidence de la légionellose selon l'âge et le sexe, en France en 2005 (Jarraud et Freney, 2006).

III.1.5. Les voies de transmission

Aucun cas de légionellose de transmission inter humaine n'a été rapporté, mais divers modes de transmission à l'homme à partir d'un environnement contaminé ont été décrits : L'inhalation d'aérosols et l'instillation directe sont les modes les plus vraisemblables (Brucker, 1998).

III.1.5.1. Inhalation d'aérosols contaminés

III.1.5.1.1. Nature de L'aérosol

La voie aérienne est actuellement la seule voie de contamination de l'homme dont la réalité ait été formellement établie. Le risque est accru quand l'aérosol contaminé est forme de gouttelettes de taille inférieure à μm (Ellis, 1993).

III.1.5.1.2. Situations entraînant la formation d'aérosols

L'aérodorsion de l'eau nécessaire à l'inhalation des Legionelles s'observe dans divers type de situation (Brucker, 1998).

III.1.5.1.3. Les systèmes de traitement de L'air

La création d'aérosols se fait au niveau des humidificateurs (aux climatiseurs) et des tours de refroidissement (Brucker, 1998).

Le rôle des climatiseurs, longtemps évoquée comme facteur de propagation des épidémies de légionellose, est actuellement contesté avant 1982, les tours de refroidissement ont été impliquées dans presque toutes les épidémies. De puis, ce facteur a progressivement disparu au profit de la contamination des systèmes de distribution d'eau (Drass, 1995).

Toute fois le rôle des tours de refroidissement semble rester prédominant pour les cas sporadiques. Du fait de la dissémination des Legionelles par la vapeur, le lien entre la source et le cas est plus difficile à démontrer (Brucker, 1998).

D'après Hart et Makin, l'importance des deux réservoirs, tous de refroidissement et circuit d'eau chaude paraît égale (Hart et Makin, 1991).

III.1.5.1.4. L'eau à usage domestique

L'eau contaminée est disséminée par des aérosols qui se forment :

- Au niveau des douches et des robinets.
- Au cours de l'utilisation de système d'humidification.

Les Legionelles sont aéroportées par l'intermédiaire d'aérosols formes de gouttelettes d'eau et émis par les douches et les robinets d'eau chaude largement ouverts (Brucker, 1998).

En milieu hospitalier, les systèmes d'humidification (nébuliseurs, barboteurs, humidification, respirateurs). Peuvent être à l'origine d'aérosols contaminés particulièrement dangereux pour les sujets fragilises. Bien que le principal micro-organisme cité soit *Pseudomonas aeruginosa*, la contamination par *Legionella* est également documentée.

Des mesures simples d'hygiène, concernant l'utilisation de ces appareils ont alors été préconisées : utilisation d'eau stérile pour le remplissage des réservoirs désinfections avec un bactéricide de trempage. Stockage au sec en cas de non- utilisation (Brucker, 1998).

III.1.5.1.5. Les eaux thermales

Les eaux des centres de cures thermales ont été incriminées à la ce plusieurs reprises dans des *Legionelloses*. Depuis 1989, le ministère de la santé a mis en place, pour tous les établissements thermaux, un programme de surveillance épidémiologique par des contrôles microbiologiques pluriannuels à l'émergence et aux points d'usage avec recherche de *Pseudomonas* et *Legionella*, et par une surveillance clinique des curistes (Brucker, 1998).

L'immunodépression est une contre indication aux cures thermales. La circulaire du 20 juillet 1992 précise les modalités de vérification et de surveillance de la qualité des eaux thermales en cours de saison points de prélèvements en fonction de la fréquentation, de l'établissement, les fonctions décoratives (Brucker, 1998).

III.1.5.2. Instillation directe

Les inoculations directes de *Legionelles* dans l'arbre bronchique au cours de soins respiratoires pourraient être un mode de transmission important. Les patients qui ont contracté une légionellose ont statistiquement plus souvent des intubations endotrachéales pendant un temps plus long. La ventilation assistée est un facteur de risque ainsi que l'intubation nasogastrique. Dans certains cas de légionelloses extrapulmonaires, la porte d'entrée pourrait être une plaie lavée avec de l'eau contaminée par des *Legionelles* (Brucker, 1998).

III.1.5.3. Contamination par voie digestive

L'hypothèse d'une contamination par voie digestive ni semble par exclue, trois cas de légionelloses chez des transplantés rénaux. Ont été démontré pas restriction enzymatique que la machine à glace de l'unité de soins intensifs était impliquée comme source dans 2 cas sur 3 (Brucker, 1998).

III.1.6. Incidence des légionelloses

La prévalence et l'incidence des *Legionelloses* sont certaine sous-estimes, (Breiman et Butler, 1998 ; Decludt *et al.*, 1999 ; Fallon, 1994) y compris celles des *Legionelloses* nosocomiales. Il est difficile d'indiquer l'incidence escale des légionelloses. Deux études rétrospectives, citées dans un mémorandum (Mamoradum, 1990). Basées sur des techniques d'investigation incomplète, donnent des résultats divergents : respectivement qu'il s'agit d'une surveillance passive ou actène, le groupe de travail européen sur les infections à *Legionella* (European Working Group, for Legionella Infection [EWGLI]) estimé à 3-9 cas/millions d'habitants le taux d'infection en 1997 pour l'ensemble d'Europe (Avril *et al.*, 1992).

La plupart des recherches ont tente d'évaluer la proportion des pneumopathies causées par *Legionella*, les résultats sont très divergents et les causes de ces disparités tiennent à de nombreux facteurs (Stout *et al.*, 1998).

Il peut certes exister des variations géographiques, mais les divergences résultent plutôt de différences dans les méthodes d'études clinique, épidémiologique et bactériologique, il est donc nécessaire (Leophonte, 1993) de retenir avec prudence des proportions indiquées dans la littérature, les *Legionella* causeraient moins de 1% des pneumopathies soignées domicile et de 37% de celle qui, en raison de leur gravité, sont hospitalisées, le pourcentage le plus élevé concerne des malades admis dans un service de réanimation respiration (Bornstein, 2001).

Les *Legionella* seraient la cause de 0 à 47 (Hutchinson, 1990), des pneumopathies nosocomiales les valeurs les plus élevées étant observées dans les services cliniques où sont soignés certains types de patients (immunodéprimés, transplantés), les formes pédiatriques des légionelloses acquises dans la communauté ou nosocomiales ont été décrites mais ne sont pas très fréquents (Levy et Rubin, 1998).

Les valeurs indiquées doivent être interprétées en sachant que, dans la plupart des séries, de 30 à 50% des pneumopathies restent sans étiologie connue (Bornsten, 2001), il est très difficile d'indiquer avec précision la proportion d'infection causée par les différentes espèces ou Sérogroupes de *Legionella pneumophila* est la cause d'environ 80% des cas, notamment le séro groupe 1(50 à 60%).

La recherche Systématique de l'intervention des autres espèces ne peut être valablement évaluée que par la généralisation des prélèvements et cultures bactériologiques. Leur prévalence serait plus grande chez les sujets immunodéprimés (Skogberg *et al.*, 1994).

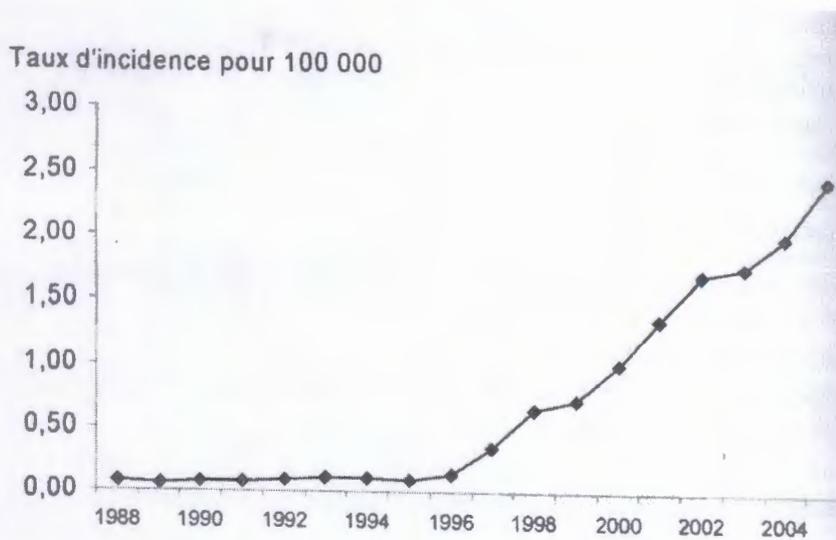


Figure 9 : Evolution du Taux d'incidence de la légionellose en France depuis 1988 à partir des données de la déclaration obligatoire (Byrd et Horwitz, 1989)

III.2. Surveillance épidémiologique

En France, elle repose sur plusieurs systèmes complémentaires : la déclaration obligatoire instaurée des 1987. Et dont l'objectif majeur est la détection des cas groupés afin d'orienter les mesures de prévention ; le centre national de référence, chargé notamment de la comparaison épidémiologique des souches cliniques aux souches environnementales ; les Comités de Lutte Contre les Infections Nosocomiales (CLIN) (Bornstein, 2001).

Le renforcement au fil des années du dispositif de déclaration de la maladie a permis une nette augmentation du nombre des cas notifiés (Decludt *et al.*, 1999).

Au dispositif national, s'ajoute un réseau européen de surveillance des légionelloses acquises lors des voyages, créé en 1993 (EWGLI) ce réseau est coordonné par le centre anglais de surveillance des maladies transmissibles (CDSC). Tout cas de légionellose observé chez une personne ayant effectué un voyage dans les 10 jours précédant le début de sa maladie doit être signalé, en précisant les lieux fréquentés par le malade, l'objectif principal de ce réseau est ici encore l'identification de cas groupés liés par une source commune d'infection, avec à terme l'instauration de mesures de prévention appropriées (Bornstein, 2001).

Ainsi, en 1997, 22% des cas de légionellose notifiés dans le cadre de l'EWGLI étaient dus à des voyages (Bornstein, 2001).

Cependant, pour beaucoup des pays européens participant à l'EWGLI, de même que pour les Etats-Unis, comme le souligne le CDC, la difficulté reste le sous-diagnostic et la sous-notification des cas de légionelloses. Cette difficulté s'observe certainement à l'échelle internationale (Bornstein, 2001).

III.3. Prévention

Si la prévention des légionelloses est théoriquement possible, sa réalisation pratique est encore très difficile (Bornstein, 2001).

La suppression des niches écologiques des *Legionella* est un but à atteindre, du moins celles qui ont été créées par la civilisation urbaine. La suppression des voies de transmission des *Legionella* de ces niches vers les sujets réceptifs est le deuxième objectif prioritaire (Bornstein, 2001).

Devant l'ampleur de la tâche à accomplir, une approche pragmatique s'impose (Bornstein, 2001).

L'une des données essentielles n'est malheureusement pas connue avec précision : la virulence des *Legionella* dans les écosystèmes et le seuil de contamination dangereux. La présence de 10^2 à 10^3 UFC/L d'eau constituerait un signal d'alarme. Il est en effet généralement reconnu qu'en dessous de 10^3 bactéries/L, le risque d'apparition de légionellose est très faible, mais ce risque à moduler en fonction de l'état immunitaire des populations exposés et de la densité et durée d'exposition aux aérosols contaminés. Ainsi, pour les eaux thermales, la circulaire DGS/SDID/92 n°513 du 20 juillet 1992, relative à la qualité des eaux minérales dans les établissements thermaux, place à 10^2 UFC/L la valeur à partir de laquelle un suivi attentif doit être réalisé (Ministère de la santé, 1992).

En pratique, il faut distinguer les méthodes générales de prévention et la stratégie d'action devant la survenue de cas de légionelloses (Bornstein, 2001).

III.3.1. Mesures générales de prévention

Ces mesures sont de différente nature (Fallonx, 1994). Elles doivent tenir compte des caractéristiques écologiques des *Legionella* et certaines de ces mesures, pour être efficaces, doivent être prises dès la conception et la construction de nouveaux bâtiments (hôtels, hôpitaux) (Fallonx, 1994).

Les tours de refroidissement doivent être conçues en diminuant au maximum les risques d'aérosols infectieux (diminution des broiillards, accès facile pour l'entretien et le nettoyage, prises d'air à distance suffisante de l'aéroréfrigérant) (Bornstein, 2001).

Les circuits de distribution doivent être aussi courts que possible. Il faut éviter les espèces mortes, réduire la capacité des réservoirs et faciliter leur nettoyage. Les circuits doivent être constitués de matériaux ne favorisant pas la croissance des *Legionella* (Bronstein, 2001).

Le principe d'une surveillance microbiologique systématique est controversé et certains la jugent coûteuse et peu utile. Ainsi, aux Etats-Unis, il existe deux types d'approche pour la prévention des légionelloses en milieu hospitalier (Plouffe et File, 1999 ; Yu, 1998).

La première approche est fondée sur des contrôles périodiques du réseau de l'hôpital. Si plus de 30% des contrôles s'avèrent positifs, la décontamination est entreprise et s'accompagne d'une surveillance active des patients, avec mise en place de toutes les méthodes biologiques permettant d'effectuer le diagnostic de légionelloses, en particulier chez les malades à risque (Bornstein, 2001).

La deuxième approche est celle définie par le CDC dans son guide pour la prévention des affections nosocomiales (Respire, 1994). Il recommande aux hôpitaux de disposer des méthodes de laboratoire les plus performantes permettant d'effectuer un diagnostic de légionellose lors de toute suspicion clinique, en particulier chez les patients à risque (immunodéprimés, transplantés, sida...) et de ne pratiquer de recherches environnementales que lors de l'apparition d'un cas confirmé de légionellose nosocomiale (séjour à l'hôpital dans les 2 à 10 jours d'incubation précédant le début des signes cliniques) ou de deux cas possibles en moins de 6 mois (Bornstein, 2001).

Parallèlement, une maintenance régulière des systèmes de climatisation doit être assurée et tous les équipements médicaux (nébuliseurs...) doivent être alimentés en eau stérile (Bornstein, 2001).

En France, pour tous les établissements recevant du public (établissements de santé, hôtels, installation sportive, campings, installations à risque...). Un ensemble de recommandations visant à gérer le risque de prolifération des *Legionella* dans les réseaux et systèmes de traitement d'eau est listé dans la circulaire DGS/VS4/98/771 du 31/12/98 (Ministère de la santé, 1998). Elle renvoie notamment à une circulaire antérieure (DGSn°97/311) (Ministère de la santé, 1997) où des mesures simples de bonnes pratiques d'entretien pour les systèmes de climatisation et les tours de refroidissement sont décrites (Bornstein, 2001).

Il est préférable que les analyses microbiologiques soient effectuées par des laboratoires expérimentés dans la recherche des *Legionella*.

En France, elle se fait selon une procédure normalisée (AFNORNT90-431, novembre 1993) qui permet l'obtention de résultats homogènes avec une sensibilité de 50 UFC/L suffisante au regard du risque sanitaire (Bornstein, 2001).

Lorsque des mesures de désinfection sont entreprises, elles sont appliquées régulièrement et leur efficacité bactériologique est vérifiée (Bornstein, 2001).

Toute opération de désinfection doit être précédée d'un nettoyage visant à éliminer dépôts et matières organiques. Ce temps préliminaire est essentiel pour les tours de refroidissement qui doivent être entretenues une ou deux fois par ans et systématiquement avant toute reprise de fonctionnement après un arrêt prologue. Le nettoyage est suivi d'une désinfection (Bornstein, 2001).

Pour les systèmes de distribution d'eau, l'une des méthodes les plus efficaces est l'échauffement de l'eau à 70 °C, pendant 1 à 2 jours. Cette température doit être obtenue jusqu'aux points terminaux du circuit, où écoulement de l'eau est maintenu pendant 30 minutes aux mains. Puis la température est stabilisée à 50 °C (Bornstein, 2001).

III.3.2. Stratégie d'action devant la survenue de cas de légionelloses

Le cas de légionelloses se définit par des signes cliniques et/ou radiologiques de pneumopathie accompagnés de l'un des signes biologiques suivants :

III.3.2.1. Cas confirmé : Identification de *Legionella* par culture à l'IFD dans un prélèvement clinique :

- présence d'antigènes solubles de *legionella* dans les urines ;
- augmentation entre deux prélèvements de sérum des titres d'anticorps de quatre fois, avec un taux minimal de 128 ;

III.3.2.2. Cas possible Titre unique élevé en anticorps supérieur ou égal à 256, quelle que soit l'espèce (Bornstein, 2001).

III.3.2.3. Devant un cas isolé

Après avoir confirmé le diagnostic et s'être assuré de l'absence d'autres cas dans le proche entourage, il faut déterminer si la légionellose est nosocomiale ou communautaire (Bornstein, 2001).

Une légionellose nosocomiale déclenche toujours une enquête plus approfondie (Bornstein, 2001).

Dans le cas d'une légionellose communautaire, le recensement des sources potentielles est très complexe (domicile, lieu de travail, lieux publics fréquentés, établissements de soins, centre de loisirs, voyage récent...), mais il est nécessaire car il permet de déboucher sur des mesures adaptées de prévention (Bornstein, 2001).

De plus en plus de guides proposent des recommandations pour tenter de prévenir l'apparition de cas de légionelloses (pour les tours opérateurs, dans le cadre des voyages touristiques, pour les bateaux de croisières, pour les établissements de soins (Bornstein, 2001).

III.3.2.4. Cas groupés

Sont définis comme cas groupés, au moins deux cas (dont l'un des deux confirmé) sue venus dans un intervalle de temps de moins de 6 mois, chez des personnes ayant fréquenté un même lieu (Bornstein, 2001).

Après s'être assuré de la validité du diagnostic, tous les cas sont recensés : recherche active d'autres cas dans l'entourage (domicile, travail, hôtel, hôpital...) et dans les lieux fréquentés par les patients dans les 10 à 12 jours précédant l'apparition des signes cliniques (Bornstein, 2001).

La recherche bactériologique est effectuée au niveau des réservoirs présumés des *Legionella*. Elle est complétée par la démonstration de l'identité entre souches environnementale et souches cliniques à l'aide de marqueurs épidémiologiques appropriés, les mesures de contrôle et de prévention sont alors mises en œuvre, selon les modalités précédemment décrites (Bornstein, 2001).

IV. Traitement

In vitro, les *Legionelles* sont sensibles à presque tous les antibiotiques. Cependant, un traitement efficace requiert que l'antibiotique pénètre dans les cellules infectées (érythromycine, tétracycline) (Assous *et al.*, 1999).

Si *L. pneumophila* est une bactérie sécrétrice de B-lactamase, elle est sensible *in vitro* à de nombreux antibiotiques (Berche *et al.*, 1988).

Conclusion

Conclusion

Depuis la description de l'épidémie de Philadelphie, plus de 20 ans de recherche écoulés ont profondément modifié la compréhension de l'épidémiologie et de la physiologie des infections dues aux *Legionella*.

Bien que la place des *Legionella* dans l'étiologie des pneumonies aiguës infectieuses soit maintenant une réalité incontournable, l'incidence et la prévalence des légionelloses restent encore largement sous-estimées. L'introduction récente de méthodes de diagnostic plus performantes, comme l'antigénique ou les méthodes de biologie moléculaire, permettra sans doute d'inverser la tendance la prise de conscience de la gravité potentielle des légionelloses a conduit ces dernières à la mise en place de recommandations pour l'application de mesures préventives.

Pour éviter le développement des bactéries ; une première préoccupation consiste donc à éviter que ne s'installent des conditions favorables au développement de la bactérie de la légionellose. D'autant plus que celle-ci se développe de préférence dans un milieu dont les conditions sont susceptibles de réduire l'efficacité de la tour de refroidissement ou entraînent un risque de détérioration de celle-ci :

- **Formation de pellicules organiques à la surface de l'eau et sur les parois** : elles constituent un frein au transfert de chaleur entre les gouttelettes et l'air ambiant, réduisant l'efficacité du transfert de chaleur ;

- **Accumulation de solides en suspension par lavage de l'air** : ces solides organiques ou inorganiques peuvent occasionner la corrosion des pièces d'équipement et diminuent l'efficacité de l'appareil, ils constituent une source de nourriture pour les algues, les champignons et les bactéries ;

- **Algues champignons et sédiments** : dépôts sur les parois et dans le fond des bassins, ils possèdent une action corrosive (un drain de vidange bien situé permet d'éviter l'accumulation de sédiments).

Toutes ces situations favorisent la croissance et la concentration de la bactérie *Legionella*.

Glossaire

Glossaire

- ✓ **Immunofluorescence** : Méthode de laboratoire permettant de détecter la présence de diverse substance en utilisant des anticorps rendus fluorescents (fluorescéine). Pour cela, un antigène ou un anticorps (élément étranger à l'organisme) est conjugué à ce colorant, ce qui permet lors de l'examen au microscope et par utilisation d'une lumière ultraviolette de détecter sa présence et ainsi de localiser sa fonction avec anticorps l'antigène qui lui correspond dans les cellules ou tout autre produit biologique.
- ✓ **Bradycardie** : C'est un ralentissement du rythme cardiaque qui peut avoir pour conséquence une chute de la tension artérielle et une baisse d'oxygénations du cerveau.
- ✓ **Anurie** : suppression ou forte diminution de la sécrétion de l'urin
- ✓ **Anorexie** : trouble des conduites alimentaires consistant en un refus d'alimentation à la suite de lésion dans les centres de la satiété ou se développant dans un contexte psychologique perturbé.
- ✓ **Amnésie** : Perte totale ou partielle de la mémoire soit récente, soit ancienne, ainsi que de la capacité de faire de nouveaux apprentissages.
- ✓ **Péricarde** : Inflammation de la membrane qui enveloppe le cœur, périchondre membrane de tissus conjonctif fibreux qui recouvre la surface externe des structures cartilagineuse.
- ✓ **Expectoration purulente ou Sanglante** : Expulsion de produits de sécrétion broncho-pulmonaire pathologique par les voies respiratoires et la bronche accompagnée de taux, peut être fluide, épais, clair infecte, sanglant, etc,....
- ✓ **Pneumopathies** : La pneumopathie désigne toutes les maladies du poumon, sont des affections plutôt rares par rapport aux bronchites aiguës et aux infections des bronches.
- ✓ **Cavernes** : C'est une cavité qui se forme dans l'épaisseur d'un parenchyme, le plus s'assent le poumon, après évacuation de pus d'un abcès ou tissu nécrose.
- ✓ **Emmunoblotting** : Un buvardages de western, ou encore western blot, ou immun blot, est une méthode de protéiniques, ayant recours à la biologie moléculaire, la biochimie et l'immunogénétique, pour détecter une protéine spécifique dans un échantillon donné d'extrait ou d'homogénat tissulaire, la technique utilise l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide pour séparer les protéines, préalablement dénaturées, selon leur masse.
- ✓ **Myalgies** : Du grec : « mys » : « muscle » et « algés » : « douleur » : douleur musculaire. Le terme myalgie désigne toutes les douleurs des muscles striés squelettiques. Les myalgies sont susceptibles d'être le résultat d'une hypertonie musculaire, c'est-à-dire d'un excès de tonus des muscles entraînant généralement une raideur, certaine maladie infectieuse sont susceptibles d'engendrer la survenue de myalgie.

- ✓ **Hémiplégie** : une hémiplégie est la paralysie totale ou partielle de la moitié du corps. Autrement dit, il s'agit d'une paralysie affectant la moitié gauche ou la moitié droite du corps pour partie et fois, il s'agit d'une atteinte **dimidière** de l'organisme ».
- ✓ **Polyradiculonevrite** : Inflammation de plusieurs racines nerveuses rachidiennes.
- ✓ **Les infections nosocomiales**: Sont des infections contractées dans un établissement de santé [Une infection dite nosocomiale ou hospitalier, si elle est absente lors de l'admission du patient à l'hôpital et qu'elle se développe 48 heures au moins après l'admission].
- ✓ **Pléiocytose**: Du grec: pléon: plus abondant et kutos: cellule: hypercytose: grand abondance de cellules dans un échantillon observé au microscope (Par celle du tissu, liquide céphalorachidien, sang, etc. ...).
Augmentation du nombre des leucocytes dans le sang périphérique, phénomène observé de façon physiologique pendant la digestion et au cours de la grossesse et symptomatique dans un grand nombre de maladies.
- ✓ **Hyperprotéïnorachie** : Présence de protéine en trop grande quantité dans le liquide céphalorachidien.
L'analyse du liquide céphalorachidien ne montre pas d'anomalies si ce n'est une légère augmentation de la concentration en protéines et une augmentation des immunoglobulines G (variété d'anticorps).
- ✓ **Tomodensitométrie** : La tomodensitométrie (TDM), dite aussi Scanographie ; tomographie axiale calculée par ordinateur, et une technique d'imagerie médicale qui consiste à mesurer l'absorption des rayons X par les tissus puis par traitement informatique; à numériser et enfin reconstruire des images 2D ou 3D des structures anatomiques. Pour acquérir les données, on emploie la technique d'analyse tomographique ou "par coupes", en soumettant le patient au balayage d'un faisceau de rayon X.
- ✓ **Hémodialyse** : Procédé d'épuration artificielle du sang par diffusion à travers un filtre (rein artificiel) qui permet d'éliminer les molécules toxiques.
- ✓ **Confusion mentale** : La confusion mentale est un état pathologique caractérisé par une désorganisation de tous les processus psychiques. Elle représente un trouble neuropsychologique très fréquent. Elle est un dysfonctionnement global du système nerveux central.
- ✓ **Epanchement pleural** : Egalement appelé pleurésie, l'épanchement pleural est défini par la présence de liquide entre les 2 feuillets de la plèvre (le feuillet viscéral qui recouvre le poumon et le feuillet pariétal qui recouvre la face interne de la cage thoracique).
- ✓ **Hypophosphatémie** : Diminution des phosphates contenus dans le plasma.
- ✓ **Amnésie** : Amnésie=oubli, perte : perte de la mémoire partielle ou totale, elle prend plusieurs formes.
- ✓ **Perforation** : Ouverture pathologique dans la paroi d'un organe.

- ✓ **Hématurie** : Présence de sang dans les urines. En fait on dépiste la présence de globules rouges en quantité anormalement élevée.
- ✓ **Rhabdomyolyse** : Du grec Rhabdos = aie, mus = muscle et lysis = dissolution la destruction de cellules musculaire entraînant la libération dans le sang d'un pigment musculaire toxique, la myoglobine.
- ✓ **Hyponatrémie** : Baisse du taux de sodium dans le sang ⇒ Diminution de concentration de l'ion sodium intra plasmatique (dans le plasma correspondant la partie liquide du sang).
- ✓ **Fistule** : Une fistule est un conduit anormal faisant communiquer une cavité ou un organe avec un autre ou avec l'extérieur de l'organisme. Un liquide normal ou physiologie circule à travers la fistule externe selon que l'évacuation se fait à l'intérieur ou à l'extérieur de l'organisme.
- ✓ **Purpura** : Ecoulement anormal de sang au niveau de la peau ou des muqueuses: celles-ci sont parsemées de petites tache rouge vif ou bleuâtres; qui en vieillissant deviennent brunâtres ou jaunâtres.
- ✓ **Bactériémie** : Présence éphémère de bactérie dans le sang circulant de l'organisme.
- ✓ **Protéinurie** : Présence de protéine dans l'urine.
- ✓ **Antigénurie** : Méthode qui permet le diagnostic d'une maladie par la recherche d'antigènes urinaires (Ex : legionelloses).
- ✓ **Pyélonéphrite** : Terme issu du grec : puélos : bassin et néphros : rein. Pyélonéphrite désigne l'infection et inflammation de l'appareil urinaire dans sa partie haute (du rein) d'origine bactérienne.
- ✓ **Thrombopénie** : Terme issu du Grec : thrombos: caillot et pénia ; pauvreté. On parle de thrombopénie quand le nombre des plaquettes se situe au-dessous de 150.000 par mm^3 , dans le sang circulant.
- ✓ **Coagulopathie** : Une coagulopathie est une maladie due à un dysfonctionnement de la coagulation sanguine.
- ✓ **Chimiothérapie** : Est l'usage de certaines substances chimiques pour traiter une maladie.
- ✓ **Boiter EIA** : (Enzyme ImmunoAssays), dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectroscopie, par opposition aux RIA (Radio ImmunoAssays) dans lesquels l'anticorps est marqué par un radioélément et dont le dosage mesure un nombre de désintégrations par seconde.

Bibliographie

Bibliographie

- Assous, M.V., Basse-guerineau, A.L., Bourhy, H., Robin Dhote et Andrépaugam, préface de Jean-Pierre Flaudrois. 1999. Microbiologie et pathologie infectieuse, 2^{ème} édition Américaine, 309.
- Avril, J.L., Dabrenat, H., Denis, F., Monteil, H. 1992. Bactériologie clinique, 2^{ème} édition Paris, 18-4.
- Aubert, G., Bronstein, N., Rayet, L., Pozetto, B., Lenormand, P.H. 1990. Nosocomial infection With *L. pneumophila* serogroup 1 and 8 in a neonate. *Scand Infect Dis*, 367-370.
- Benhamou, D., Bru, J.P., Chidiac, C., Etienne, J., Leophonte, P., Marty, N., Poirier, R., Rouquette, R.M. 2005. Legionnaire's disease: definition, diagnosis and treatment. *Med Mal Infect*, 35, 1-5.
- Benson, F.R., Fields, B.S. 1998. Classification of the Genus *Legionella*. *Semen respire infect*, 13, 50-99.
- Berche, P., Gaillard, J.L., Simonet, M. 1988. Bactériologie: bactérie des infections humains, 1^{ère} édition, 246.
- Blatt, S.P., Dolan, M.J., Hendrix, C.W., Melcher, G.P. 1994. Legionnaires disease in human immunodeficiency virus-infected patients: eight cases and review. *Clin infecties*, 18, 227- 232.
- Bornstein, N., Janine, N., Bourguignon, G., Surgot, N., Fleurette, J. 1987. Prevalence of anti *Legionella* antibodies in a healthy population and in patients with tuberculoses or pneumonia. *Pathol Biol*, 35, 353- 356.
- Bornstein, N., Marmet, D., Surgot, M., Arslan, A., Estève, J. 1989. Exposure to *Legionellaceae* at a hot spring spa: a prospective clinical and serological study. *Epiemiologie infect*, 102, 31- 36.
- Bornstein, N., surgot, M., Fleurette, J. 1992. Bilan d'activité du centre national de référence pour les légionelloses depuis 11 ans. *Bull Epidémiol Hebd*, 3. 9-11.
- Bornstein, N., Fleurette, J. 1992. Les *Legionella*. *Lyon phrase*, 2, 101-116.
- Bornstein, N., Fleurette, J. *Legionella*. In: Fernery, J., Hansen, D., Bollet, C.. 1994. Manuel de Bactériologie chimique. Amsterdam: Elsevier, 1327-1354.
- Bornstein, N. 2001. Légionellose: Maladies infectieuses, éditions scientifiques et médicales, Elsevier SAS, Paris, 1, 8, 10,13, 21.
- Breiman, R.F., Butler, J.C. 1998. Legionnaire's disease, clinical, epidemiological and public health perspectives. *Semen respire infect*, 13, 84-89.
- Brucker, G. 1998. Infection nosocomiales et environnement hospitaliers, 2^{ième} édition, 54.

Bibliographie

- Byrd, T.F., Horwitz, M.A. 1989. Interferon gamma-activated human monocytes, downregulate transferrin receptors and inhibit the intracellular multiplication of *Legionella pneumophila* by limiting the availability of iron. *J Clin Invest*, 83, 1457-1465.
- Centers for disease control and prevention. 1994. Guideline for prevention of nosocomial pneumonia. *Respire care*, 39, 1191-1236.
- Drass, R.A. 1995. L'eau dans les établissements de santé. Lyon, comité technique régional de l'environnement hospitalier, 56.
- Decludt, B., Pervocheau, A., Cerase-Feurra, V. 1999. Les légionelloses déclarées en France en 1997, *Bull Epidemiol Hebd*, 6, 21-22.
- Dominguez, J.A., Gali, N., Pedroso, P., Fargas, A., Padilla, E., Man-terola, J.M. 1998. Comparison of the binax *Legionella* urinary antigen enzyme immunoassay (EIA) with the biotest *Legionella* urin antigen EIA for the detection of *Legionella* antigen in north concentrated and non concentrated urine samples. *J Clin Micro Bol*, 36, 2718-2722.
- Edelstein, P.H. 1993. Legionnaires disease, *Clin Infect Dis*, 16, 741-749.
- Edelstein, P.H. 1985. Environmental aspects of *Legionella*. *ASM news*, 51, 460-467.
- Edelstein, P.H., Meyer, R.D. 1994. *Legionella pneumonias*. In, Pennington JE ed. Respiratory infection diagnosis and management. *New York, Raven loess*, 455-484.
- Ehret, W., Ruckdeschel, G. 1985. Membrane proteins of *Legionellaceae*, Membrane proteins of different strains and serigraphs of *L. pneumophila*. *Zentrabl Bakteriol*, 259, 433-445.
- Ellis, K.V. 1993. Légionelloses. A concise review, *J IWEM*, 7, 418-430.
- Fallon, R.J. 1994. How to prevent an outbreak of legionnaires disease. *J hosp Infect*, 27, 247-256.
- Feeley, J.C., Gibson, R.J., Gorman, G.W., Langford, N.C., Rasheed, J.K., Mackel, D.C. 1979. Charcoal yeast extracts agar, primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J clin Microbiol*, 10, 437-441.
- Festy, B., Lecterc, H., Haslay, C. 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Technique Documentation, Lavoisier, Paris cedex 08, 86.
- Fields, B.S., Benson, R.F., Besser, R.E. 2002. *Legionella* and legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin. Microbiol. Rev*, 15(3), 506-526.
- Grimond, P.A., Grimond, F., Displaces, N., Tchen, P. 1985. DNA probe specific for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol*, 21, 431-437.
- Harris, A., Lally, M., Albrecht, M. 1998. *Legionella bozemanii* pneumonia in three patients with AIDS. *Cin Infect Dis*, 27, 97-99.

Bibliographie

- Harrison, T.G., Saunders, N.A. 1994.** Taxonomy and typing of the Legionella. *Rev Med Microbiol*, 5, 79-90.
- Hart, C.A., Makin, T. 1991.** Legionella in hospitals. A Review, *J Hosp Infect*, 18, 481-489.
- Hookey, J.V., Saunders, N.A., Fry, N.K et al. 1996.** Phylogeny of Legionellaceae based on small subunit ribosomal DNA sequences and proposal Legionella lytica com nov for Legionella like amoebal pathogens. *In J Syst Bacteriol*, 46, 526- 531.
- Hutchinson, O.N. 1990.** Nosocomial legionellosis, *Rev Med Microbiol*, 1, 108-115.
- Hygis, N. 1998.** Hygiène Hospitalière. Presses universitaires de Lyon, 07-08.
- Jarraud, S., Freney, J. 2006.** Legionella. Lavoisier, 53, 97, 104, 130, 135.
- Jaulha, C.B., Nowicki, M., Bornstein, N., Meunier, D., Prevost, G., Piemort, Y. 1992.** Detection of Legionella spp. In bronchoalveolar lavage fluids by DNA amplification. *J Clin Microbiol*, 30, 920- 924.
- Jones, J.L., Hebert, G.A. 1979.** Legionnaires, the disease, the bacterium and methodology. Atlanta, US department of health education and welfare, *Center for Disease Control*.
- Joseph, C.A., Harrison, T.G., Llijic-Car, D., Bartlett, C.L. 1997.** Legionnaires disease in residents of England and Wales. *Communic Dis Public Health lab*, 1, 252-257.
- Leclerc, H., Gaillard, J.L., Simonet, M. 1995.** Microbiologie générale (la bactérie et le monde bactérien). Dodin éditeurs, 411-412.
- Leophonte, P. 1993.** Place actuelle des Legionella dans l'épidémiologie des pneumonies communautaires. *Med Mal Infect*, 23, 641- 642.
- Levy, I., Rubin, L.G. 1998.** Legionella pneumonia in neonates, a literature review. *J Perinatol*, 18, 287- 290.
- Luttichau, H.R., Vinther, C., Uldum, S.A., Moller, J., Faber, M., Jensen J.S. 1998.** An outbreak of Pontiac fever among children following use of a whirlpool. *Clin Infect Dis*, 26, 1374-1378.
- Marmet, D., Bornstein, N., Fleurette, J. 1988.** Identification des Legionella par analyse des acides gras en chromatographie phases gazeuse (CPG) et des ubiquinones en chromatographie liquide haute performance (CLPH). *Ann Biol Clin*, 48, 371- 375.
- Matsiota-Bernard, P., Pitsouni, E., Legakis, N., Naucelle, C. 1994.** Evaluation of commercial amplification kit for detection of Legionella pneumophila in clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 32, 1503-1505.

Bibliographie

- Matsiota-Bernard, P., vrioni, G., Nauciel, C. H. 1997.** Use of the poly-merase chain reaction for the detection of *Legionella pneumophila* DNA in serum samples. *Clin Infect Dis*, 25, 939.
- Memorandum. 1990.** Epidemiology, prevention and control of legionellosis. *Memorandum from a WHO meeting, Bull WHO*, 68, 155-164.
- Ministère de la santé. Circulaire DGS/PGE/IC 68 du 18 janvier 1988 relative à la déclaration obligatoire des maladies transmissibles. *Bull Epideniol Hebd*, 1988, 5,17-18.
- Ministère de la santé. Circulaire du 20 juillet 1992 relative à la qualité microbiologique des eaux minérales naturelles dans des établissements thermaux.
- Ministère de la santé. Circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997 relative à la surveillance et à la prévention de la légionellose.
- Ministère de la santé. Circulaire DGS/VS4/98/771 du 31 décembre 1998 relative à la mise en œuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux *Legionella* dans les installations à risque et dans celles des bâtiments recevant du public.
- Murdoch, D.R. 2003.** Diagnosis of *Legionella* infection. *Clines Infect Dis*, 36, 64-69.
- Murdoch, D.R. 2003.** Nucleic acid amplification tests for the diagnosis of pneumonia. *Clin infect Dis*, 36, 1162- 1170.
- Plouffe, J.F., File, T.H. 1999.** Update of Legionella infections. *Cur Opin Infect Dis*, 12, 127-132.
- Plouffe, J.F., File, T.H., Breiman, R.F., Hakman, B.A., Salstrom, S.J., Marston, B.J. 1995.** Reevaluation of the definition of legionnaires disease: use of the urinary antigen assay. *Clin Infect Dis*, 20, 1286-1291.
- Rowbotham, T.J. 1996.** *Legionella* - Like amoebal pathogens. In: Barbaree, J.M. Breiman, R.F., Dufour, A.P eds. *Legionella* current status and emerging perspectives. *Washington: American Society for Microbiology*, 137-140.
- Sanden, G.N., Morrill, W.E., Fields, B.S., Breiman R. F., Barbaree, J.M. 1992.** Incubation of water Samples containing amoebae improves detection of *Legionella* by culture method. *APPL Environ Microbiol, Lavoisier*, 2006, 58, 53.
- Sakai, T., kobayashi, Y., Misawa, T., Takabatake, M., Shimada, M., Totani, Y. 1998.** First sporadic cases on non- pneumonic legionellosis. *Poliac fever in Japan- Intern Med*, 37, 1068-1071.
- Seltzer, J.M. 1994.** Building-related illness. *J Allergy Clin Immanol*, 94, 351- 362.
- Sire, S., Staub, T., Christmann, D. 1994.** Manifestation extra pulmonaires des légionelloses. *Med Mal Infect*, 24, 874- 880.

Bibliographie

- Skogberg, K., Ruutu, P., Koivula, I., Jousimies-somer, H., Valtonen, V. 1994. Effect of immunosuppressive therapy on the clinical presentation of legionellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 13, 535-541.
- Spieker, S., Petersen, D., Rolfs, A., Fehrenbach, F., Tuntz, R., Seuffer, R.H. 1998. Acute disseminated encephalomyelitis following Pontiac fever. *Eur Neurol*, 40, 169-172.
- Steinert, M., Ockert, G., Luck, C., Hacker, J. 1998. Regrowth of *Legionella pneumophila* in a heat. Disinfected plumbing system. *Zentralbl Bacteriol*, 28, 331-342.
- Stone, B.J., Kwait, Y.A. 1998. Expression of multiple pilory *Legionella pneumophila*: identification and characterization of a type IV pilin gene and its role in adherence to mammalian and protozoan cells. *Infect Immune*, 66, 1768-1775.
- Stout, J.E., Aronold, B., Yu, V.L. 1998. Activity of azithromycin, claritromycin, roxithromycin, dirithromycin, quinupritin/ dalfopristin and erythromycins against *Legionella* species by intracellular testing in HL-60 cells. *J Antimicrob Chemother*, 41, 289-291.
- Straus, W.L., Plouffe, J.F., File, T.M., Lipman, H.B., Hakman, B.H., Salstrom, S.J. 1996. Risk factors domestic acquisition of legionnaires disease. *Arch Intern Med*, 156, 1685-1692.
- Stout, J.E., Yu, V.L. 1997. Legionellosis. *N Engl J Med*, 337, 682-687.
- Warner, C.L., Fayard, P.B., Heffner, R.R. 1991. *Legionella myositis*. *Neurology*, 41, 750-752.
- Weir, S.C., Fisher, S.H., Stock, F., Gill, V.J. 1998. Detection of *Legionella* by PCR in respiratory specimens using a commercially available kit. *Am J Clin Pathol*, 110, 295-300.
- WHO. 1998. Legionnaires disease in Europe. *Wkly Epidemiol Rec*, 73, 257-264.
- Yu, V.L. 1998. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella*. A modest proposal. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 19, 893-897.
- Zahar, J.R., Kouatchet, A. 2008. Les légionelloses : mise au point. *Réanimation*, 17(3), 206-212.

Webgraphie

- (1) : www.wikipedia.org
- (2) : <http://dm3.univ-lyon1.fr/legio/LEGIONELLES3.htm>
- (3) : www.Internaute.com/science/biologie.
- (4) : www.iotronic.sk/de/info/0303.htm

Réalisé par:	Date de soutenance: Juin 2010
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Guahama Samia ◆ Mérimeche Salima ◆ Mahrouk Houda 	Dirigé par : M^{elle} Laggoune Souheila

Thème : La maladie des légionnaires

Nature de diplôme : Diplôme des Etudes Supérieures en biologie (DES)
Option : Microbiologie

Résumé

Legionella pneumophila est une bactérie responsable d'une infection bactérienne chronique des poumons, cette bactérie peut infecter l'homme et l'animal. Sa transmission n'est jamais interhumaine est souvent du aux eaux thermales, l'inhalation d'aérosol contaminé et la contamination directe par voie digestive. Cette bactérie n'est pas largement fréquente et elle reste mal connue. *Legionella pneumophila* cause aussi plusieurs troubles extrapulmonaires : la fièvre de pontiac, diarrhée, des céphalées...

Mots clés: *Legionella pneumophila*, fièvre de pontiac, infection chronique.

الملخص

Legionella pneumophila هي بكتيريا مسؤولة عن عدوى بكتيرية مزمنة في الرئتين، يمكن للبكتيريا أن تصيب البشر والحيوانات، و انتقالها لا يكون أبدا من إنسان إلى إنسان آخر و يكون غالبا عن طريق المياه الحارة، استنشاق الغبار الملوث أو مباشرة عن طريق الهضم. هذه البكتيريا غير شائعة، ولا تزال غير معروفة إلى حد كبير. *Legionella pneumophila* تسبب أيضا مشاكل كثيرة خارج الرئة: حمى pontiac والإسهال والصداع....

كلمات المفتاح: *Legionella pneumophila*، حمى pontiac ، عدوى مزمنة.

Abstract

Legionella pneumophila is a bacterium responsible of a chronic bacterial infection of the lungs; the bacteria can infect humans and animals. The transmission is never interhuman and supremely due to the thermal water, inhalation of contaminated aerosol and direct contamination through ingestion. This bacterium is not largely frequent and remains unclear. *Legionella pneumophila* causes too many problems extra pulmonary: Pontiac fever, Diarrhea, headache ...

Key words: *Legionella pneumophila*, Pontiac fever, chronic infection.