

UNIVERSITE MOHAMMED V - SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2013

THESE N°: 190

**ASSOCIATION ACANTHAMOEBA CASTELLANII
LÉGIIONELLA PNEUMOPHILA : UN DUO REDOUTABLE**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr. Fayçal RIFKI

Né le 13 Septembre 1987 à Agadir

De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES: *Acanthamoeba castellanii – Légionella pneumophila – Légionellose –
BCYE – Choc chloré et thermique.*

JURY

Mme. S. EL HAMZAOU

Professeur de Microbiologie

Mme. N. MESSAOUDI

Professeur d'Hématologie Biologique

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. H. EL OUAZZANI

Professeur de Pneumo-phtisiologie

**PRESIDENT &
RAPPEUR**

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

هُوَ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ تُرَابٍ ثُمَّ مِنْ نُصْفَةٍ
ثُمَّ مِنْ عِلْقَةٍ ثُمَّ يُخْرِجُكُمْ هِفْلًا ثُمَّ لِيَبْلُغُوا
أَشَدَّكُمْ ثُمَّ لِيَكُونُوا شُيُوخًا وَمِنْكُمْ مَنْ
يَتَوَفَّى مِنْ قَبْلٍ وَلِيَبْلُغُوا أَجَلًا مُسَمًّى

وَلَعَلَّكُمْ تَعْقِلُونَ ﴿٦٧﴾

سورة غافر: الآية 67

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ

17 JUIN 2013



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantines
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Jamal TAOUFIK
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
Pr. TAOBANE Hamid*

Chirurgie Cardio-Vasculaire
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. ABROUQ Ali*
Pr. BENSOUA Mohamed
Pr. BENOSMAN Abdellatif
Pr. LAHBABI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

Pr. BELLAKHDAR Fouad
Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI

Neurochirurgie
Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima
Pr. BENSAID Younes
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
Pr. IRAQI Ghali

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Pneumo-physiologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUAZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed
Pr. TOLOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda
Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENABDELLAH Chahrazad
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUADA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. JANATI Idrissi Mohamed*

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Chirurgie Générale

Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Pédiatrie
Pharmacologie
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUADA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. AGNAOU Lahcen
Pr. BENCHERIFA Fatiha
Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. EL IDRISSE Lamghari Abdennaceur
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Ophtalmologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. FERHATI Driss
Pr. HASSOUNI Fadil
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. IBRAHIMY Wafaa
Pr. MANSOURI Aziz
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADINE EL Hamid

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale

Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. MOULINE Soumaya
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN AMAR Abdesselem
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. DERRAZ Said
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. NAZI M'barek*
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *

Gastro-Entérologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie

Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENCHERIF My Zahid
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHAOUI Zineb

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie

Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. EL OTMANY Azzedine
Pr. HAMMANI Lahcen
Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. BENCHEKROUN Nabiha
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL IDGHIRI Hassan
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BELMEKKI Mohammed
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BENYOUSSEF Khalil

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie

Pr. BERRADA Rachid
 Pr. BEZZA Ahmed*
 Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 Pr. BOUHOUCHE Rachida
 Pr. BOUMDIN El Hassane*
 Pr. CHAT Latifa
 Pr. CHELLAOUI Mounia
 Pr. DAALI Mustapha*
 Pr. DRISSE Sidi Mourad*
 Pr. EL HIJRI Ahmed
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 Pr. EL MADHI Tarik
 Pr. EL MOUSSAIF Hamid
 Pr. EL OUNANI Mohamed
 Pr. ETTAIR Said
 Pr. GAZZAZ Miloudi*
 Pr. GOURINDA Hassan
 Pr. HRORA Abdelmalek
 Pr. KABBAJ Saad
 Pr. KABIRI EL Hassane*
 Pr. LAMRANI Moulay Omar
 Pr. LEKEHAL Brahim
 Pr. MAHASSIN Fattouma*
 Pr. MEDARHRI Jalil
 Pr. MIKDAME Mohammed*
 Pr. MOHSINE Raouf
 Pr. NOUINI Yassine
 Pr. SABBABH Farid
 Pr. SEFIANI Yasser
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Gynécologie Obstétrique
 Rhumatologie
 Anatomie
 Cardiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique

Pr. EL BARNOUSSI Leila
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. ES-SADEL Abdelhamid
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HADDOUR Leila
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. ISMAEL Farid
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KARMANE Abdelouahed
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed

Gynécologie Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie

Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. SASSENOU ISMAIL*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENHARBIT Mohamed
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. KARIM Abdelouahed
Pr. KENDOSSI Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Ophtalmologie
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Radiologie
Ophtalmologie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amin
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZIANE Nourdine

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie

Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo ptisiologie
Hématologique
Anesthésier réanimation
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

PROFESSEURS AGREGES :

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. AGDR Aomar*	Pédiatre
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*	Chirurgie Générale
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AKHADDAR Ali*	Neuro-chirurgie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. AMAHZOUNE Brahim*	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. AZENDOUR Hicham*	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. BOUHSAIN Sanae*	Biochimie-chimie
Pr. BOUI Mohammed*	Dermatologie
Pr. BOUNAIM Ahmed*	Chirurgie Générale
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*	Traumatologie orthopédique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. CHTATA Hassan Toufik*	Chirurgie vasculaire périphérique
Pr. DOGHMI Kamal*	Hématologie clinique
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. EL OUENNASS Mostapha*	Microbiologie
Pr. ENNIBI Khalid*	Médecine interne
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. L'KASSIMI Hachemi*	Microbiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal*	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. CHERRADI Ghizlan
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. RAISSOUNI Zakaria*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Cardiologie
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. Abdelouahed AMRANI
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. Ahmed JAHID
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Drissi*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. Mouna EL ALAOUI MHAMDI
Pr. Mounir ER-RAJI
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Chirurgie Pédiatrique
Cardiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naïma	Biochimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbès	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

Enseignants Militaires

Mise à jour le 02/05/2013



Dédicaces





A ALLAH

Tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenu

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde



A
FEU SA MAJESTE LE ROI

HASSAN II



Que Dieu ait son âme dans son Saint Paradis

A
SA MAJESTE LE ROI

MOHAMED VI



*Chef Suprême et Chef d'Etat Major Général
des Forces Armées Royales.*

Que Dieu le glorifie et préserve son Royaume.

A
SON ALTESSE ROYALE LE PRINCE
HERITIER
MOULAYEL HASSAN



Que Dieu le garde.

A TOUTE LA FAMILLE ROYALE



A

*A Monsieur le Médecin Colonel Major
MOHAMMED HACHIM :*

Professeur de Médecine Interne.

Inspecteur en second du Service de Santé des F A R,

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

*A Monsieur le Médecin Colonel Major
AHMED MOUDEN :*

Professeur de Traumatologie-Orthopédie

*Médecin-chef de l'Hôpital Militaire d'Instruction
Mohammed V*

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

*A Monsieur le Médecin Général de Brigade
ALI ABROUQ:*

Professeur d'oto-rhino-laryngologie.

*Inspecteur du Service de Santé des Forces Armées
Royales.*

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération.*

*A Monsieur le Médecin Colonel Major
ABDELKRIM MAHMOUDI:*

Professeur d'Anesthésie Réanimation

Médecin-Chef de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

A Monsieur le Médecin Colonel Major

HASSANE ISMAILI :

Professeur de Traumatologie-Orthopédie

Médecin-Chef de l'Hôpital Militaire Avicenne

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

A Monsieur le Médecin Colonel Major

HDA ABDELHAMID:

Professeur de Cardiologie.

Directeur de l'E.R.S.S.M et de L'E.R.M.I.M.

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

A Monsieur le Médecin-Lt-Colonel

ABDELAZIZ BOUSNANE :

Commandant le Groupement Formation et Instruction

*En témoignage de notre grand respect
et notre profonde considération*

A la mémoire de feu mon père le médecin colonel RIFKI My Ahmed

Aucun mot ne pourra exprimer ma grande tristesse en ton absence...

Ton visage gai et souriant...

Ta tendresse infinie...

Et ton amour incomparable...

Resteront à jamais gravés dans mon cœur...

Je te remercie pour tous les beaux moments que nous avons partagé en famille...

Je te remercie pour m'avoir appris à prendre des décisions dans la vie...

Je te remercie pour ton grand amour...

Tu me manques beaucoup papa...

J'aurai aimé que tu sois à mes côtés ce jour...

Mais le destin en a décidé autrement...

J'espère que tu es fier de moi papa...

Je t'aime...

Que ton âme repose en paix...

A ma chère petite famille

A ma mère

Tu seras a jamais plus qu'une mère pour moi...

Un modèle de sacrifice et de bonté...

Une femme exemplaire qui a toujours œuvré pour le bonheur de sa famille.

J'espère aujourd'hui te rendre fière, toi qui a toujours été a mes cotés, dans les meilleurs moments et surtout les pires.

Je t'en serais a jamais reconnaissant.

Je t'aime maman...

A ma grande sœur

J'ai toujours admiré ton énergie et ta passion, rien ne t'a jamais découragé et je suis sur que tu trouveras ta voie dans cet univers.

Nos séances cinéma me manqueront... ^_^

A mon grand frère

Je voulais sincèrement te remercier pour tout le soutien que tu m'as offert durant cette année, je sais que je pourrais a jamais compter sur toi, comme tu pourras compter sur moi.

A ma grand-mère « Ma lalla »

Je voulais absolument dédier ce document à l'une des personnes les plus généreuse, gentille, aimable, que cette terre ait porté. A jamais dans mon cœur et dans mes pensées. Je t'aime...

A mes tantes et mes oncles

Je n'oublierais jamais votre soutien moral pour ma mère et pour nous tous.

Que dieu vous garde, je vous aime...

A mes cousins et cousines

On a grandi comme frere et sœur, on s'est vu grandir, faire des choix et des experiences personnelles mais au fond, on restera toujours freres et sœur parceque c ca la famille... je vous souhaite tout le succes et le bonheur du monde...

Au Lt-Colonel Leïla ABOUD et a sa famille

Je vous remercie pour tout les moments ou vous avez été a nos cotés. Vous avez toujours été une source de réconfort et de joie pour nous tous, j'éprouve pour vous le plus grand respect et vous aime du plus profond de mon cœur.

Merci pour tout...

*A mon très cher ami, grand frère et supérieur le Médecin Commandant
SEMLALI Adnane et à sa famille*

Votre gentillesse, votre simplicité et votre sens du devoir est pour moi le meilleur exemple à suivre.

J'ai perdu un père il y a bien des années et je retrouve en vous son image, son dévouement pour son travail et pour sa famille. Je vous souhaite tout le bonheur et le succès du monde et vous dédie ce travail, à vous et à votre famille

Merci pour tout...

A la mémoire de FEU le Pr. KZADRI Mohammed chef de service d'ORL

Vous étiez comme un père pour moi, j'ai toujours eu pour vous la plus haute estime, je vous garderais à jamais dans mon cœur. Je n'oublierais jamais vos conseils et vos encouragements. Reposez en paix...

*A mes amis d'enfance Souhail, Amine IDRISSE, Amine CHERRAT ainsi
qu'à leurs familles*

On se connaît depuis si longtemps, nous avons partagé tellement de choses, des rires, des déceptions, tant de souvenirs qui a jamais resteront gravé dans ma mémoire, aujourd'hui je scelle cette amitié pour la vie... vous serez à jamais mes frères.

*A mes amis que j'ai rencontré a la faculté : ZORKANI Youssef, Ihab
ALARISS EL IDRISSE, Anass « Vai », med Amine NASSIRI, Manal
JIDAL, Jihanne BENASS, Hasnae DRISSE, , Yahia DRAÏSS, Mehdi
NHARI, Momo alaoui, Saber, Othmane, Salim, Koyuki, Rabii, Sarah
JADI, MOUMNI et tant d'autres...*

J'ai toujours trouvé a vos cotés le courage d'affronter les obstacles...

Chacun de vous m'a influencé d'une manière ou d'une autre...

Chacun de vous a laissé en moi une trace indélébile...

Votre gentillesse, votre écoute et votre soutien m'a toujours touché...

J'espère que notre amitié durera éternellement...

*J'ai tant appris a vos cotés et vous avez pour cela mon entière
gratitude...*

*C'est pourquoi je vous dédie ce travail, a vous qui avez toujours cru en
moi... je vous souhaite tout le bonheur du monde a vous et a vos proches.*

*A mes amis, et camarades de promotion du primaire, collège, lycée, et de
L'ÉCOLE ROYALE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE*

*Je vous dédie ce travail en guise de remerciement pour toutes ces années
passées ensemble.*

*Qu'on soit proche ou pas, j'ai toujours eu le plus grand respect pour
vous et vous souhaite bonheur et succès dans vos vies respectives.*

*A mes amis Hakim, Ahmed, Driss, Hamza, Hicham, Ikram, au Staff du
café "abaie jams" et "Zerrad", mes camarades de stage, mes amis résidents,
mes amis plus jeunes ou plus âgés*

Je n'oublierai jamais les expériences passés a vos cotés...

Je vous souhaite tout le bonheur du monde pour vous et vos familles...

Merci...

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

A tous ceux qui ont participé, de pres ou de loin a l'elaboration de ce travail

*Je vous dedie ce travail et vous souhaite du bonheur dans votre vie
familliale et professionnelle...*



Remerciements



*A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT ET RAPPORTEUR
DE THESE MADAME LE PROFESSEUR S. HAMZAOU*

Professeur de Bactériologie

HMIMV- Rabat

Je vous remercie pour tout le soutien que vous m'avez offert...

J'ai tant appris de vous, non seulement sur le plan médical, mais aussi sur le plan personnel.

Vous êtes un exemple de discipline et de sacrifice pour les étudiants, toujours disponible, toujours prête à passer du temps avec nous à nous guider, nous aider. Votre enseignement restera à jamais gravé dans mon cœur.

J'espère un jour être à la hauteur de vos attentes et vous souhaite à vous et vos proches bonheur, santé et réussite.

Merci de tout mon cœur

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE
MADAME LE PROFESSEUR N. MESSOUDI
Professeur d'Hématologie biologique
HMIMV – Rabat

Nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que vous nous faites de siéger parmi notre jury de thèse.

Nous portons une grande considération tant pour votre extrême gentillesse que pour vos qualités professionnelles.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
MADAME LE PROFESSEUR H. EL OUAZZANI
Professeur de pneumologie
HMIMV- Rabat

*C'est pour nous un grand honneur que vous acceptiez de siéger parmi
notre honorable jury.*

*Votre modestie, votre sérieux et votre compétence professionnelle seront
pour nous un exemple dans l'exercice de notre profession.*

*Permettez-nous de vous présenter dans ce travail, le témoignage de
notre grand respect.*

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE
MADAME LE PROFESSEUR TELLAL Saïda
Professeur de Biochimie
HMIMV – Rabat

Nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que vous nous faites de siéger parmi notre jury de thèse.

Nous portons une grande considération tant pour votre extrême gentillesse que pour vos qualités professionnelles.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.



Sommaire



Introduction	1
Historique	3
I-Historique des Amibes	4
II-Historique de la Legionella	7
Epidémiologie	9
I-Les agents pathogènes :.....	10
I-1.Classification des amibes :	10
I-2. <i>Acanthamoeba castellanii</i> :	12
I-2-1. Morphologie :	12
I-2-1-1. Forme trophozoïte :	12
I-2-1-2. Forme kystique :	15
I-2-2. Locomotion :.....	17
I-2-3. Nutrition :.....	17
I-2-4. Différenciation :	20
I-2-4-1. Enkystement :	20
I-2-4-1-1. Initiation :	20
I-2-4-1-2. Modifications morphologiques :.....	21
I-2-4-1-3. Mécanismes moléculaires :	23
I-2-4-2 Désenkystement :.....	25
I-3. Legionella pneumophila :	27
I-3-1. Taxonomie :	27

I-3-2. Morphologie et structure :.....	29
I-3-3. Caractères métaboliques et facteurs de croissance :	30
I-3-4. Caractères cultureux :.....	30
I-3-5. Identification :.....	32
II- Le réservoir.....	33
II-1. <i>Acanthamoeba castellanii</i> :	33
II-1-1. Environnement naturel :	33
II-1-2. Environnement artificiel :.....	34
II-2. <i>Legionella pneumophila</i> :.....	35
II-3. Rôle d' <i>A. castellanii</i> comme réservoir de <i>L. pneumophila</i> :.....	37
III- Cycle de réplication-transmission.....	37
IV- Les facteurs favorisants.....	40
V- Les aspects épidémiologiques.....	41
V-1. Types épidémiologiques :	41
V-2. Taux d'attaque et incidence :.....	43
V-3. Prévalence :.....	43
V-4. Taux de létalité :	44
VI- La répartition géographique.....	46
Physiopathologie	47
I- Pathogénie et immunité :.....	48
I-1. Mécanisme de la maladie des légionnaires :	48
I-2. Virulence de <i>L. pneumophila</i> :.....	49

I-2-1. Rôle des macrophages :	49
I-2-2. Facteurs de virulence :	50
I-3. Immunité :	51
I-3-1. Immunité cellulaire :	51
I-3-2. Immunité humorale et coopération cellulaire :	53
I-3-3. Immunité de réinfection :	54
II- Anatomopathologie :	54
II-1. Macroscopie :	54
II-2. Microscopie :	55
Diagnostic	56
I- Diagnostic clinique :	57
I-1. Forme typique :	57
I-1-1. Syndrome infectieux intense :	57
I-1-2. Atteinte respiratoire :	58
I-1-3. Signes extra-pulmonaires :	61
I-1-4. Evolution :	64
I-2. Formes cliniques :	65
I-2-1. Selon le terrain :	65
I-2-2. Formes symptomatiques :	65
I-2-3. Formes évolutives :	66
II- Diagnostic biologique:	76
II-1. Détection de l'antigène urinaire de <i>l.pneumophila</i> :	76

II-2. Culture :	79
II-3. La sérologie :	81
II-4. Biologie moléculaire (PCR):	82
III- DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL :	85
Traitement	87
I- Traitement curatif :	88
I-1. Principes du traitement antibiotique :	88
I-2. Choix de l'antibiothérapie	88
II- Traitement préventif :	96
II-1. Raison des échecs du traitement préventif :	96
II-2. La prévention à domicile :	97
II-3. La prévention dans les établissements de santé :	97
II-4. La prévention chez les propriétaires de tours aéro-réfrigérantes :	98
II-5. Prévention lors d'un cas nosocomial :	98
Conclusion	100
Résumé	102
Références	106



Introduction



Acanthamoeba castellanii est une amibe appartenant au genre des *Acanthamoeba*, protozoaires très répandus dans les sols, les eaux douces naturelles ou artificielles ainsi que dans certains milieux organiques riches en fer, zinc et aluminium tel que les climatiseurs, les tours aérorefrigérantes ou les stations thermales [1].

Cette famille des *Amoeba* a notamment la capacité de phagocyter certaines bactéries et peut dans certains cas être pathogène pour l'homme.

Parmi les bactéries qu'elle véhicule se trouve *Legionella pneumophila* qui est un bacille Gram négatif connu pour occasionner une maladie respiratoire potentiellement redoutable: la Légionellose.

En effet, *Legionella pneumophila* est une bactérie perfide et dangereuse dans certaines situations pouvant vivre dans les mêmes conditions que ces amibes. Ainsi, le fait de prendre pour hôte *Acanthamoeba castellanii* pourrait potentialiser leurs actions respectives.

Dans notre étude, nous nous efforcerons de :

- définir les caractéristiques épidémiologiques de l'association *Legionella pneumophila- Acanthamoeba castellanii*.
- établir un diagnostic clinique et paraclinique de la Légionellose à *L. pneumophila* sérotype 1.
- énoncer les différentes mesures thérapeutiques et préventives adéquates permettant leur éradication.



Historique



I- Historique des Amibes

En 1755, un microscopiste amateur, entomologiste et dessinateur du nom d'August Johann Rösel Von Rosenhof décrit pour la première fois les amibes.

En 1841, Félix Dujardin décrit la famille des amibiens et définit ainsi les organismes de cette famille : «animaux formés d'une substance glutineuse, sans tégument, sans organisation appréciable, changeant de forme à chaque instant par la protension ou la rétraction d'une partie de leur corps, d'où résultent des expansions variables» [2]. C'est à Saint-Pétersbourg en 1875 que Lösch découvre pour la première fois des trophozoïdes mobiles qu'il nomme *Amoeba coli* dans les selles d'un agriculteur atteint de dysenterie chronique. A l'autopsie de sujets morts de dysenterie, Koch décèle en 1883, dans des ulcérations intestinales, des amibes que Councilman et Lafleur décriront dans des abcès hépatiques et baptiseront, en 1891, *Entamoeba dysenteria*. Schaudinn lui donne son nom actuel d'*Entamoeba histolytica* en 1903.

La première description d'une amibe libre eut lieu en 1899 par Schardinger. Il découvre une amibe ayant la capacité de se transformer en forme flagellée et la nomme *Amoeba gruberi*. Le genre *Naegleria* sera suggéré plus tard par Alexeieff en 1912. La même année, Chatton et Lalung-Bonnaire (1912) décrivent le genre *Vahlkampfia*. Le genre *Acanthamoeba* sera décrit par Volkonsky en 1931.

En 1930, Castellani a découvert des amibes dans une culture de la *pararoseus cryptococcose*. Ils étaient ronds ou de forme ovale de 25 à 40 μm de diamètre, avec la présence de pseudopodes. La forme de ces amibes étaient caractéristique car elles étaient enkystées en double parois cellulaires de 12 à 20 μm de diamètre. Ils ont été placés dans le genre *Hartmannella*, et furent

baptisées *Hartmannella castellanii*. en 1931, Volkonsky subdivisé le genre *Hartmannella* en trois genres selon la morphologie des kystes: des amibes caractérisées par des kystes à parois lisses rondes (*Hartmannella*), des amibes caractérisées par leur division nucléaire dans les kystes et des amibes caractérisés par l'apparition de fuseaux lors de la mitose de kystes a double parois et une couche externe irrégulière.[3]

En 1957, Jahnes et Fullmer trouvent accidentellement une amibe dans des cultures de reins de singe lors d'une préparation de vaccin antipoliomyélitique. Ils observent en effet des éléments arrondis, semblables à des cellules modifiées par l'effet cytopathogène induit par certains virus simiens. Un examen plus approfondi montra qu'il s'agissait de kystes d'amibes [5]. Culbertson *et al.* montrent que cette souche d'amibe, inoculée par voie nasale au singe et à la souris entraîne une méningo-encéphalite mortelle en 4 à 7 jours. Ils suspectent également cette amibe de pouvoir pénétrer l'organisme par ses propres moyens sans inoculation préalable [5]. Le pouvoir pathogène des amibes libres est confirmé en Australie, quand Fowler suspecte le premier cas humain. La même année, 4 cas de méningite amibienne sont décrits, survenus chez des sujets jeunes qui avaient nagé dans des piscines ou collections d'eau. Les auteurs suspectent alors une amibe de genre *Acanthamoeba* comme l'agent responsable [6]. Un an plus tard, l'amibe est isolée et identifiée : il s'agit de *Naegleria fowleri*. Cette pathologie est alors dénommée Méningo-encéphalite Amibienne Primitive (MEAP).

Le premier cas humain de méningo-encéphalite à *Acanthamoeba*, dans un premier temps attribué à *Hartmannella*, est décrit en 1972. Une étude rétrospective montrera que l'amibe en cause était *Acanthamoeba culbertsoni* [7].

Le nom d'« Encéphalite granulomateuse amibienne » (EGA) est alors donné à cette infection pour la distinguer des infections à *Naegleria*. Environ 150 cas d'EGA ont été décrits dans le monde [8].

Par la suite, en 1975, Jones décrit le premier cas de kératite amibienne à *Acanthamoeba* [9].

L'incidence de cette maladie n'a depuis cessé d'augmenter, parallèlement à l'accroissement du port de lentilles, facteur de risque retrouvé dans plus de 80 % des cas. Néanmoins, des kératites amibiennes peuvent se développer chez des non porteurs, à la faveur d'un traumatisme ou plus rarement spontanément [10].

En 1993, une nouvelle espèce d'amibes libres pathogène pour l'homme est décrite par Visvesvara, *Balamuthia mandrillaris*. Sa pathogénicité est très proche de celle des *Acanthamoeba* [11].

L'étude des parasites et symbiotes des amibes libres est relativement récente, puisque c'est seulement en 1956 que Drozanski décrit la présence d'un micro-organisme intracellulaire lysant les amibes. Puis, en 1975, Proca-Ciobanu démontre la présence d'endosymbiotes dans les amibes de genre *Acanthamoeba*.

La première évocation d'un rôle de réservoir de bactéries pathogènes entre autre *Legionella pneumophila* fut faite par Krishnan-Prasad en 1978. Cette découverte accrut l'intérêt des microbiologistes pour l'étude des interactions entre amibes libres et microorganismes résistants aux amibes et depuis, de nombreuses bactéries, virus ou champignons sont régulièrement décrits comme étant potentiellement associés aux amibes dans l'environnement et sont appelés « micro-organismes résistants aux amibes libres » [12].

II- Historique de la Legionella

La découverte des légionelles remonte au mois de juillet 1976, lorsqu'une épidémie de pneumonie aiguë frappa un groupe de vétérans de l'American Legion, réunis pour leur congrès annuel à Philadelphie. Sur les 4400 participants, 182 personnes tombèrent grièvement malades et parmi celles-ci, 29 décédèrent (taux de létalité 16%) [13].

L'agent causal, un bacille Gram négatif fut isolé environ 6 mois plus tard. Le genre *Legionella* sera créé en 1979, et cette bactérie sera dénommée *Legionella pneumophila* [14]. C'est par l'intermédiaire du système de climatisation de l'un des hôtels habités par les participants au congrès que l'infection s'était propagée.

L'isolement de la bactérie a rendu possible la mise au point d'un diagnostic sérologique. L'étude des sérums provenant d'épidémies antérieures de pneumonies non expliquées a permis de montrer la responsabilité de *L. pneumophila*.

Rétrospectivement, *L. pneumophila* fut également identifiée comme agent responsable d'une épidémie qui s'était déclarée en 1968 à Pontiac (Michigan). L'infection, qui n'avait causé aucun décès, s'était manifestée par une forte fièvre (d'où le nom de fièvre de Pontiac) accompagnée de myalgies et symptômes neurologiques [15].

L'analyse de diverses sérothèques a permis de confirmer d'autres épisodes épidémiques imputables aux légionelles, dont le plus ancien remontait à 1947 [16].

En 1980, Rowbotham a été le premier à montrer que les amibes des genres *Acanthamoeba* (*A. castellanii*, *A. polyphaga*) pouvaient être infectées par *L. pneumophila*, étude initiant de nombreuses investigations de cette relation [17].

Depuis, des études confirment la présence d'amibes infectées par des légionelles dans des réseaux d'eau hospitaliers ou des échantillons d'eaux incriminés dans des épidémies. Parmi celles-ci, les principaux genres retrouvés sont *Hartmannella*, *Acanthamoeba* et *Naegleria* [18].

Segal et Shuman ont identifié, en 1999, des gènes de *L. pneumophila* permettant sa croissance dans *A. castellanii*. Il s'agit des mêmes gènes que ceux permettant sa multiplication dans les macrophages humains [19].



Epidémiologie



I- Les agents pathogènes :

I-1. Classification des amibes :

Depuis les premières études des amibes, différentes classifications ont été proposées.

C'est en 1977, que Pussard et Pons ont proposé une clé dichotomique pour la détermination des espèces d'*Acanthamoeba* basée sur la morphologie de la paroi kystique (nombre et répartition des ostioles, aspect de l'exine) et proposent 3 groupes [20] :

- Groupe I (*A. astronyxis*, *A. comandoni*, *A. echinulata*, et *A. tubiashi*) : kystes de taille supérieure ou égale à 18 μm , endokyste étoilé et ectokyste sphérique lisse.
- Groupe II (*A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. rhyodes*, *A. mauritaniensis*, *A. divionensis*, *A. griffini*, *A. lugdunensis*, *A. quina*, *A. hatchetti* et *A. triangularis*) : kystes de taille inférieure à 18 μm , endokyste polygonal ou étoilé, ectokyste irrégulier ou ridé.
- Groupe III (*A. culbertsoni*, *A. lenticulata*, *A. palestinensis*, *A. pustulosa* et *A. royreba*) : kystes de taille inférieure à 18 μm , endokyste arrondi ou légèrement angulaire, ectokyste fin et lisse, voire légèrement ridé.

Cette classification est depuis régulièrement révisée, grâce aux données de la biologie moléculaire.

En 2005, un consortium de 28 biologistes a publié un article de synthèse sur la nouvelle classification des Eucaryotes [21]. Les auteurs ont présenté une hiérarchie simplifiée pour chaque rang, sans titre formel, souhaitant ainsi affranchir leur classification des anciens systèmes hiérarchiques assez contraignants (Tableau 1).

Tableau 1 : Résumé de la classification des amibes libres [21]

Super-règne :	EUKARYOTA
Règne :	PROTOZOA
Sous-règne :	SARCOMASTIGOTA
Phylum :	AMOEBOZOA
☛ TUBULINEA	
☛ TUBULINIDA	
Genre <i>HARTMANNELLA</i>	
Espèce : <i>Hartmannella vermiformis</i>	
☛ ACANTHAMOEBIDAE	
Genre <i>ACANTHAMOEBIA</i>	
Espèces : <i>Acanthamoeba astronyxis</i> , <i>A. castellanii</i> , <i>A. culbertsoni</i> , <i>A. lenticulata</i> , <i>A. mauritaniensis</i> , <i>A. polyphaga</i> ...	
Genre : <i>BALAMUTHIA</i>	
Espèce : <i>Balamuthia mandrillaris</i>	
☛ EUMYCETOZOA	
☛ DICTYOSTELIA	
Genre <i>DICTYOSTELIUM</i>	
Espèce : <i>Dictyostelium dendriticum</i>	
Phylum :	EXCAVATA
☛ HETEROLOBOSEA	
☛ VAHLKAMPFIIDAE	
Genre <i>NAEGLERIA</i>	
Espèces : <i>Naegleria andersoni</i> , <i>N. australiensis</i> , <i>N. chilensis</i> , <i>N. fowleri</i> , <i>N. gruberi</i> , <i>N. indonesiensis</i> , <i>N.</i> <i>jadini</i> , <i>N. lovaniensis</i> ...	
Genre <i>VAHLKAMPFIA</i>	
Espèce : <i>Vahlkampfia avara</i> , <i>V. inornata</i> , <i>V. lobospinosa</i>	

I-2. *Acanthamoeba castellanii* :

Cette amibe est fréquemment utilisée dans la littérature, ce qui en fait le spécimen le plus approprié pour l'étude des interactions amibes/légionelles.

en effet, *A. castellanii* est une amibe bactériophage ayant des propriétés de phagocytose plus importante que les autres amibes en milieu de culture.

I-2-1. Morphologie :

Acanthamoeba castellanii se présente sous deux formes :

- une forme végétative ou trophozoïte,
- une forme kystique.

A la différence des amibes du genre *Naegleria*, *A. castellanii* ne présente pas de forme flagellée.

I-2-1-1. Forme trophozoïte :

La forme végétative ou trophozoïte, qui ne possède pas de forme stable, (Figure 1) est la forme biologiquement active, capable de se mouvoir, de se nourrir et de se diviser. Les trophozoïdes mesurent environ 25 à 40 µm. C'est uniquement sous cette forme que les amibes se multiplient, la reproduction s'effectuant par division binaire.

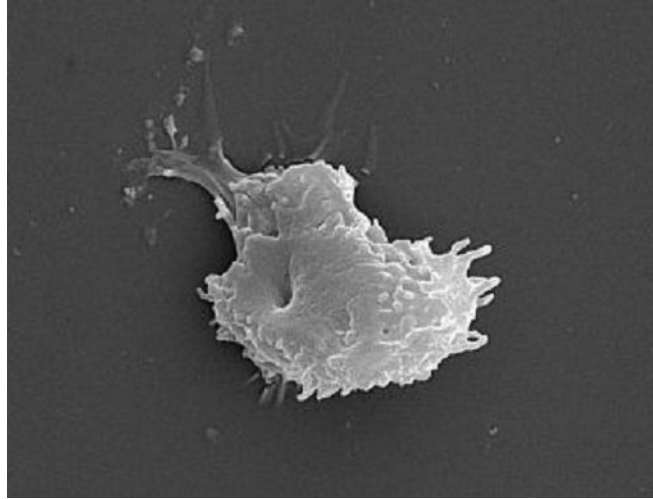


Figure 1 : Trophozoïte d'*Acanthamoeba* en microscopie électronique à balayage [22]

L'organisation cellulaire correspond typiquement à celle d'une cellule eucaryote (Figure 2) ; on retrouve ainsi un noyau avec un large nucléole central, un appareil de Golgi, un réticulum endoplasmique lisse et rugueux, des ribosomes, des mitochondries, des microtubules et différentes vacuoles. Les vacuoles cytoplasmiques sont des vacuoles contractiles permettant le contrôle du contenu en eau de la cellule, ainsi que des vacuoles de sécrétion (contenant des enzymes spécifiques de certaines fonctions) ou des vacuoles de phagocytose [23].

Le cytoplasme se compose de deux parties :

- l'ectoplasme, hyalin et homogène, de viscosité importante,
- l'endoplasme, granuleux et vacuolaire, qui contient des organites, un noyau, des substances cristallisées et des inclusions diverses.

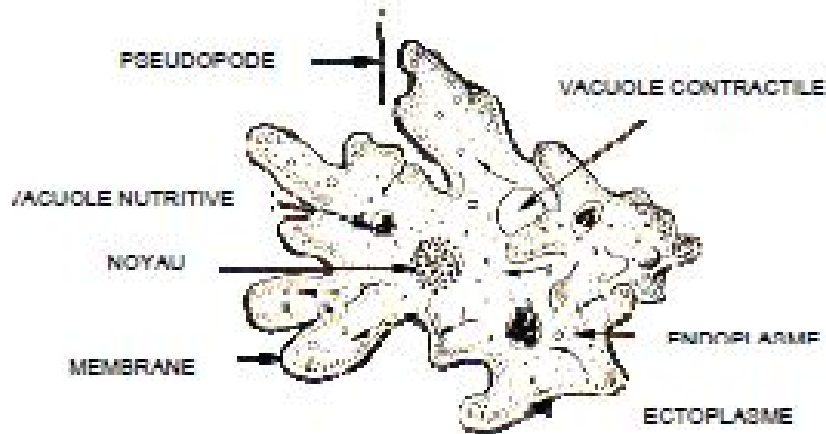


Figure 2 : Organisation cellulaire d'un trophozoïte d'amibe libre [24].

Ces amibes sont nues, c'est à dire qu'elles ne sont pas entourées d'une cuticule épaisse. La membrane plasmique est trilamellaire. A la surface de cette membrane plasmique, on distingue de petites projections appelées acanthopodes, caractéristiques du genre (Figure 3).

Une vacuole contractile proéminente contrôlant l'hydratation de l'amibe ainsi qu'un noyau avec un large nucléole central sont également des caractéristiques distinctives du genre [25].

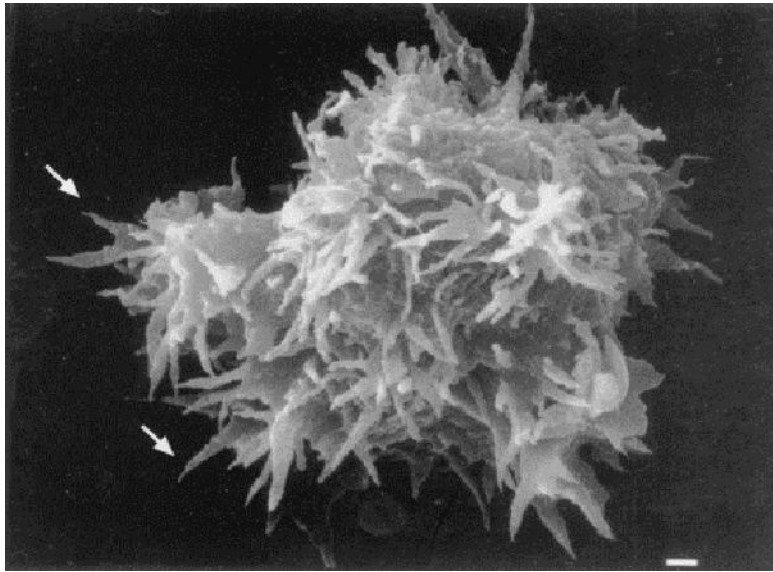


Figure 3 : Acanthopodes d'un trophozoïte d'*Acanthamoeba* en microscopie à balayage. Barre = 1 μm [25].

I-2-1-2. Forme kystique :

Le kyste (Figure 4) est la forme de résistance, biologiquement inactive. Leur taille est inférieure à 18 μm .

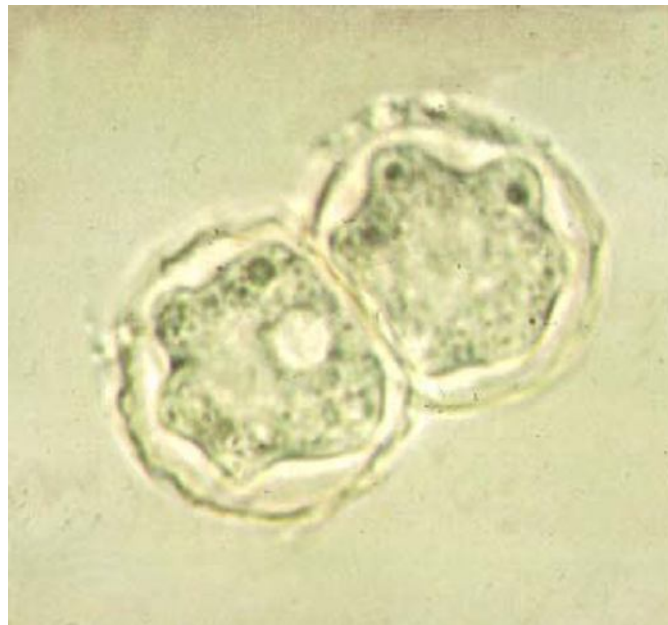


Figure 4 : Kystes d'*Acanthamoeba*. Barre = 2 μm . [26].

Les kystes se forment lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables à la forme végétative (froid, dessiccation ou épuisement du milieu nutritif) et permettent aux amibes de survivre longtemps en état de latence, avec une activité métabolique réduite. La forme kystique permet également une dissémination aquatique ou aérienne et l'implantation dans de nouveaux biotopes.

Le protoplasme kystique possède un cytoplasme fortement déshydraté, ce qui entraîne une augmentation de sa densité. De nombreuses vacuoles sont observables, certaines d'entre elles contiennent le matériel nécessaire à l'édification ou au maintien de la paroi kystique.

D'autres, riches en ribonucléoprotéines, sont probablement par autophagocytose, une source énergétique pour le protoplasme [27].

Les kystes sont plus résistants que les trophozoïtes aux biocides, à la chloration et aux antibiotiques et peuvent survivre à des températures extrêmes (-20°C à 56°C) [28;25]. Mazur *et al.* ont démontré que les kystes restaient viables et potentiellement infectants après 24 ans dans de l'eau à 4°C [29]. Il a cependant été démontré qu'un traitement par le fréon ou l'oxyde de méthylène ou l'autoclavage permettait de détruire les kystes [30].

Quand les conditions de vie redeviennent favorables, l'eau pénètre par osmose dans le kyste et réhydrate le cytoplasme. Les synthèses et métabolismes reprennent. Le trophozoïte sort du kyste par un ostiole ayant perdu son opercule et reprend une vie libre.

I-2-2. Locomotion :

Les trophozoïtes d'*A.castellanii* se déplacent lentement et dans toutes les directions. L'association de mouvements amiboïdes polarisés et de l'adhésion des trophozoïdes au substrat est à l'origine de la mobilité des amibes.

Les trophozoïdes sont en effet capables de mouvements amiboïdes dus à l'émission de pseudopodes, correspondant à une déformation de la membrane plasmique causée par des interactions de type actine/myosine. Les pseudopodes sont formés des deux types de cytoplasme : l'endoplasme fluide entouré de l'ectoplasme gélifié riche en myosine et en microfilaments d'actine fixés à la membrane plasmique. Le mouvement se fait grâce à un courant endoplasmique qui va des pseudopodes en rétraction, avec dépolymérisation de l'actine, vers les pseudopodes en extension, avec une gélification par polymérisation de l'actine [31].

Les déplacements des trophozoïdes ne se font pas au hasard et sont influencés par des phénomènes de chimiotactisme. En 1996, Schuster démontre que les trophozoïdes d'*A. castellanii* sont attirés par une variété de produits bactériens (peptide bactérien, lipopolysaccharide, lipide A), suggérant la présence de récepteurs pour ces produits bactériens à la surface de l'amibe [32].

I-2-3. Nutrition :

Les amibes se nourrissent de bactéries, d'algues et de levures rencontrées dans l'environnement. Certaines sont également capables de vivre dans des milieux liquides axéniques sans particules où elles intègrent les nutriments par pinocytose [33].

Les amibes du genre *Acanthamoeba*, et en particulier *A. castellanii*, sont connues pour leur capacité importante de phagocytose de particules en milieu de culture liquide (bactéries mortes ou vivantes, levures ou particules de latex), ce qui a permis de nombreuses études de ce phénomène. La phagocytose se fait par formation de pseudopodes qui entourent la particule (Figures 5 et 6), et permet la formation d'un phagosome dans laquelle la phagocytose et la digestion ont lieu après fusion avec les lysosomes. Selon Bowers, l'ingestion d'une particule est rapide ; elle est entourée par un pseudopode et transportée dans le cytoplasme dans un phagosome en 40 secondes [34].

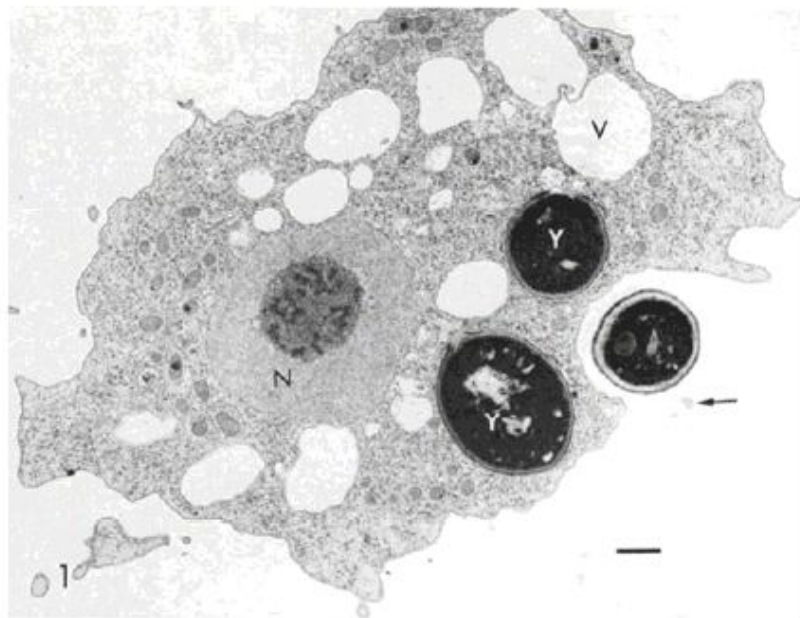


Figure 5 : Phagocytose de levures par *A. castellanii* : 2 levures (Y) ont été phagocytées, la troisième est entourée par un acanthopode (V = vacuole, N = noyau). Barre = 1 μ m [34].

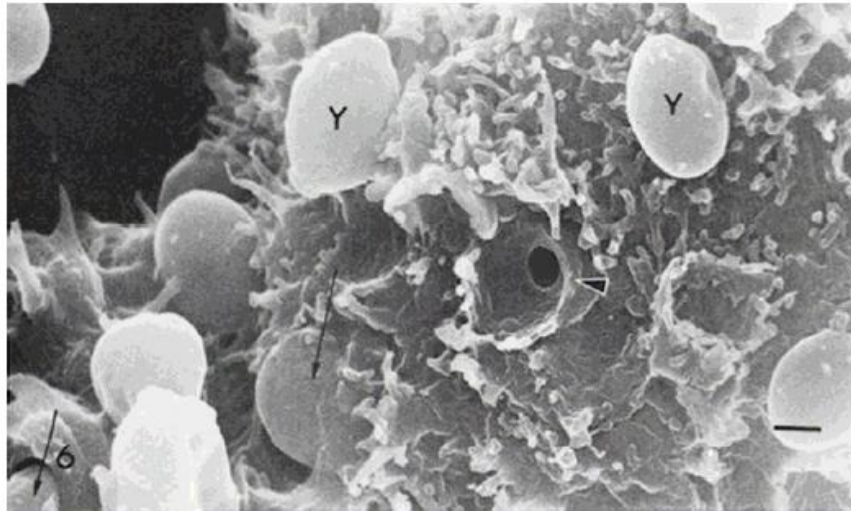


Figure 6 : Microscopie à balayage montrant la “bouche” d’un phagosome (flèche pleine noire). La surface de l’amibe est parsemée de multiples acanthopodes, certains entourant des levures (Y). Les flèches indiquent 2 levures en cours d’ingestion. Barre = 1 μm [34].

Certains auteurs ont également décrit la formation de « food cup » à la surface des trophozoïdes (Figure 7), structures temporaires se formant afin de capter les bactéries, levures ou débris cellulaires [25].

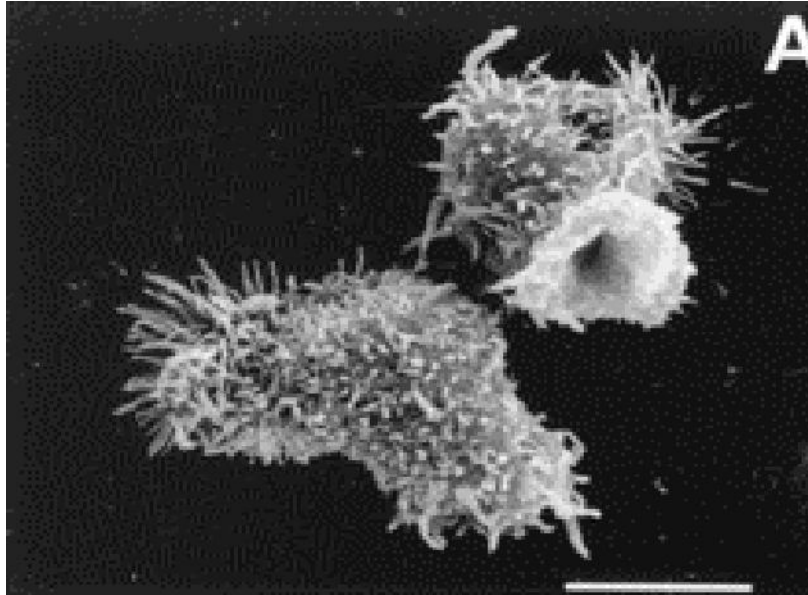


Figure 7 : Présence d’une « food cup » à la surface d’un trophozoïte d’*A. culbertsoni*. Barre = 10 μm [25].

I-2-4. Différenciation :

I-2-4-1. Enkystement :

I-2-4-1-1. Initiation :

L'enkystement d'*A. castellanii* est induit lorsque l'environnement devient défavorable à la forme végétative (déplétion nutritive, dessiccation, modifications de la température ou du pH, agressions chimiques...) [25].

In vitro, l'enkystement peut être provoqué par déplétion nutritive et/ou ajout d'ions calcium ou magnésium, mais il est également induit par des substances telles que la taurine, l'épinéphrine, la norépinephrine, la tyramine [35] ou le bromure d'éthidium, certains composés de la famille des diamidines (l'hydroxystilbamidine, le diminazene aceturate) [36].

L'hyperosmolarité permet également de déclencher l'enkystement [37].

Il a été démontré que l'enkystement induit par les différents agents chimiques est favorisé par un facteur extracellulaire appelé EEA (Encystment-Enhancing Activity). Ce facteur est produit par les amibes et est abondant dans les cultures de haute densité cellulaire. Il n'a par lui-même aucun effet sur l'enkystement mais stimule la différenciation induite par les agents chimiques ou la déplétion carbonée [36]. Les auteurs ont déterminé certaines propriétés de ce facteur leur permettant de supposer qu'il s'agit d'un nucléotide modifié, mais ils n'ont cependant pas réussi à le purifier.

Différentes études ont été menées afin de déterminer les conditions optimales permettant d'obtenir un taux d'enkystement maximal *in vitro*. Ainsi, il a été démontré que les cultures d'*A. castellanii* en phase exponentielle ont un taux d'enkystement faible (5 à 8%) après 72 heures dans un tampon

d'enkystement, alors que 50 à 70% des cellules provenant de cultures en phase stationnaire s'enkystent après seulement 20 à 30 heures dans ce même tampon [38].

Ces mêmes auteurs ont également étudié le cycle cellulaire des trophozoïdes ; ils ont montré l'absence de phase G1, une phase G2 majoritaire (90% de la durée du cycle), les phases S et M étant courtes (environ 10% du cycle). Leurs résultats montrent également que l'enkystement est initié à un point particulier de la phase G2 tardive et que, contrairement aux cellules en phase exponentielle, l'importante capacité d'enkystement des cellules en phase stationnaire est due à un arrêt de ces cellules à ce point particulier du cycle. Ce point particulier du cycle ou phase de transition du développement, a également été décrit chez une autre amibe, *Dictyostelium discoideum* [39].

I-2-4-1-2. Modifications morphologiques :

Les différentes étapes de l'enkystement, et en particulier les modifications structurales, sont les suivantes [40]:

- la phase de pré-enkystement : les cellules ne sont pas distinguables morphologiquement des trophozoïdes (Figure 8a). Cependant, des modifications progressives du volume, de la concentration en protéines, lipides et carbohydrates et de l'activité de certaines enzymes sont observées.

- la phase d'initiation du kyste : les cellules s'arrondissent (Figure 8b), perdant leur pseudopodes et leur capacité d'adhérer au support.

- la phase de synthèse de la paroi kystique : au bout de 7 jours dans un milieu propice à l'enkystement, la plupart des cellules sont des kystes matures entourés de leur paroi cellulosique (Figure 8c). La synthèse de cette paroi

s'effectue en deux temps : synthèse de l'exine dure et épaisse (le composant majoritaire est la cellulose) puis synthèse de l'intine, adhérant très étroitement au protoplasme amibien. Ces deux parois fusionnent à certains endroits pour former des pores, ou ostioles, obstrués par un opercule. L'observation, dans le cytoplasme des amibes en cours d'enkystement, de vésicules denses contenant un matériel fibreux similaire à celui retrouvé dans la paroi suggère une implication de ces structures dans le transport à la membrane des composants cellulotiques [41].

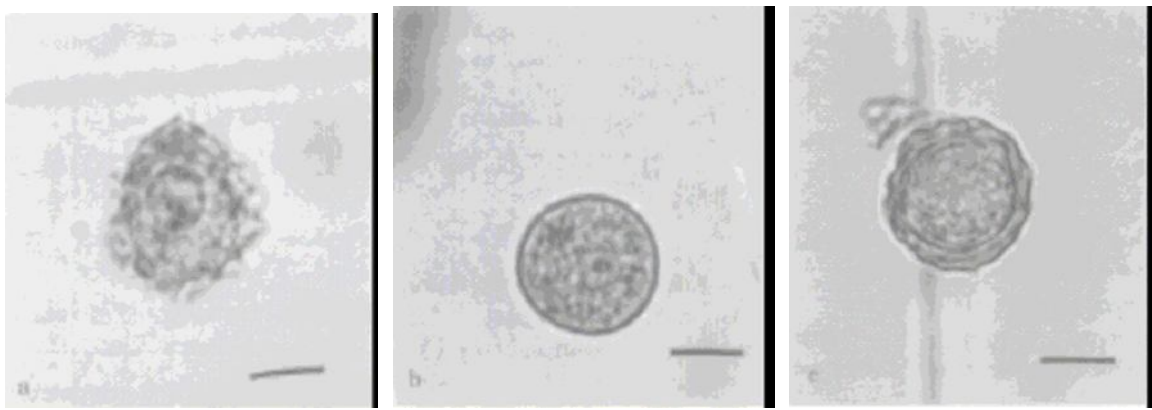


Figure 8 : Les différentes étapes de l'enkystement d'*A. castellanii* [40]. (a) trophozoïte ; (b) kyste jeune ; (c) kyste mature. Barre= 10 μ m.

Les différentes modifications physiologiques induites ont été décrites par Bowers et Korn en 1969. Ils rapportent que l'enkystement induit une diminution d'environ 65% de la surface cellulaire et de 80% du volume de la cellule, principalement par déshydratation. Le volume de l'appareil de Golgi augmente pendant l'enkystement puis revient à son volume original dans les kystes matures. Ils décrivent également l'apparition précoce d'autolysosomes dans le cytoplasme des cellules en cours d'enkystement (contenant des mitochondries, des lipides et du glycogène) ainsi que l'excrétion du contenu de vacuoles

nutritives. Ces phénomènes sont en adéquation avec leurs résultats montrant au cours de l'enkystement une diminution du poids sec, des protéines, des phospholipides et du glycogène [27].

I-2-4-1-3. Mécanismes moléculaires :

Comparativement à *Giardia intestinalis* et *Entamoeba invadens*, qui respectivement utilise 3 protéines et une protéine majeure dans le mécanisme d'enkystement [42], *A. castellanii*, fait intervenir une seule protéine spécifique du kyste, la protéine CSP21 (cyst specific protein 21), mais sa fonction était inconnue [43;44].

Concernant les mécanismes de déclenchement de l'enkystement, une étude avait montré que la taurine ou les amines biogènes déclenchaient l'enkystement d'*A. culbertsoni* en se fixant sur un récepteur spécifique à la membrane des trophozoïtes, activant ainsi une adénylate cyclase, et provoquant une accumulation d'AMPc dans la cellule. Une protéine cytosolique était suspectée de se lier à l'AMPc mais la nature de cette protéine restait inconnue [35].

Différents travaux avaient également été menés afin d'étudier les variations de la composition protéique au cours de l'enkystement ainsi que la régulation de l'expression des gènes. Ainsi, Jantzen avait montré que la synthèse d'actine était complètement arrêtée pendant les derniers stades de l'enkystement. La quantité relative d'ARNm restait cependant constante, alors que la synthèse d'actine était réduite de 20 fois. Les auteurs concluaient que l'expression de l'actine pendant la différenciation était contrôlée par des mécanismes inhibant la traduction [45].

Une autre étude montrait une diminution de la synthèse des protéines ribosomales au cours de l'enkystement, la régulation du nombre de ribosomes étant liée aux besoins protéiques de la cellule [46].

Dans une étude des variations du profil protéique d'*A. castellanii* au cours de l'enkystement, 67 protéines d'intérêt avaient été détectées : 51 protéines disparaissaient et 16 protéines étaient nouvellement synthétisées pendant l'enkystement. Une seule de ces protéines était identifiée, la subtilisin-like serine protéinase, cette protéine étant spécifique de la forme kystique [47].

Au cours des quatre dernières années, différents auteurs se sont également intéressés aux molécules liées à l'enkystement chez *A. castellanii*. Les travaux récents de Moon *et al.* ont ainsi permis d'identifier certaines protéines pouvant être impliquées dans les mécanismes d'enkystement d'*A. castellanii*. En utilisant la RT-PCR suivie d'une étude d'expression différentielle des gènes, les auteurs ont mis en évidence la surexpression de 6 gènes, dont un codant la protéine DEG14 (differentially expressed genes 14)[48].

Cette protéine possède 77% de similitude avec la subtilisin-like serine proteinase (SubSP) décrite par Hong comme étant une enzyme sécrétée et un facteur de virulence potentiel [49].

Dans une autre étude, Moon *et al.* ont effectué une analyse des EST (Expressed Sequence Tag) obtenus à partir de kystes d'*A. castellanii*, et ont identifié 23 gènes absents des EST issus de trophozoïtes. Ces EST codaient des protéines déjà décrites (comme la CSP 21 ou la SubSP), mais également de nouvelles protéines (l'énolase, la culline 4 ou la protéine autophagique 8) qui pourraient être liées aux processus d'enkystement [48].

Par la suite, ces mêmes auteurs se sont plus particulièrement intéressés au rôle joué par la SubSP dans l'enkystement. La plupart des études réalisées jusqu'à présent sur les enzymes protéolytiques d'*Acanthamoeba*, avait montré leur implication majeure dans la pathogénicité [50-52].

Dans leurs travaux, Moon *et al.* retrouvent une surexpression du gène codant la SubSP au cours de l'enkystement. Des études de localisation intracellulaire leur permettent également de montrer que la protéine est localisée dans les autophagosomes pendant l'enkystement, suggérant son implication dans les phénomènes de recyclage moléculaire survenant au cours de la différenciation [53].

L'implication des sérines protéases dans la différenciation d'*A. castellanii* a été récemment confirmée par des travaux montrant l'inhibition de l'enkystement par incubation des trophozoïtes avec un inhibiteur de sérines protéases, le PMSF (phényl-méthyl-sulfonyl-fluoride), ou avec des siRNA (small interfering RNA) synthétisés en utilisant la séquence de la SubSP, de façon à se lier aux ARNm spécifiques et empêcher la synthèse de la protéine [54].

I-2-4-2 Désenkystement :

Le désenkystement est le retour de l'amibe d'un statut de cellule en dormance vers un statut métaboliquement actif. Ce phénomène s'observe quand les conditions redeviennent favorables à la survie de la forme végétative. *In vitro*, le désenkystement est déclenché par l'apport de substances nutritives (hydrolysats protéiques et extraits bactériens). Des études de désenkystement utilisant certaines fractions d'extraits d'*Entamoeba coli* ont montré que les effecteurs étaient stables à la chaleur, dialysables et de bas poids moléculaire.

De plus, la plupart des fractions induisant un désenkystement étaient des fractions riches en acides aminés [35].

Les modifications morphologiques observées (Figure 9) sont un mouvement du protoplasme pour se localiser dans une zone du kyste, puis l'apparition d'une ouverture au niveau d'un ostiole de la paroi kystique va permettre l'émergence du trophozoïte à l'extérieur du kyste. Ce phénomène serait rendu possible par la sécrétion précoce par les kystes de 2 protéases, une cellulase et une chitinase [35].

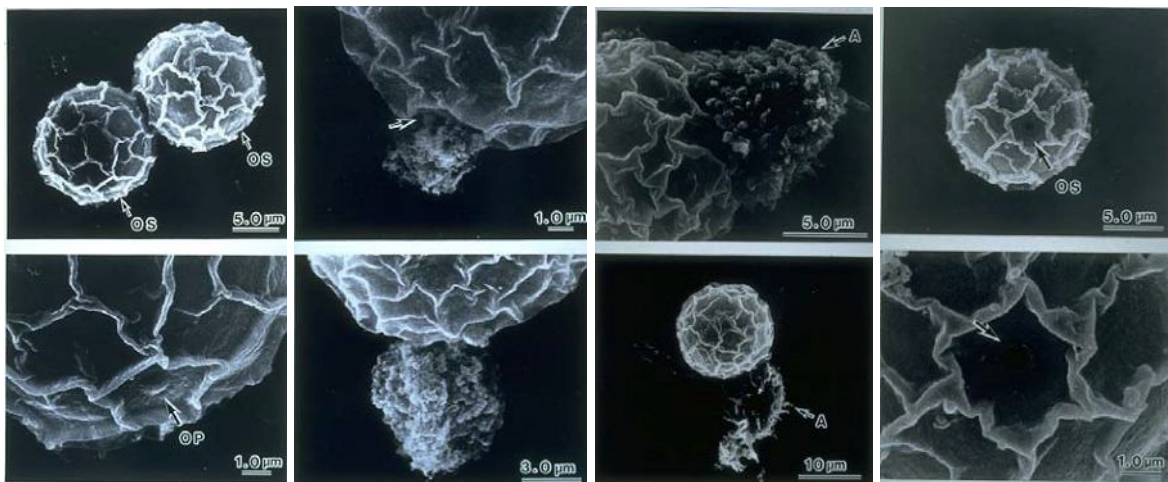


Figure 9 : Les différentes étapes du désenkystement d'*A. culbertsoni*. (1) Kyste mature ; (2) Pré-émergence ; (3) Emergence du trophozoïte ; (4) Kyste vide [55].

Les études d'inhibition des sérines protéases menées par Dudley ont montré que ces protéases jouent un rôle particulier dans la différenciation d'*A. castellanii*, aussi bien dans les mécanismes d'enkystement que dans le désenkystement. En effet, le désenkystement est clairement inhibé quand les kystes sont incubés en milieu PYG en présence de PMSF ou de siRNA interférant avec les ARNm de la SubSP [54].

I-3. Legionella pneumophila :

I-3-1. Taxonomie :

Après les travaux de McDade [56], ayant permis l'isolement de *L. pneumophila*, et les techniques d'hybridation de l'ADN mises en œuvre par Brenner [14], une nouvelle famille est créée, celle de *Legionellaceae*.

Le genre *Legionella* et la famille des *Legionellaceae* forment un groupe cohérent placé dans l'ordre des *Legionellales* (classe des *Gammaproteobacteria*, phylum des *Proteobacteria*, domaine des *Eubacteria*). La famille des *Legionellaceae* comprend pour le moment le seul genre *Legionella* et 49 espèces sont décrites.

La structure antigénique (lipopolysaccharide, protéine majeure de membrane externe et autres antigènes protéiques) permet de reconnaître 64 sérogroupes parmi le genre *Legionella*, qui peuvent être divisés en sous-types. Au moins 15 sérogroupes de *L. pneumophila* ont été décrits dont certains semblent particulièrement virulents.

L. pneumophila est responsable de la majorité des maladies humaines (Tableau 3). Selon les régions, entre 70% et 90% des cas de légionellose sont dus au sérotype 1. D'autres espèces pathogènes, mais sensiblement plus rares sont : *L. anisa*, *L. bozemanii*, *L. cincinnatiensis*, *L. dumoffii*, *L. feeleii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. longbeachae*, *L. micdadei* (Pittsburgh Pneumonia Agent), *L. oakridgensis*, *L. parisiensis*, *L. tucsonensis*...

Tableau 2 : Evolution du nombre de souches d'origine cliniques isolées en France depuis 1998 et répartition des isolements de *Legionella pneumophila* par sérogroupes [57].

	Nombre d'isolements								
	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
<i>L. pneumophila</i>	112	100	133	150	179	179	227	272	220
Sérogroupe 1	95	85	119	144	167	172	222	263	188
Sérogroupe 2	2	2		1	1			1	
Sérogroupe 3	4	7	4	1	3	2		1	4
Sérogroupe 4	1								
Sérogroupe 5			1				2	1	1
Sérogroupe 6	3	1			2	2	3	2	2
Sérogroupe 7			1						1
Sérogroupe 8						2		2	1
Sérogroupe 10									1
Sérogroupe indéterminé	7	5	8	4	3	1		2	2

I-3-2. Morphologie et structure :

Légionella pneumophila est un petit bacille Gram négatif de 0,3 à 0,9 μm de diamètre sur 2 à 3 μm de long, pouvant donner une forme filamenteuse (de 20 μm ou plus) après culture *in vitro* (Figure 12). Cette bactérie est aérobie stricte, non sporulée, non capsulée, à métabolisme non fermentatif. L'activité catalasique est positive (réaction parfois faiblement positive), elle ne réduit pas les nitrates et ne synthétise pas d'uréase. Elle est mobile grâce à la présence d'un ou de plusieurs flagelles polaires, subpolaires ou latéraux.

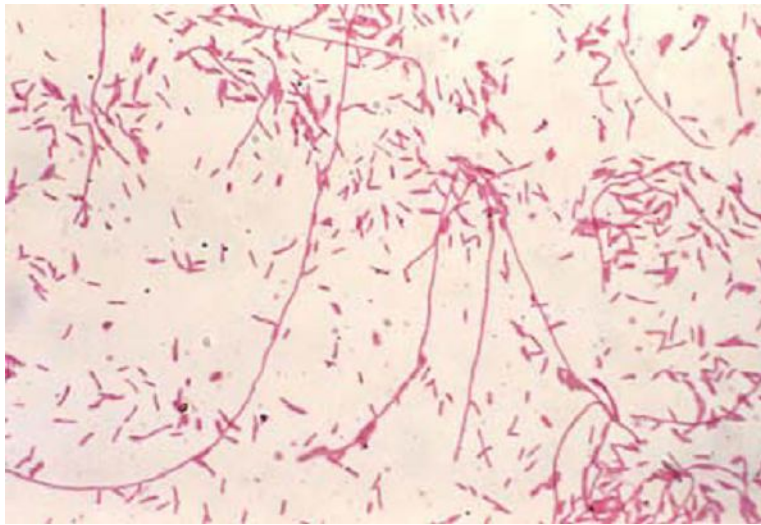


Figure 12 : *L. pneumophila* en coloration de Gram. [58].

La paroi de *L. pneumophila* est caractérisée par la présence de peptidoglycane de structure proche de celle des autres bacilles Gram négatif et d'une membrane externe dont l'analyse électrophorétique (SDS-PAGE) révèle chez toutes les souches de *L. pneumophila* la présence d'une protéine, dite majeure, ayant un poids moléculaire de 29 kDa. Cette protéine majeure a été identifiée en 1985 et s'est révélée être une porine [59].

Les bactéries de genre *Legionella* diffèrent des autres bactéries Gram négatif par leur composition en acides gras ramifiés cellulaires. Ces acides gras ramifiés sont fréquents chez les bacilles Gram négatif mais toujours en faible quantité. Chez *L. pneumophila*, ils arrivent à constituer jusqu'à 90% de l'ensemble des acides gras [60].

L'analyse quantitative des acides gras a ainsi été utilisée pour la caractérisation du genre *Legionella*, puis l'analyse des profils des acides gras estérifiés en chromatographie en phase gazeuse a montré son intérêt pour différencier les espèces de *Legionella*, chaque espèce ayant un profil caractéristique [61].

I-3-3. Caractères métaboliques et facteurs de croissance :

Les acides aminés ont un rôle indispensable dans le métabolisme de *L.pneumophila* lors de sa croissance. Parmi les plus importants, on peut citer l'arginine, l'acide L-glutamique, source d'énergie et la L-cystéine. L'exigence en L-cystéine, caractéristique de *L. pneumophila*, est un élément fondamental pour son identification. Cet acide aminé est d'ailleurs indispensable à sa culture.

Pour sa croissance dans les milieux de culture, *L.pneumophila* a des exigences en fer particulièrement élevée (supérieures à 10 μmol), sous forme de pyrophosphate ferrique, de citrate ferrique ou de chlorure ferrique.

I-3-4. Caractères cultureux :

Legionella pneumophila est une bactérie aérobic stricte. Elle se cultive en milieu légèrement acide, pH 6,9 mais tolère des pH inférieurs à 6,5 et même à 5,5 ; ces pH maintiendraient la cystéine nécessaire à sa culture à l'état réduit. La température optimale est de 35°C mais elle peut se développer à 42°C.

Le milieu gélosé qui convient à la culture de *L. pneumophila* est le milieu BYCE (Buffered Charcoal Yeast Extract) agar à base d'extrait de levure (source de protéines) et de charbon, supplémenté en L-cystéine, en pyrophosphate ferrique et en tampon ACES. 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, polymorphes (Figure 13) et présentent un aspect dit en « verre fritté » lorsqu'elles sont observées à la loupe binoculaire.

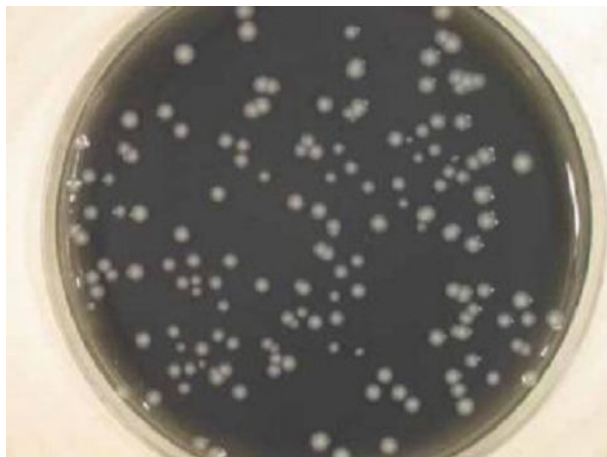


Figure 13 : Aspect des colonies de *L. pneumophila* sur gélose BCYE.

La culture de certaines légionelles est difficile : *Legionella lytica* ainsi que les souches de LLAP (*Legionella*-Like Amoebal Pathogens) n'ont pas été cultivées *in vitro*.

Il a été également démontré que *L. pneumophila* pouvait être présente dans un état viable mais non cultivable. Elle ne retrouve alors son caractère cultivable que si la culture est effectuée en présence de protozoaires [62]. Cette observation a conduit à mettre en œuvre des techniques de co-cultures légionelles/protozoaires.

I-3-5. Identification :

Les méthodes sérologiques utilisant des immun-sérums sont largement utilisées par les laboratoires pour l'identification des espèces de *Legionella* et des différents sérogroupes (immunofluorescence directe, agglutination de particules de latex). L'existence de réactions croisées limite cependant la spécificité de cette identification qui reste utile pour les espèces les plus fréquemment rencontrées.

Des techniques d'identification plus complexes ont été décrites, en particulier celles basées sur la composition cellulaire en acides gras et ubiquinones. Une discrimination plus importante a été obtenue en étudiant les profils des acides gras hydroxylés par chromatographie en phase gazeuse [61], mais ces techniques restent d'interprétation difficile.

Les analyses génotypiques sont largement utilisées pour l'identification des microorganismes de classement difficile. Ces techniques ont l'avantage de ne pas être affectées par les conditions de culture et, contrairement aux techniques chromatographiques, ne sont pas dépendantes des conditions d'extraction et chromatographiques. La plupart de ces techniques génotypiques utilisent le séquençage de la sous-unité 16S des ARN ribosomiaux. Pour les espèces du genre *Legionella*, l'étude de cette séquence a été rapportée [63], mais de nombreux auteurs utilisent le séquençage du gène *mip*, codant pour une immunophiline de la classe des FK506 binding protein, protéine de membrane externe impliquée dans la survie de la bactérie dans les phagosomes [64].

Les techniques de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) et de ribotypage ont également montré leur intérêt dans l'identification des espèces de *Legionella*, en permettant l'obtention de profils spécifiques d'espèces [65].

Plus récemment, la méthode de SBT (Sequence-Based Typing) s'est révélée particulièrement efficace pour le typage des différents isolats de *L. pneumophila*. Un protocole commun a été proposé par les membres du EWGLI (European Working Group for Legionella Infections) utilisant la séquence partielle de 7 gènes [66].

II- Le réservoir

II-1. *Acanthamoeba castellanii* :

A. castellanii est une amibe libre ubiquitaire présente dans tous types d'environnements. L'augmentation récente du nombre de kératites, liée à l'utilisation des lentilles de contact, est probablement due à l'omniprésence de cet organisme dans l'environnement, largement facilitée par la résistance des kystes à la désinfection et la dessiccation.

II-1-1. Environnement naturel :

Des amibes libres du genre *Acanthamoeba* ont été isolées de toutes sortes d'environnements naturels : les sols, les poussières, les eaux douces (lacs, rivières, canaux) et de mer mais elles ont été également retrouvées sur les végétaux et certains animaux (poissons, amphibiens, reptiles et mammifères) [25].

En 1981, Jacquemin *et al.* étudient le réseau d'alimentation en eaux de la ville de Poitiers. Soixante seize prélèvements sont effectués aussi bien au niveau des eaux de sources, souterraines et de surface, qu'au niveau des stations de traitement et du réseau de distribution en eau potable. Ainsi, les milieux naturels et artificiels sont étudiés. A tous les niveaux de prélèvement, des amibes ont été

retrouvées : les $\frac{3}{4}$ appartenant au genre *Acanthamoeba* et environ $\frac{1}{4}$ au genre *Hartmannella*. Seules deux souches du genre *Naegleria* ont été retrouvées [67].

Ces protozoaires peuvent aussi être présents dans l'air sous forme de kystes, ce qui permet une dissémination aérienne. Une étude menée au Nigeria a permis de démontrer la présence d'amibes aéroportées. En effet, pendant la saison sèche souffle, du nord vers le sudouest, un vent sec chargé de sable, l'Harmattan ; après exposition à ce vent pendant 30 minutes à 4 heures de géloses recouvertes d'*E. coli* tuées, les auteurs ont pu isoler 38 souches d'amibes libres [68].

II-1-2. Environnement artificiel :

Les nombreuses constructions humaines offrent de nouveaux biotopes de choix pour ces protozoaires. *A. castellanii* y trouve toutes les conditions de vie favorable à son bon développement : température, humidité, nourriture et protection. Ainsi les piscines chauffées, spas, aquariums, humidificateurs, réseaux de distribution d'eau mais aussi les eaux de refroidissement des machines industrielles ou des réacteurs des centrales nucléaires et les systèmes de climatisation favorisent la multiplication de la flore de l'eau et particulièrement des amibes libres.

Riviera *et al.* ont ainsi retrouvé de nombreuses amibes libres dans les prélèvements effectués dans les piscines de Mexico City : 29 souches appartenant à 8 genres sont isolées, majoritairement des *Acanthamoeba*. Dans leur étude, aucune amibe n'a été retrouvée dans les eaux contenant plus de 5,31 mg.ml⁻¹ de chlore [69].

En 2005, une étude microbiologique des piscines et bains à remous d'Helsinki a montré la présence d'amibes libres dans 14 des 34 prélèvements effectués. Un seul prélèvement, effectué dans une piscine extérieure, était positif à *Acanthamoeba*. Les résultats montrent que 67% des échantillons contenant un taux de chlore libre inférieur aux normes en vigueur ($> 0,5$ mg/l) étaient positifs, mais des amibes étaient également retrouvées dans l'échantillon contenant le taux de chlore libre le plus important (3,3 mg/l). De plus, 71% des amibes étaient retrouvées dans des échantillons de qualité bactériologique correcte [70].

II-2. Legionella pneumophila :

L. pneumophila est un germe de l'environnement (saprophyte ubiquitaire) qui se développe dans les milieux aquatiques naturels et les niches hydriques artificielles : eau courante, eau stagnante, eaux d'évacuation, eaux thermales, conduites d'eau potable, robinets, pommes des douches, dispositifs de refroidissement à eau, systèmes de climatisation, bains bouillonnants (jacuzzi, spa), circuits avec recyclage d'eau et installations industrielles.

En somme, on peut affirmer que dans les milieux hydriques naturels, *L. pneumophila* est présente un peu partout, mais généralement en faible quantité; dans les systèmes humides créés par l'homme en revanche, elle peut trouver des conditions très favorable à sa prolifération.

Le premier facteur affectant l'évolution de *L. pneumophila* dans l'eau est la température. Cette bactérie se multiplie entre 20 et 42°C, et de façon optimale entre 30 et 40°C, à un pH neutre ou légèrement acide. *L. pneumophila* est donc présente surtout dans les eaux tièdes, en particulier les systèmes de conditionnement d'air, les tours aéroréfrigérantes et les réseaux d'eau chaude sanitaire.

La première incrimination des systèmes de climatisation date de 1968 avec l'épidémie de Pontiac au Michigan (U.S.A.). Depuis, les systèmes de climatisation ont été incriminés de nombreuses fois, notamment lors de la célèbre épidémie de légionellose de Philadelphie (U.S.A.), en 1976. Depuis, régulièrement, des épidémies surviennent avec comme source de contamination les tours aéroréfrigérantes de systèmes de climatisation [71;72 ; 73;74].

L. pneumophila est également isolée fréquemment dans les systèmes de distribution d'eau chaude des collectivités, tels qu'hôpitaux [75], hôtels [76] et immeubles collectifs [77].

Parallèlement à leur succès, les spas collectifs sont également incriminés dans de nombreuses épidémies. De part leur volume, leurs conditions d'utilisation et la température de l'eau, les spas constituent, en effet, des milieux particulièrement favorables à la prolifération de microorganismes tels que *L. pneumophila*, mais également d'*A. castellanii* [78].

Pourtant, à ce jour, aucune étude n'a pu montrer que les *Legionella* étaient en mesure de se multiplier par elles même dans l'eau. L'hypothèse de la multiplication extracellulaire des *Legionella* dans les biofilms est évoquée mais dans la plupart des expérimentations, la multiplication des bactéries ne s'effectue qu'en présence de protozoaires [79;80].

Le fait qu'*A. castellanii* et d'autres protozoaires soient des hôtes naturels et des « amplificateurs » de *Legionella* est une réalité largement décrite [12]. Elles sont présentes dans les mêmes niches écologiques que les légionelles, en particulier les eaux réchauffées. Ainsi, la présence commune d'*A. castellanii* et de *L. pneumophila* dans les milieux hydriques, la capacité reconnue d'*A. castellanii* à ingérer cette bactérie et à favoriser sa croissance intracellulaire, la

difficulté voire l'impossibilité de *L. pneumophila* à se multiplier de façon extracellulaire sont autant d'arguments pour faire des protozoaires les seuls pourvoyeurs de *Legionella* [80].

II-3. Rôle d'*A. castellanii* comme réservoir de *L. pneumophila* :

L'aspect le plus remarquable de la survie et de la persistance de *L. pneumophila* dans le milieu aquatique est sa croissance intracellulaire dans les protozoaires. *L. pneumophila* semble en effet incapable d'une multiplication extracellulaire dans l'environnement aqueux [81].

A. castellanii représenteraient le réservoir naturel de nombreux microorganismes et en particulier de *L. pneumophila* dans l'environnement, comme de multiples exemples le laissent penser [82]. Il est admis que de nombreux protozoaires de l'eau sont les hôtes naturels de *L. pneumophila* qui peut s'y multiplier activement après son ingestion par phagocytose.

A. castellanii joue donc un rôle majeur dans l'épidémiologie de la légionellose, puisqu'elle est reconnue capable de protéger les bactéries internalisées vis-à-vis des désinfectants ou des conditions environnementales difficiles et qu'elle permet également à la bactérie d'acquérir certaines caractéristiques, comme une résistance aux antibiotiques, aux biocides, à la chaleur, et une augmentation de son infectivité [12].

III- Cycle de réplication-transmission

La 1^{ère} étape de la réplication intra-parasitaire de *L. pneumophila* est l'internalisation de celle-ci dans *A. castellanii*, chose qui se fait par des mécanismes différents de ceux conduisant à l'adhésion aux macrophages : alors que l'attachement de *L. pneumophila* aux macrophages dépend de récepteurs du

complément, l'attachement des légionelles à *A. castellanii* se fait par l'intermédiaire d'un récepteur amibien de type lectine pour le galactose ou la N-acetylgalactosamine [83;84]. L'adhérence de *L. pneumophila* a cette lectine amibienne induit une déphosphorylation généralisée des résidus tyrosine du récepteur ainsi que d'autres protéines, appartenant au cytosquelette [telles que les protéines d'attachement entre actine et intégrine : paxilline, vinculine, FAK (Focal adhesion kinase)]. Cette activité phosphatasique aboutit à la désorganisation du cytosquelette, et facilite la pénétration des bactéries [81;84].

Il existe un second mécanisme appelé « coiling » phagocytose ou phagocytose par « enroulement », au cours duquel un long pseudopode de la cellule hôte vient s'enrouler autour de la bactérie. Ce phénomène se produit en présence de bactéries tuées par la chaleur ou le formaldéhyde [85]. Ce procédé est décrit presque exclusivement chez les légionelles et les spirochètes, ce phénomène étant ponctuel avec les autres bactéries [86]. (Figure 14-1)

Après son internalisation, la bactérie est contenue dans un phagosome entouré par des mitochondries et des vésicules de la cellule hôte durant les 2 ou 3 premières heures [87;88]. Au bout de 5 heures, le phagosome est entouré d'une membrane dérivée du réticulum endoplasmique granuleux (REG) et garnie de ribosomes (Figure 14-2).

Alors que le phagosome évolue normalement en phagolysosome à la suite de sa fusion avec un endosome tardif qui apporte avec son contenu les hydrolases lysosomales acides, la présence de *L. pneumophila* dans les phagosomes inhibe la fusion normale de ceux-ci avec les endosomes tardifs ; on a alors affaire à un phagosome dont la maturation endosomale est bloquée avec notamment absence d'acidification (endosomal maturation blocked (EMB)-

phagosome) [87]. La multiplication bactérienne devient manifeste à partir de la 8^{ème} heure, et le phagosome demeure entouré d'une membrane garnie de ribosomes pendant les 15 heures qui suivent l'infestation. (Figure 14-3)

La sortie des légionelles surviendrait en deux temps : il y aurait tout d'abord libération de *L. pneumophila* du phagosome répliatif vers le cytoplasme de la cellule hôte dans lequel elles continueraient à se multiplier, puis relargage des bactéries dans le milieu environnant par lyse de la cellule [87,88]. Une fois libérées, les légionelles peuvent se transmettre selon 3 modes particuliers : (Figure 14-4)

- A l'intérieur de vésicules post-amibiennes
- En mode libre.
- Via les kystes d'*A. castellanii*

A travers ces différents modes de transmission, *L. pneumophila* est capable soit de contaminer l'homme par l'intermédiaire de microgouttelettes d'eau d'aérosol (figure 14-5) ou de coloniser d'autres trophozoïdes d'*A. castellanii* ainsi que des biofilms. (Figure 14-6)

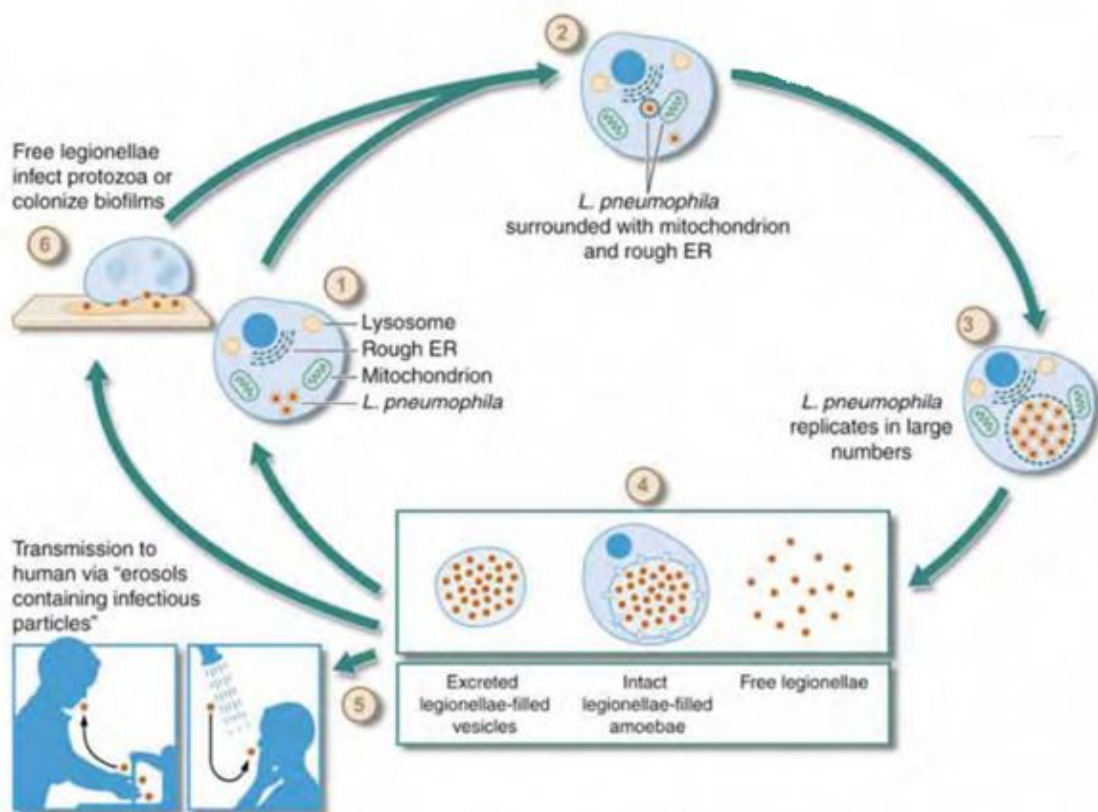


Figure 14 : la réplique de *L.pneumophila* à l'intérieur d'*A. castellanii* et modes de transmission [89]

IV- Les facteurs favorisants

Les facteurs de risque sont connus. *Les légionelloses* surviennent chez des sujets âgés (en moyenne 51 a 52 ans), surtout chez l'homme (sexe ratio : 2,5/1) [90]. L'enfant n'est que rarement atteint [91].

Les autres facteurs de risque sont le tabagisme, l'alcoolisme, certains états pathologiques sous-jacents (diabète, maladies pulmonaires chroniques, insuffisance cardiaque, vascularites, drépanocytose et dermatite), les états

d'immunodépression qu'ils soient causés par des traitements immunosuppresseurs (corticoïdes, cyclosporine, azathioprine), une transplantation rénale, des hémopathies (leucémies à tricholeucocytes, leucémie aigue lymphoblastique, leucémie aigue myéloblastique, leucémie lymphoïde chronique et Hodgkin [92; 93; 94]).

L'exposition à l'agent infectieux est un facteur survenant plus particulièrement au cours de voyages, de séjours dans des hôtels climatisés [95-108].

La chirurgie, l'anesthésie, les cancers viscéraux et l'infection par le VIH (virus d'immunodéficience humaine) ne semblent pas des facteurs de risque majeurs [97;107;109;110].

Enfin, le personnel dentiste a été considéré comme étant à risque [111;112]

V- Les aspects épidémiologiques

Observées pendant toute l'année, *les légionelloses* ont une recrudescence saisonnière très nette en été et en automne (contact avec l'eau au cours des loisirs, mise en route des climatiseurs) [101].

V-1. Types épidémiologiques :

- Forme épidémique : type Philadelphie (1976) ou Pontiac (1968), atteint un nombre plus ou moins important de sujets. Il s'agit en fait d'anademie (maladie non contagieuse qui attaque un grand nombre de personne au même lieu).

- Forme hyper-endémique : se caractérise par la survenue de cas pendant une assez longue période (Bloomington, New-York, Benidorm).

Un type particulier est représenté par les épidémies hospitalières plus ou moins prolongées. On peut isoler des légionelles dans un ou plusieurs condenseurs d'évaporation, mais leur mise hors service n'arrête pas l'endémie.

Il semble que les sources d'infection sont multiples, plusieurs foyers concernant les hôpitaux. Cependant, l'essentiel des souches en cause dans ces endémies appartient à *L. pneumophila* et plus particulièrement au sérotype 1 [101].

Ces pneumopathies nosocomiales surviennent volontiers sur un terrain de débilite à cause d'une affection sous-jacente ou d'une thérapeutique immunodépressive.

- Formes sporadiques : sont les plus fréquentes qu'elles soient ou non contractées à l'hôpital. Ce sont le plus souvent des pneumopathies communautaires acquises en ville [113;114;106;115].

Elles surviennent plus souvent en hiver qu'en été [114;115]. Elles concernent des sujets âgés, tabagiques, alcooliques, souffrant de maladies respiratoires chroniques ou d'affection cardio-vasculaire [113;114].

La fréquence des pneumopathies communautaires à *L. pneumophila* par rapport aux autres causes est très basse selon les séries. Certains auteurs les placent en 1^{ère} position (22,5%) [116], d'autres en 2^{ème} place (15%) après le *Pneumocoque* (76%) [114] ou l'*Hémophilus* (24%) [113]. D'autres encore les classent en 4^{ème} lieu (3,8%) après le *Streptocoque pneumoniae* (15,4%), le *Mycoplasma pneumoniae* (9,3%) et l'*Hémophilus influenza* (4%) [97;106;107].

Le pourcentage de pneumopathies à *L. pneumophila* acquises en ville et nécessitant une hospitalisation varie de 6 à 15% [117;107].

V-2. Taux d'attaque et incidence :

Le taux d'attaque est élevé pour la fièvre Pontiac (95%), plus faible pour la maladie des légionnaires (à Philadelphie, il a été de 5%).

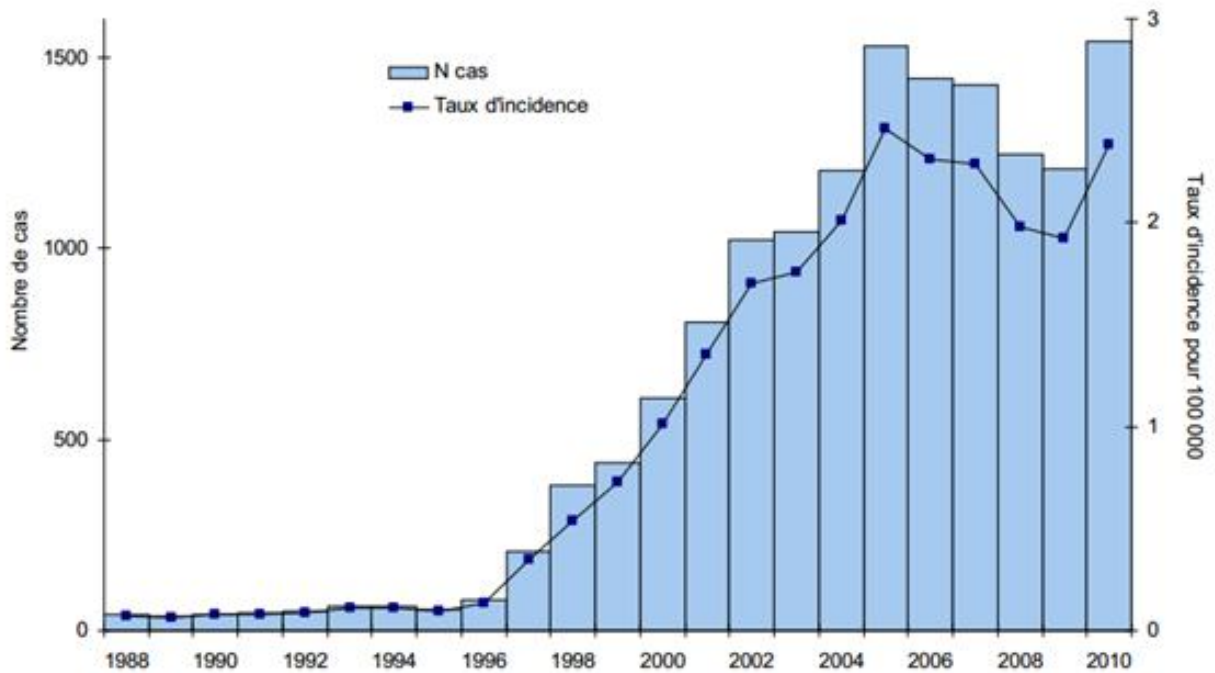
En fait, l'incidence de la maladie des légionnaires dépend du degré de contamination des réservoirs, la susceptibilité des personnes exposées et l'intensité de l'exposition. De plus, la découverte de l'infection dépend également des tests de laboratoires utilisés. Cette incidence est variable selon les auteurs, de 0 à 32 % pour les pneumopathies communautaires et de 0 à 47 % pour les pneumopathies nosocomiales [98;106;108;118;119;120].

40% des patients hospitalisés sont traités initialement dans un service de soins intensifs [107].

V-3. Prévalence :

La prévalence était encore mal connue et variait largement il y a de cela quelque années. En effet, La prévalence des infections hospitalières variait de 5,2 à 13,9% selon les séries, alors que la prévalence des infections communautaires variait de 1% à 26% [117].

En France, depuis 1987 (décret n°87-1012 du 11 décembre 1987), la surveillance de la légionellose repose sur le système de déclaration obligatoire (D.O.). Depuis le renforcement de la surveillance et la mise en place d'un nouveau test de diagnostic rapide urinaire en 1997, le nombre de cas diagnostiqués et déclarés est passé de 80 en 1996 à 1428 en 2007 (Figure 15).



2010 = 1540 cas Incidence 2,4/10⁵

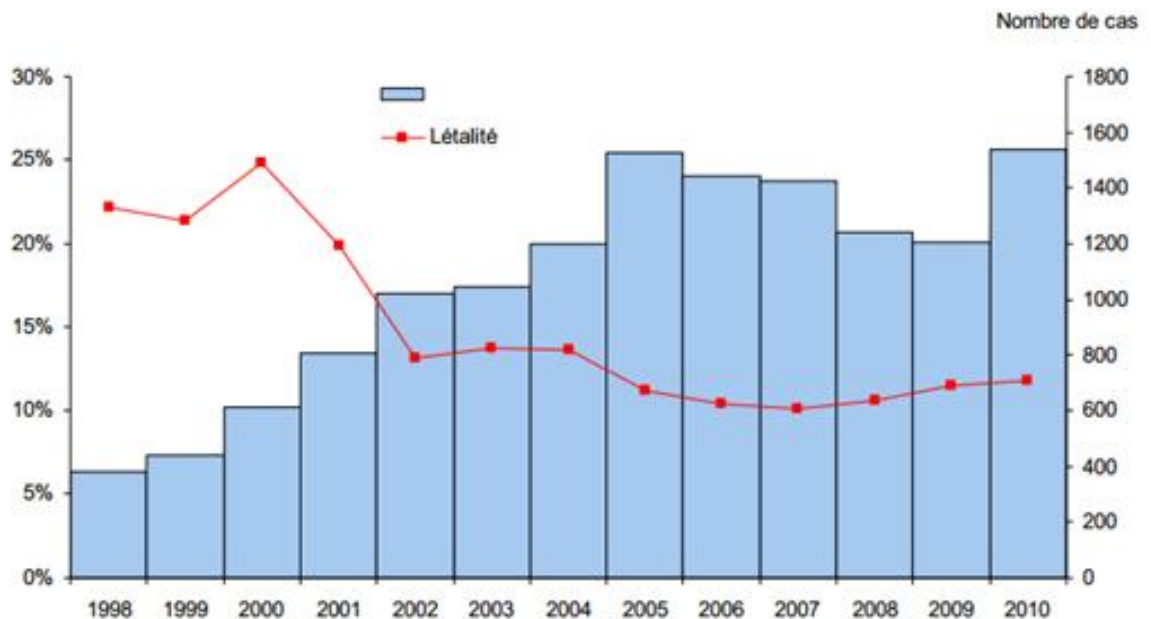
Figure 15 : Evolution du nombre de cas et de l'incidence de la légionellose survenus en France, 1988-2010 [121].

V-4. Taux de létalité :

Il est mieux connu. Au cours des épidémies, il varie de 0% pour la fièvre Pontiac à 38% pour les épidémies hospitalière [97;101;115;122].

Dans les cas sporadiques, la létalité est de l'ordre de 10 à 33% [97;114;115;123;124]. Ce taux dépend du terrain, de la précocité du traitement antibiotique spécifique [101]. La létalité est plus élevée si un traitement inadéquat est instauré (42,8%) [125].

En France, depuis l'instauration en 1988 de la déclaration obligatoire de la *légiionellose*, une diminution importante de la létalité a été observée. Ainsi, elle se situait au alentour de 25% en 2000, pour après se stabiliser aux environ de 11,7% en 2010.



Létalité 2010 = 11,7
(en 2005 = 11,1)

Figure 16 : évolution du nombre de cas et de la létalité de la *légiionellose* en France, 1988-2010. [121]

VI- La répartition géographique

L'incidence des légionelloses pulmonaires contractées en communauté varie considérablement avec le milieu étudié et la méthode de diagnostic employée.

Dans la mesure où un grand nombre de pays manquent des moyens de diagnostic appropriés ou des systèmes de surveillance capables de suivre la situation, l'ampleur réelle du problème est inconnue.

En 2003, 34 pays (soit 467,76 millions d'habitants) sur 36 pays du groupe de travail européen sur les légionelloses ont signalé un total de 4578 cas, ce qui fait une fréquence moyenne en Europe de 9,8 cas par million d'habitants. D'après les données venant du Danemark, où la recherche des légionelles en cas de pneumopathie est bien développée, il serait plus réaliste d'envisager une incidence proche de 10 000 cas par an pour ces mêmes 36 pays. [126]



Physiopathologie



I- Pathogénie et immunité :

I-1. Mécanisme de la maladie des légionnaires :

Chez l'homme, la voie de contamination naturelle est la voie aérienne.

Après colonisation préalable de l'oropharynx ou inhalation directe, les bactéries parviennent aux alvéoles pulmonaires sous forme d'aérosols.

L'infection primitive de l'oropharynx n'a pas été démontrée pour *L. pneumophila*, ce qui suggère que l'aspiration d'eau contaminée ou l'inhalation directe sont les modes d'infestation les plus admis [127;128]. Une fois le microorganisme dans les voies aériennes supérieures, l'appareil cilié essaye de limiter sa pénétration. Mais cette barrière peut être surmontée si le germe adhère fortement aux cellules épithéliales ciliées.

Une fois les alvéoles pulmonaires atteints, les bactéries sont phagocytées par les macrophages ou elles se multiplient [127]. La destruction des macrophages alvéolaires et la prolifération des bactéries entraînent une pneumonie aiguë disséminée, caractérisée par une alvéolite purulente avec afflux de nombreux polynucléaires neutrophiles et macrophages enserrés dans un réseau de fibrine. Cette inflammation aiguë s'accompagne souvent d'hémorragie intra-alvéolaire et d'une extension rétrograde de l'infection vers les bronchioles et les ganglions lymphatiques locorégionaux. Cette alvéolite purulente s'accompagne d'une réaction inflammatoire dans le tissu interstitiel oedématisé et infiltré de nombreuses cellules [127].

L'infection reste habituellement confinée au tissu pulmonaire mais une diffusion hématogène est possible. Les bactéries peuvent donc être retrouvées dans le sang et les organes du système réticulo-endothélial (foie, rate, ganglions

lymphatiques). Des localisations métastatiques en dehors de ces organes sont possibles mais rares. Ainsi a-t-on décrit des pyélonéphrites, des myocardites, des infections sur fistules chez les dialysés [127].

I-2. Virulence de *L. pneumophila* :

I-2-1. Rôle des macrophages :

L. pneumophila est une bactérie à multiplication intracellulaire facultative qui peut échapper aux défenses de l'hôte en parasitant les monocytes et les macrophages dans lesquels elle survit. Les polynucléaires semblent également incapables de la détruire [127]. Des études *in vitro* ont montré que la multiplication de *L. pneumophila* dans une culture de macrophages nécessitait que les macrophages soient vivants et aptes à phagocyter. En effet, cette bactérie est incapable de se multiplier dans un tel milieu en dehors des cellules. *L. pneumophila* adhère aux macrophages et induit sa capture en quelques minutes. Elle se retrouve dans un phagosome vite bordé par un ribosome, empêche la fusion du phagosome avec les lysosomes et interfère avec le métabolisme oxydatif du macrophage. *L. pneumophila* inhibe ou évite ainsi les mécanismes bactéricides habituellement induit lors de la phagocytose [129] et en quelques heures, elle se multiplie dans la cellule.

La phagocytose et la multiplication intracellulaire sont freinées *in vitro* en présence de lymphokines [127] ou de glycoprotéines de *L. pneumophila* [130].

La phagocytose peut être bloquée par la cytochalasine D [131] ou au contraire favorisée par cette dernière [132]. Par ailleurs, *L. pneumophila* est sensible à l'action de la myéloperoxydase et la xanthine oxydase, ce qui pourrait expliquer la relative bactéricidie des polynucléaires [108].

I-2-2. Facteurs de virulence :

Pour établir une infection intracellulaire avec succès, les bactéries pathogènes doivent perturber les échanges métaboliques et échapper à la réponse immunitaire de la cellule infectée. Elles font appel à des appareils de sécrétion, des composants macromoléculaires qui sont localisés à la surface de la bactérie et dont certains sont sécrétés dans la cellule cible et agissent comme effecteurs.

Les systèmes de sécrétion de *L. pneumophila* ont été largement étudiés à cause du rôle essentiel de la sécrétion protéique dans l'infectivité de cette bactérie. Deux systèmes de sécrétion principaux ont été décrits comme impliqués dans l'infectivité de *L. pneumophila* : le système de sécrétion de type II PilD dépendant et le système de sécrétion de type IV codé par les gènes *dot/icm* [133].

L'appareil de sécrétion de type II a été décrit suite à la découverte de la prépiline peptidase PilD. Cette protéine PilD est impliquée dans la biogénèse et l'assemblage des pili de type IV permettant l'adhésion à l'hôte cellulaire et aux biofilms. Attachée à la membrane cytoplasmique, elle est, de plus, directement engagée dans le développement de l'appareil de sécrétion de type II par mobilisation et assemblage de pseudopilines. L'analyse des mutants knock out *pilD* a montré que cette protéine est nécessaire à la croissance intracellulaire des *Legionella* dans les amibes comme dans les macrophages [133].

Le système de sécrétion de type IV est de loin le plus important en ce qui concerne la virulence. Il est codé par les gènes *dot* (defective organelle trafficking) ou *icm* (intracellular multiplication), au nombre de 25 et situés en deux régions séparées du chromosome. La plupart de ces gènes codent des protéines membranaires, composants structuraux du système de sécrétion. Les

gènes *icmS*, *-R*, *-Q* et *-W* codent des protéines cytoplasmiques qui auraient des propriétés de protéines chaperonnes jouant un rôle dans le transfert d'effecteurs *via* le système de sécrétion. Certains de ces effecteurs comme RalF, LidA, SidC, LepA et LepB ont été identifiés comme étant exportés dans la cellule hôte [134].

Ce système de sécrétion est absolument indispensable au processus infectieux de *L. pneumophila*. Il n'est pas requis pour la croissance cellulaire en tant que telle mais son rôle est crucial pour la formation d'un phagosome capable d'échapper à la destruction lysosomale et d'assurer la multiplication intracellulaire.

I-3. Immunité :

I-3-1. Immunité cellulaire :

Les études élémentaires sur *L. pneumophila* ont éloigné la possibilité d'une immunité à médiation cellulaire étant donné la rareté des lymphocytes trouvés au niveau du foyer inflammatoire et du fait que les lésions histopathologiques ne ressemblaient pas à celles des réactions cellulaires [135]. Depuis, plusieurs études ont été menées et tout porte à croire que *L. pneumophila* induit une immunité cellulaire T dépendante. Chez l'animal, la protection peut être transmise par les cellules spléniques et non par le sérum des animaux immunisés [127]. Le développement d'une immunité à médiation cellulaire survient pendant les premiers stades de l'infection [136]. Il est attesté par la prolifération des lymphocytes T circulants et l'apparition d'une hypersensibilité retardée aux antigènes de *L. pneumophila* durant les deux premières semaines de l'infection [137;138;139].

Initialement et des l'inoculation de *L. pneumophila*, se produit un important afflux de neutrophiles et de macrophages transformés en monocytes. Ces phagocytes sont probablement attirés par des facteurs chimiotactiques produits par les macrophages alvéolaires et l'organisme infectant. Ensuite, la phagocytose de *L. pneumophila* est médiée par des récepteurs du complément a la surface des monocytes. *L. pneumophila* fixe le composant C3 du complément a sa surface par la voie alterne du complément et devient apte a la captation par les monocytes [140;141]. Les lipopolysaccharides de la paroi bactérienne activeraient plutôt la voie classique du complément [142].

Quoique les monocytes peuvent ingérer *L. pneumophila* en l'absence d'anticorps spécifiques, leur présence en tant qu'opsonines amplifie la phagocytose [127;128].

Le rôle des leucocytes polynucléaires n'est pas bien clair. Les patients neutropéniques n'ont pas de prédisposition pour la maladie des légionnaires et il paraît que *L. pneumophila* est ingérée par les neutrophiles in vitro uniquement en présence d'anticorps spécifiques ou de complément [128].

Chez les patients infectés et les animaux, les cellules mononucléaires répondent aux antigènes de *L. pneumophila* (les lipopolysaccharides notamment [143]) en produisant des cytokines (monocytes-activating cytokines), de l'interféron gamma (INF γ) et de l'interleukine-1 (IL-1) [144;138;128].

Quoique les macrophages alvéolaires et les monocytes activés notamment par l'INF γ [145;146] inhibent la multiplication intracellulaire de *L. pneumophila*, sa phagocytose n'est pas pour autant amplifiée [128]. Le traitement des macrophages par les lymphokines n'inhibe pas le trappage des bactéries mais affecte par contre leur croissance [147;148]. Par ailleurs, les

lymphocytes NK (natural killer) activés par l'IL2 [149] et produisant de l'INF γ [149;150], se sont montrés cytotoxiques vis-à-vis des cellules mononucléaires infectées par *L. pneumophila* [151].

L'activation d'une infection latente a été suggérée par quelques auteurs [128]. Pourtant la maladie des légionnaires n'est pas significativement plus fréquente au cours du SIDA (classiquement associé à des réactivations de pathogènes pulmonaires) que lors des autres maladies sous-jacentes [128].

I-3-2. Immunité humorale et coopération cellulaire :

L'hypothèse d'une immunité à médiation humorale s'est développée depuis les premières recherches sur *L. pneumophila*. Les complexes immuns ont été parmi les premiers agents incriminés [135] mais le rôle des anticorps demeure encore obscur.

Chez les patients atteints de la maladie des légionnaires, des anticorps spécifiques anti-Légionella initialement de type IgM puis IgG sont détectés pendant les premières semaines de l'infection [128]. Il s'agirait d'opsonines complément-dépendants [152].

Les études *in vitro* montrent que les anticorps activent la phagocytose sans inhiber la réplication intra-macrophagique des bactéries. Expérimentalement cependant, les rats sont protégés contre l'infection intra-péritonéale grâce à un transfert passif d'anticorps [108] et des cobayes résistent à des doses sub-létales de *L. pneumophila* à la suite d'une inoculation par aérosol ou sous-cutanée de membranes de *L. pneumophila* [137;153].

Les antigènes de *L. pneumophila* (dont la MSP-major secretory protein- qui n'est pas nécessairement un facteur de virulence ([153;154]) induisent la synthèse de l'INF γ et du TNF (tumor necrosis factor) par les leucocytes de rats [144;155].

Ces produits potentialisent l'action bactéricide des polynucléaires in vitro suggérant que la résistance à l'infection résulte d'une interaction complexe entre cytokines et cellules immunocompétentes. De plus, l'INF gamma amplifie la synthèse du TNF traduisant une coopération entre ces 2 cytokines [156]

I-3-3. Immunité de réinfection :

L'immunité de réinfection est également sujette à des controverses. Les cobayes immunisés par des antigènes de *L. pneumophila* tués sont protégés contre l'infection intra-péritonéale mais pas contre l'infection par aérosol. L'infection par aérosol des cobayes confère une protection solide contre l'infection par aérosol ou par voie intra-trachéale pendant un mois [108].

II- Anatomopathologie :

La légionellose est avant tout une maladie pulmonaire. L'autopsie des malades décédés à Philadelphie révèle des lésions macroscopiques identiques à celle produites par d'autres agents bactériens comme le *Pneumocoque* [101].

II-1. Macroscopie :

Les poumons sont congestionnés mais non hémorragiques, de consistance dense. Après fixation, le tissu pulmonaire est le plus souvent friable et grisâtre.

De petits embols pulmonaires et quelques infarctus pulmonaires ont été rapportés [157].

II-2. Microscopie :

Après coloration, l'examen microscopique montre des signes typiques d'alvéolite alors que la paroi des bronchioles n'est pas altérée. Les alvéoles sont emplies d'un exsudat fibrineux et purulent riche en macrophages et en polynucléaires neutrophiles [158;159].

Les premiers observateurs avaient été frappés par l'aspect amicrobien des préparations dû au fait que *L. pneumophila* ne se colore pas avec les techniques usuelles. Par contre elles sont visibles par l'imprégnation argentique et par l'IFD et le sont encore mieux par la micrographie électronique qui précise la situation de *L. pneumophila* dans le poumon grâce à des techniques immunohistologiques utilisant des anticorps monoclonaux [160]. Les bactéries sont présentes surtout en intracellulaire sous forme de micro-colonies se développant à l'intérieur des phagosomes. Cette constatation permet de classer les *Legionella* parmi les bactéries intracellulaires.

Les autres organes atteints au cours de la légionellose ne présentent pas de lésions macroscopiques ou microscopiques caractéristiques ; une réaction inflammatoire banale est observée dans les reins, le foie et d'autres organes [159].



Diagnostic



I- Diagnostic clinique :

Puisqu'*A. castellanii* fait ici figure de vecteur et de protecteur, l'aspect pathologique étudié sera la maladie des légionnaires.

En effet, les infections humaines à *Legionella* sont généralement dues à *L. pneumophila*, les autres espèces étant beaucoup plus rares. L'infection à *L. pneumophila* survient généralement sur un terrain particulier. Elle touche généralement l'homme (75%), le fumeur, l'éthylique, le sujet de plus de 50 ans, les personnes porteuses d'une affection cardio-pulmonaire chronique ou d'une insuffisance rénale chronique ou d'un diabète, les sujets en états d'immunodépression cellulaire causé par une affection primitive ou des médicaments [97].

On reconnaît ainsi 3 principales formes cliniques de *Légionellose* : la maladie des légionnaires (MLD), la *légionellose* des immunodéprimés et la fièvre Pontiac.

I-1. Forme typique :

Après une incubation de 2 à 10 jours (allant jusqu'à 16 jours [160]), survient un état pseudo-grippal assez rapide avec une fièvre, une sensation de malaise général, des céphalées et des myalgies. Au bout d'un ou deux jours, la maladie entre dans sa phase d'état associant à des degrés divers :

I-1-1. Syndrome infectieux intense :

Caractérisé par : Température à 40°C, frissons intenses, sueurs très abondantes, hyperleucocytose à prédominance polynucléaires neutrophiles, et une lymphopénie.

I-1-2. Atteinte respiratoire :

Il s'agit d'une pneumopathie extensive, caractérisée par une toux sèche et peu productive [97] exceptionnellement purulente ou hémoptoïque [92;107], en cas d'hémoptysie, les douleurs thoraciques font évoquer une embolie pulmonaire avec polypnée. L'hémoptysie serait due probablement à une alvéolite hémorragique et la douleur thoracique témoignerait de l'exsudation pleurale [162].

L'examen pleuro-pulmonaire trouve des signes unilatéraux ou bilatéraux : râles crépitant, matité, un souffle tubaire, un épanchement pleural, mais il peut être normal. Le reste de l'examen physique peut révéler une hypotension et une dissociation relative du pouls et de la température [139].

Les signes radiologiques (Figure 17) sont présents dans 90 % des cas [101] :

Les manifestations initiales sont dans la plupart des cas unilatérales. Les deux poumons sont atteints à parts égales. Il s'agit d'infiltrats d'abord localisés, typiquement alvéolaires avec bronchogramme aérique puis étendus prenant en quelques jours un aspect de condensation segmentaire ou lobaire. La tendance à l'extension est beaucoup plus importante qu'au cours des autres pneumopathies [139].

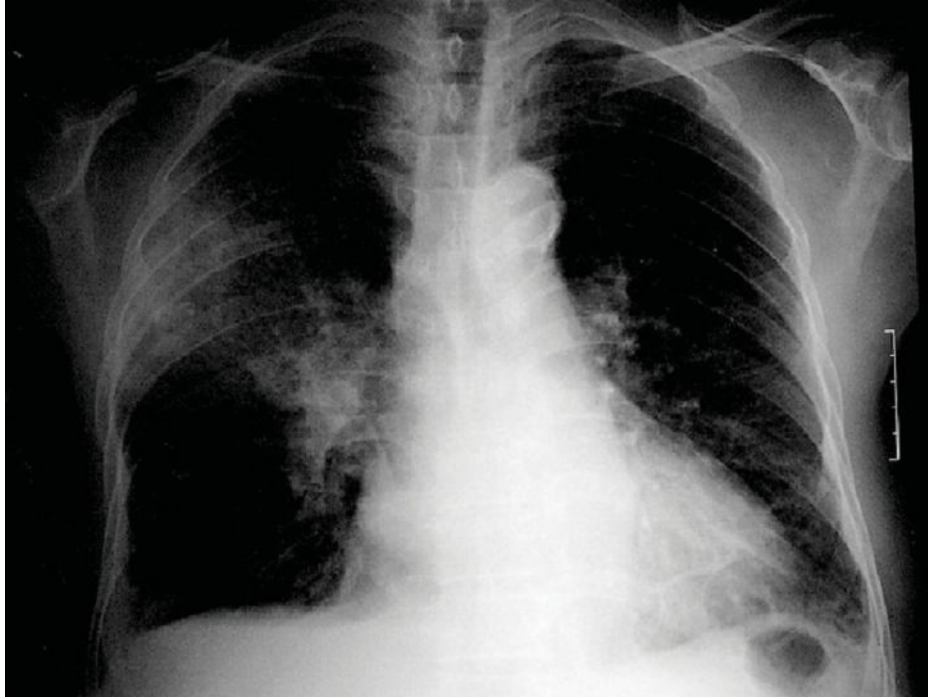


Figure 17a : cliché thoracique montrant une condensation pulmonaire dans le lobe supérieur droit lors d'un cas de *Légionellose*. [53]

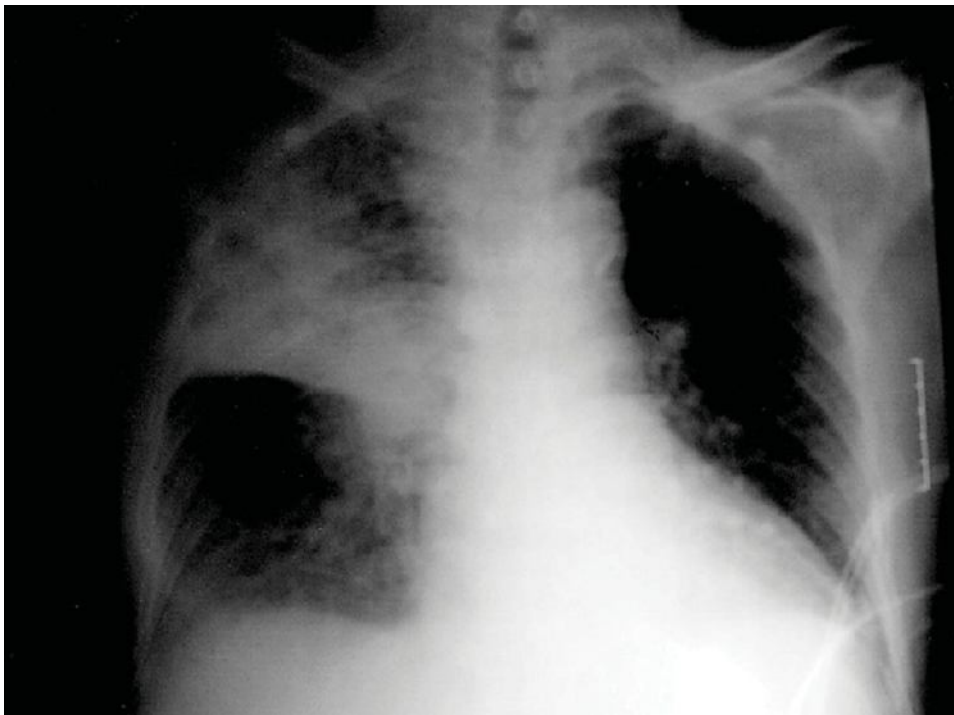


Figure 17b : cliché thoracique montrant l'évolution de la condensation et l'apparition d'un bronchogramme aérien. [53]

Ces foyers alvéolaires peuvent être uniques ou multiples au nombre de 2, 3 ou 4 et prédominent aux lobes inférieurs. Ils peuvent être apicales ou parahilaires, latéralisés à droite ou à gauche et sont bilatéraux dans un tiers des cas. Enfin, ces foyers sont rarement interstitiels et prennent alors l'aspect de pneumopathie atypique (25% des patients au cours de l'épidémie de Philadelphie [163;139]). Un épanchement pleural uni ou bilatéral a été observé mais souvent de faible abondance (24 à 63% des cas [139]). Un épanchement péricardique a été décrit [164]. Des adénopathies médiastinales ont été rapportées exceptionnellement [139]. L'abcédation est rare dans cette forme habituelle [164].

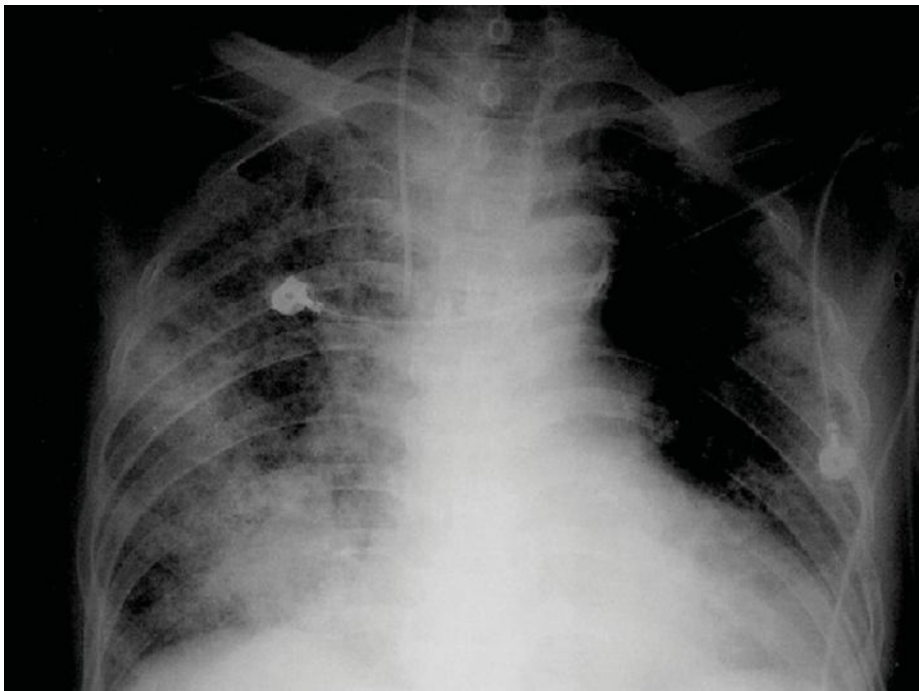


Figure 17c : radiographie thoracique montrant la bilateralisation des opacités. [53]

L'extension des images radiologiques n'est pas bien corrélée à la sévérité des manifestations cliniques. Par contre, il existe une corrélation significative entre la radiologie et l'existence du germe dans les expectorations. Les signes radiologiques persistent bien plus longtemps malgré l'amélioration clinique et le temps requis pour avoir un effacement radiologique varie selon les études de 1 à 2 mois voire 4 mois [139].

I-1-3. Signes extra-pulmonaires :

La symptomatologie extra-respiratoire est assez monomorphe associant des signes digestifs et des signes neuropsychiques souvent précoces.

- Les signes digestifs :

A type de nausées, vomissements, douleurs abdominales, anorexie et diarrhées parfois glairo-sanglantes, très évocatrices lorsqu'elles sont cholériformes. Les diarrhées, présentes dans environ 40% des cas, suggéraient une infection intestinale primitive [163].

A l'examen, l'abdomen est souple, il peut être météorisé, exceptionnellement dans un état d'iléus paralytique.

L'atteinte hépatique biologique est souvent observée : élévation des transaminases (ASAT, ALAT), de la bilirubine, de la LDH et des phosphatases alcalines [163].

- Les signes neurologiques :

Sont présents dans environ un quart des cas. A type de céphalées, léthargie, agitation, hallucination et confusion mentale [97]. Tous ces signes en l'absence de manifestations neurologiques focales traduisent une encéphalopathie ou une encéphalite. Pour certains auteurs, la confusion et la désorientation ont été mis sous le compte du choc, pour d'autres sur celui de l'urémie aiguë. Mais pour la

majorité, aucune explication n'a pu être établie. Les anomalies métaboliques telles que l'hyponatrémie ou l'hypoxie sont insuffisamment sévères pour expliquer les signes observés et l'hyperthermie n'expliquerait pas la stupeur [163]. La ponction lombaire est normale [97].

La méningite, l'atteinte du tronc et du cervelet, les polyradiculonévrites sont rarissimes dans cette forme habituelle. L'origine la plus admise est celle de la toxine neurotrope [97].

Des crises épileptiques généralisées ont été décrites chez plusieurs malades. Chez certains, ces crises ont été corrélées aux multiples désordres biochimique relatif à l'insuffisance rénale, chez d'autres, elles seraient dues à l'hypoxie. Les myalgies paraissent être un symptôme fréquent mais il n'a pas été décrit d'hypotonie musculaire à l'examen. Les CPK sont parfois élevées et ceci serait dû à une éventuelle rhabdomyolyse [162].

Une étude rétrospective, conduite à Philadelphie, a montré que les diarrhées sont plus fréquentes chez les patients atteints de la MDL que chez ceux présentant d'autres pneumopathies [163]. Les troubles de conscience observés sont également plus fréquents au cours de la MDL [165]. Par contre, dans une étude prospective menée au « Pittsburgh Vétérans Administration Medical Center » par Victor L. Yu et coll., les manifestations cliniques d'ordre gastro-intestinal et neurologique ne sont pas plus fréquentes dans la MDL que dans les autres pneumopathies [116]. Plusieurs autres auteurs suggèrent qu'il n'est pas possible de différencier la MDL des autres pneumopathies sur les seuls critères cliniques [113].

Cependant, l'atteinte extra-respiratoire est considérée comme étant un argument en faveur de la *légiellose* [106].

Tableau 3 : les caractéristiques cliniques de la maladie
des légionnaires et de la fièvre Pontiac [108]

SYMPTOMES	POURCENTAGE DE PATIENTS	
	<u>MDL</u>	<u>FP</u>
TOUX	75	46
EXPECTORATION	45	
DYSPNEE		
HEMOPTYSIE	50	
MYALGIE		
SYMPTOMES RESPIRATOIRES	21	
SUPERIEUR	38	95
CEPHALEES		
CONFUSION	13	
NAUSEES, VOMISSEMENTS		
DIARRHEES	32	88
DOULEURS ABDOMINALES	45	19
FIEVRE		
FIEVRE> 39°C	30	10
BRADYCARDIE	33	21
	8	
	70	86
	40	

- les signes biologiques :

- ❖ *l'atteinte rénale :*

Elle peut se manifester par une protéinurie, une hématurie microscopique, une cylindryurie, une pyurie, une hyponatrémie, une hypo albuminémie et une azotémie. La protéinurie, la cylindryurie et la pyurie sont aussi fréquentes chez les patients insuffisants rénaux et ceux ayant une fonction rénale correcte alors que l'hématurie est plus fréquente en cas de défaillance rénale [163].

- ❖ *les autres signes :*

À type d'une hypophosphatémie et des anomalies hématologiques telles qu'une hyperleucocytose, une anémie, une thrombopénie, une leucopénie qui d'ailleurs ne sont pas spécifiques de la *légiellose*. Par contre, l'hyponatrémie (<130mEq/l) a été significativement plus fréquente dans la MDL [139]. La vitesse de sédimentation peut être accélérée (parfois supérieure à 60 mm la première heure) [163] et la présence du facteur rhumatoïde est discutée [113].

I-1-4. Evolution :

Dans les cas favorables, une défervescence thermique survient en huit jours environ, accompagnée d'une amélioration clinique alors que les signes radiologiques disparaissent plus lentement [97]. Par ailleurs, son évolution est émaillée de complications.

La maladie des légionnaires est donc à évoquer devant une pneumopathie très fébrile extensive associée à des manifestations extra-pulmonaires et ne répondant pas à une antibiothérapie à base de bétalactamines ou d'aminoglycosides.

I-2. Formes cliniques :

I-2-1. Selon le terrain :

- *Légionellose* des immunodéprimés :

Les malades immunodéprimés présentent un risque accru de développer une *légionellose* dont la mortalité est plus élevée que dans la forme clinique précédente. Cliniquement, il s'agit d'une pneumopathie aiguë identique à celle de la forme habituelle mais l'étiologie généralement pluri-microbienne et l'aggravation brutale de la maladie font que l'évolution est souvent très grave avec un taux de létalité très élevé (40%) [97]. L'abcédation est une complication fréquente chez ces patients [100].

- *Légionellose* de l'enfant :

La *légionellose* est rare en pédiatrie. Quelques rares cas sporadiques ont été publiés [101]. Tous les cas de *légionellose* néo-natale étaient nosocomiales, et la majorité des patients avaient des facteurs de risque incluant la prématurité, la dysplasie broncho-pulmonaire ou sous corticoïdes.

I-2-2. Formes symptomatiques :

- La fièvre de Pontiac :

C'est une atteinte des voies respiratoires supérieures d'allure pseudo-grippale bénigne sans pneumonie, guérissant spontanément sans séquelles.

L'incubation est courte, environ 36 heures, suivie d'une fièvre supérieure à 37,5°C, avec ou sans frissons, céphalées, myalgies, asthénie, nausées et vomissements, toux non productive, douleurs thoraciques et des arthralgies [166;167;139]. Sur le plan biologique, le nombre de leucocytes sanguins est

normal ou modérément augmenté (9400-17700/ml). La radiographie des poumons ne révèle rien d'anormal. La maladie dure 2 à 5 jours ; les malades guérissent sans séquelles. Aucun décès n'a été attribué à cette forme clinique.

La conversion sérologique permet d'établir un diagnostic rétrospectif.

- La fièvre de Lochgoilhead :

Due à *Legionella micdadei*, elle a été rapportée chez des clients d'un hôtel écossais [167]. La fréquence décroissante des signes observés est la suivante : céphalées, asthénie, pyrexie, arthralgies, myalgies, anorexie, frissons et nausées. Dans 30 à 40% des cas, on observe une dyspnée et une toux. La période d'incubation varie de 24 à 36 heures. L'amélioration spontanée en quelques jours est la règle.

- Formes inapparentes :

Elles ont été observées lors de l'épidémie de Philadelphie, de Vermont et à l'occasion de cas sporadiques [101;168]. Une séroconversion significative a permis d'établir le diagnostic [101]. Les études sérologiques montrent que plus de 10% de la population a un taux élevé d'anticorps anti-*L. pneumophila* type 1 [97;102].

I-2-3. Formes évolutives :

- Les rechutes :

Des rechutes dues à la même souche de *Legionella* ont été décrites après 3 semaines de traitement ; parfois le bacille persiste et est observé par immunofluorescence directe au cours du traitement [101].

- Les réinfections :

Elles ont été signalées 6 mois après la guérison du premier épisode [101].

- Les infections persistantes :

Lattimer et coll. [169] ont fait une étude sur les 2 ans suivant l'épidémie de Philadelphie chez des sujets atteints de la maladie et d'autres qui y étaient exposés. Des signes cliniques à type d'asthénie, de dyspnée d'effort et de toux avec expectoration ont été notés pendant cette période. Des anomalies de l'exploration fonctionnelle respiratoire et des titres élevés d'IgM anti-*L. pneumophila* ont été observés.

L. pneumophila intracellulaire induirait donc une infection latente et continue comme celle retrouvée dans la *brucellose*, dans les atteintes à herpes virus, les *chlamydioses*, les infections à *mycobactéries* et serait pourvoyeuse de séquelles pulmonaires tardives [169;170]. Des études histologiques menées sur le hamster ont montré que ces séquelles sont de type inflammatoire avec prédominance de fibrose et d'emphysème [171].

- Les complications :

Des complications peuvent émailler l'évolution de la MDL. Leur fréquence n'aurait pas été estimée et semble être en rapport avec la précocité du diagnostic et du traitement ainsi qu'avec le terrain, les associations microbiennes et le traitement propre de la maladie.

❖ *Les complications respiratoires :*

- **L'insuffisance respiratoire grave** : c'est la complication la plus redoutable, elle est fréquente et peut engager le pronostic vital à cours terme. Elle est observée lorsque les lésions pulmonaires ont un caractère extensif inexorable avec atteinte progressive des deux poumons. Elle réalise un œdème

aigu du poumon type lésionnel avec un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) associant tachypnée, battements des ailes du nez, cyanose intense et obnubilation. L'auscultation pulmonaire retrouve des râles crépitants de façon très inconstante ; elle peut être normale.

La radiographie thoracique est typiquement celle d'un « poumon blanc » : opacités interstitielles puis très rapidement alvéolaires, confluentes. Elles sont de localisations plutôt périphériques et peuvent être bilatérales. La gazométrie artérielle montre une hypoxémie sévère et assez constante, une hypocapnie quasi constante [172] et une alcalose respiratoire [163].

Le cathétérisme cardiaque est parfois indispensable au diagnostic de syndrome de détresse respiratoire aiguë : la pression capillaire est normale ou basse, il existe une hypertension artérielle pulmonaire de type pré-capillaire et un shunt intra-pulmonaire très élevé [172]. Une ventilation mécanique est alors indispensable mais n'est pas toujours efficace [101].

- **Les autres complications respiratoires** sont plus rares, moins graves mais peuvent évoluer vers l'insuffisance respiratoire aiguë. De rares cas d'hémoptysie ont été décrits [162]. L'exsudation pleurale est possible, peut précéder l'atteinte pulmonaire [139] et même être isolée sans atteinte pulmonaire primitive [108]. Quand il y a un épanchement pleural, il est rarement de grande abondance et peut se compliquer d'empyème [139].

Dans sa forme compliquée, la MDL peut se manifester par des abcès pulmonaires multiples. Mais il faut dire que cette complication décrite chez des sujets immunodéprimés [173] surtout ceux présentant un lupus érythémateux disséminé sous corticoïdes est plutôt rare [173;139]. Au cours de ces suppurations, une infection simultanée par *L. pneumophila* (séro groupe 6) et *L.*

micdadei (isolée à partir du liquide d'aspiration transtrachéal) [173] ainsi qu'une infection par la seule *L. micdadei* [174] ont été signalées. La rupture des abcès et les fistules broncho-pleurales sont encore plus rares [139]. La cavitation est aussi une complication inhabituelle [139;173;175] décrite chez des patients immunodéprimés (transplantés rénaux [175] ou SIDA [109]) avec un taux de mortalité variant de 24 à 58% selon certaines séries [175]. Les atélectasies sont par ailleurs rarissimes. Dans certaines études, la gravité de la *légiellose* est corrélée à la pauvreté des signes pulmonaires [162].

❖ *Les complications rénales :*

L'atteinte rénale doit toujours être recherchée au cours de la MDL et constitue un facteur pronostique important. A côté de la protéinurie, de l'hyperazotémie et de l'hyper-créatininémie qui peuvent parfois être très augmentées, on peut assister à une hyponatrémie sévère avec une natriurèse basse et un syndrome de dilution.

L. pneumophila n'a jamais été isolée dans les urines. Seul un antigène soluble a pu être détecté. Quelques rares cas de tubulo-néphrite interstitielle ont cependant été décrits [162]. Pyélonéphrite et glomérulonéphrite sont possibles [101]. Des infarctus rénaux ont été décrits et sont survenus chez un patients artérioscléreux [176].

L'insuffisance rénale aiguë avec anurie nécessitant épuration extra-rénale est fréquemment constatée ; c'est un élément défavorable, souvent mortel [101;102;139].

❖ *Les complications neurologiques :*

Si dans les formes habituelles de la MDL, une atteinte neurologique à type de confusion ou d'obnubilation est fréquente, les formes neurologiques graves de la MDL sont beaucoup plus rares et réalisent le plus souvent des tableaux encéphalitique ou cérébelleux.

Ces formes touchent l'homme plus que la femme et surviennent plus souvent dans la cinquième décennie chez les adultes et les premières années chez l'enfant. Habituellement, les signes neurologiques apparaissent avec les signes pulmonaires, mais le plus souvent, ils peuvent les suivre ou les précéder de quelques jours. Rarement les signes neurologiques restent isolés, sans aucune atteinte pulmonaire. L'analyse des cas publiés ne montre pas de pathologie sous-jacente particulière, l'événement le plus souvent noté est un voyage dans la semaine ou le mois précédent la maladie.

Les tableaux cliniques observés sont les suivants :

○ *les états encéphalitiques :*

Ils réalisent un coma profond, parfois sans signes de localisation, parfois avec des signes déficitaires. Des crises convulsives sont possibles, ainsi qu'un syndrome méningé et des atteintes des nerfs oculomoteurs. Ces signes encéphalitiques régressent habituellement sans séquelles en dehors d'une amnésie totale de l'épisode aigu. Au réveil, on peut constater la présence d'une atteinte cérébelleuse et du tronc cérébral qui laisseront des séquelles durables. Ce syndrome cérébelleux est parfois présent avec les troubles de conscience [165].

La bactérie le plus souvent en cause est *L. pneumophila* [165] mais une encéphalopathie aigue due à *L. pneumophila* et *Mycoplasma pneumoniae* a été décrite [177].

La ponction lombaire ramène un liquide normal ou pathologique : lymphocytose modérée isolée ou associée à une hyperprotéinorachie, hyperprotéinorachie isolée. Les cultures du LCR sont toujours stériles. La glycorachie est normale.

L'électro-encéphalogramme (EEG) montre un ralentissement du tracé, diffus ou avec des signes de localisation a type de complexes polyphasiques longs.

Le scanner cérébral est le plus souvent normal mais il peut montrer un œdème cérébral ou des images lacunaires. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) réalisée chez un patient victime d'une encéphalopathie aigue à *L. bozemanii* a montré des foyers de démyélinisation symétriques dans le tronc cérébral [178].

○ *les atteintes cérébelleuses :*

Elles forment le tableau neurologique le plus fréquemment rencontré dans la MDL avec les états encéphalitiques, à tel point qu'une ataxie compliquant une pneumopathie doit faire évoquer le diagnostic de la MDL. Le syndrome cérébelleux comporte des troubles de la statique, des troubles de la marche avec démarche ébrieuse, des troubles de la coordination segmentaire avec force musculaire normale : hypermétrie, dysmétrie, asymétrie, adiadococinesie. On note également un tremblement intentionnel, une dysarthrie scandée, irrégulière puis brusquement explosive et une hypotonie musculaire. Le tableau est aggravé

par l'occlusion des yeux. L'atteinte cérébelleuse laisse de nombreuses séquelles dont l'ataxie est la plus fréquente et la plus invalidante.

A l'atteinte cérébelleuse peut s'associer une atteinte du tronc cérébral avec nystagmus, paralysie des nerfs oculomoteurs avec limitation des mouvements oculaires et paralysie faciale.

○ *les neuropathies périphériques :*

L'atteinte périphérique peut affecter plusieurs nerfs à la fois et trois tableaux cliniques doivent être individualisés :

- le syndrome multi névritique avec le caractère asynchrone et asymétrique de l'atteinte tronculaire.
- Le syndrome polynévritique avec bilatéralité et symétrie de l'atteinte ainsi que synchronisme dans le temps.
- Le syndrome polyradiculonévritique avec troubles moteurs et sensitifs. Il s'agit du tableau périphérique le plus fréquent.

Les neuropathies périphériques sont souvent asymptomatiques et dépistés alors par l'électromyogramme (EMG). Il s'agit d'une atteinte axonale plutôt qu'une démyélinisation comme en attestent les études histologiques. Des séquelles invalidantes sont possibles.

○ *les autres atteintes neuromusculaires :*

Un tableau de myélite transverse a été décrit dans la MDL [165;179]. Il réalise une paraplégie avec des troubles sphinctériens. Le LCR peut être normal ou montrer une pléiocytose. L'évolution est favorable sans séquelles dans un

cas, il peut persister une paraplégie ou un syndrome pyramidal des deux jambes avec impuissance sexuelle.

Des signes neurologiques en foyer peuvent être observés en dehors de toute atteinte vasculaire cérébrale à type d'hémiplégie, dysphagie et neuropathies périphériques [162].

Encéphalopathie et neuropathies périphériques peuvent survenir en l'absence d'atteinte pulmonaire primitive [180].

Un tableau de chorée a été décrit dans une observation [179]. Les mouvements choréiques sont rapides, irréguliers, arythmiques et variables dans le temps. Ils disparaissent au cours du sommeil. L'évolution est lente et fluctuante mais ne laissera que peu de séquelles comme une dysphonie explosive.

Un abcès du cerveau a été rapporté dans deux observations [91;179]. Une fois chez un enfant atteint d'un déficit immunitaire sévère et une fois chez un homme de 31 ans, sans pathologie sous-jacente [165]. La dépression mentale est rare [163].

Des manifestations musculaires peuvent survenir au cours de la MDL tel que des myalgies, une rhabdomyolyse avec augmentation modérée ou importante de la créatine phosphokinase [181;165] et myosite [182].

❖ *Les complications hématologiques :*

Anémie hypoplasique [101], anémie hémolytique [163;183], thrombopénie [162;183], syndrome de Moschowitz [183] et purpura thrombopénique [176] sont décrits. La leucopénie et la pancytopénie sont rares et de pronostic péjoratif

[183]. Une coagulation intra-vasculaire disséminée est possible et traduirait la sévérité de l'infection [97;102;139].

❖ *Les complications cardio-vasculaires :*

La survenue d'une péricardite [139;184] et/ou d'une endocardite [139] est possible. Une endocardite à *L. pneumophila* sur valve aortique et en l'absence d'atteinte pulmonaire a été signalée [185]. Une endocardite à *L. pneumophila* sur valve prothétique [139;186] a été décrite chez plusieurs patients ayant bénéficié d'un remplacement valvulaire. L'étude a par ailleurs montré que ces sujets ont pour la plupart présenté auparavant un syndrome post-myocardiotomie dans les suites opératoires immédiates [186]. Des signes typiques ont été constatés : fièvre, sueurs nocturnes, malaise et signes d'une insuffisance cardiaque congestive [186;139]. Le rôle des phagocytes mononucléaires dans ce type d'endocardite a été avancé » du fait de leur activité pro-coagulante [187].

Certaines formes graves se sont compliquées d'un bloc auriculo-ventriculaire. L'hypothèse d'un abcès septal a été avancée sans qu'elle ne soit vérifiée, [92]. Les états de choc sont possibles et contribuent à obscurcir le pronostic et a alourdir la mortalité [92;102;139].

❖ *Les autres complications :*

Ont été décrits des infarctus spléniques [176], des abcès hépatiques [91], des abcès cutanés à *L. micdadei* [108], des abcès périrectaux [108;139] où *L. pneumophila* a été isolée avec des bactéries anaérobies, une sinusite [139], une insuffisance hépatique et une splénomégalie en relation avec la sévérité de l'infection ainsi qu'une atteinte hépatique à *Legionella* sur greffe hépatique

[188]. Une cellulite nécrosante due à *L. micdadei* est survenue dans les suites d'une amputation de bras [189] et une ascite s'est infectée par *L. pneumophila* chez un sujet porteur d'un lupus érythémateux disséminé [190].

Il a été également mentionné un ictère [92], une infection des fistules d'hémodialyse [108], une pancréatite aiguë [139;191] et une colite ulcéreuse avec un syndrome dysentérique fébrile résistant à une corticothérapie générale et ayant bénéficié d'une hémicolectomie devant l'installation d'un abdomen aigu avec ascite [192].

Des lésions cutanées érythémateuses, purpuriques, vésiculeuses ont été constatées chez certains malades. La biopsie cutanée a montré un aspect de vacularite aspécifique [92]. Des lésions pustuleuses ont été rencontrées et ont évoluées vers la nécrose. Les biopsies qui ont été réalisées ont révélé un aspect de vascularite leucocytoclastique [176].

La péritonite est une éventualité rare [139;193]. Un cas de péritonite à *L. pneumophila* sérotype 6 a été décrit chez un transplanté rénal qui n'a présenté que plus tard et juste avant le décès une symptomatologie pulmonaire avec syndrome de détresse respiratoire aiguë. La source de l'infection serait un cathéter [193].

II- Diagnostic biologique:

Bien que les moyens diagnostics aient évolués depuis la première description de *L. pneumophila*, aucun test actuellement disponible n'est capable de diagnostiquer toutes les espèces de *Légionella* dans un court délai avec une grande sensibilité et spécificité. La majorité des données sont applicable à *L. pneumophila*, puisque la sensibilité et la spécificité pour les autres espèces reste inconnue.

II-1. Détection de l'antigène urinaire de *L.pneumophila* :

La détection de l'antigène urinaire de *L. pneumophila* a été utilisé depuis longtemps, peu après la première épidémie de Philadelphie [194]. En effet, cet antigène peut être détecté dès le 1^{er} jour d'apparition des symptômes et persiste pendant des jours voire des semaines. Dans un cas, l'excrétion de l'antigène a été décrite comme pouvant aller jusqu'à 300 jours [195]. Cet antigène est un composant de la portion lipopolysacharidique de la paroi des légionelles et est stable dans la chaleur [196;197]. Le test urinaire combine une sensibilité raisonnable et une haute spécificité avec des résultats rapides. Il a en effet révolutionné le diagnostic biologique de la MDL, jusqu'à devenir un test de routine [198;199]. L'application de ce test à des prélèvements autres que l'urine peut s'avérer utile pour un diagnostic rapide de la MDL, mais nécessite plus de validation [200]. En Europe, le nombre de cas diagnostiqués par cette méthode a augmenté de façon importante depuis 1998 [201]. En 1995, ils représentaient 15% des cas diagnostiqués ; en 1998, le chiffre a augmenté de 33% à 74% en 2004 et plus de 90% des cas en 2006.

Les kits commerciaux qui utilisent en même temps les méthodes Radio-immunologiques (RIA) et immuno-enzymatique (EIA) sont disponibles depuis plusieurs années et sont tout aussi performantes [202]. L'agglutination a aussi été introduite, mais n'a pas montré de sensibilité et de spécificité satisfaisante [203]. En outre, les tests immuno-chromatographiques qui ont été développés ont la même sensibilité et spécificité de l'EIA [204; 205]. La majorité ont une grande sensibilité pour la détection de l'anticorps monoclonal type 2 (MAB 2 β) de *L. pneumophila* sérotype 1 (jusqu'à 90%), une sensibilité intermédiaire pour les autres anticorps monoclonaux de *L. pneumophila* sérotype 1 (environ 60%), et une faible sensibilité (environ 5%) pour les autres sérotypes de *L. pneumophila* ainsi que les autres espèces de légionelles [206;207]. Puisque la majorité (environ 90%) des cas de *légionellose* acquise sont causées par *L. pneumophila* sérotype 1, la sensibilité intermédiaire de ce test oscille au environ de 70 à 80%. Une caractéristique importante de ces tests est leur spécificité (>90%), ce qui est indispensable pour tester une pathologie aussi rare que la *légionellose*.

La sensibilité de la détection de l'antigène urinaire semble être associée a la sévérité clinique de la maladie [208]. Yzerman et al. ont testé 2 techniques immuno-enzymatiques (Binax et Biotest) et une technique immuno-chromatographique (Binax NOW), utilisant des échantillons d'urines de patients atteints de *légionellose*. Le Binax EIA, Biotest EIA et le Binax NOW ont montré des sensibilités globales respectives de 69, 71 et 72%. Quand les essais ont été réalisés avec des échantillons d'urine concentrée, la sensibilité globale a augmenté respectivement jusqu'à 79, 74 et 81%. Une association statistiquement significative a été trouvée entre la sévérité clinique et la sensibilité des tests.

Pour les patients atteints de MDL d'intensité modérée, la sensibilité des tests oscillait entre 40 et 53%, alors que pour les patients qui souffraient de formes graves, qui avaient besoin de soins médicaux spéciaux et immédiats, les résultats ont atteints 88 à 100%. Ces résultats ont des répercussions sur le processus de diagnostic chez les patients atteints de pneumonie bénigne et suggèrent que ces patients peuvent être sous-diagnostiqués si les tests urinaires sont les seuls à être utilisés. L'utilisation d'échantillons d'urine concentrée augmente la sensibilité sans qu'il y ait une diminution significative de la spécificité. Puisque cette étape de concentration est laborieuse et demande du temps, certains laboratoires utilisent cette approche uniquement en cas de résultats douteux.

Une autre association entre la sensibilité du test et certaines sous-populations définies a été décrite par Helbig et al [204]. L'utilité clinique des tests antigéniques urinaires pour le diagnostic de la MDL a été évaluée en utilisant des échantillons de 317 cas prouvés par la culture. La sensibilité des Binax EIA et Biotest EIA sont de 94% pour les infections relatives à un voyage, 87 et 76% pour les infections communautaires, mais seulement 44 et 46% pour les infections nosocomiales. Cela semble être causé principalement par la distribution des différents sérotypes dans ces différentes catégories : les cas associés au voyage et les cas communautaires sont causés majoritairement par des souches MAB 2 β positives.

Plusieurs tests urinaires immuno-chromatographiques pour la détection urinaire de *L pneumophila* séro-groupe 1 ont été développés récemment [209;210]. Le test urinaire Binax NOW, en concordance avec les résultats des études précédentes, a une excellente sensibilité et spécificité. Les performances

de certains nouveaux tests sont en dessous du niveau acceptable pour les tests diagnostic [209].

II-2. Culture :

L'isolement des espèces de légionelles, qui a une spécificité de 100%, est considéré comme le gold-standard pour le diagnostic de la MDL. Le diagnostic de la culture nécessite des supports spéciaux, un traitement adéquat des échantillons ainsi qu'une expertise technique. Plusieurs jours sont nécessaires pour obtenir un résultat positif, avec une moyenne de détection de 7 jours pour la majorité des espèces de légionelles. Des espèces autres que *L. pneumophila* peuvent croître à un rythme plus lent et peuvent donc être détectable seulement après 10 jours d'incubation [202;211]. De plus, certaines espèces de légionelles, ayant une morphologie inhabituelle peuvent être facilement négligés. Le milieu standard utilisé pour la culture de Legionella est la gélose BCYE supplémenté d'alpha-ketoglutarate, avec ou sans agents antimicrobiens. Les antibiotiques les plus souvent ajoutés sont la polymyxine contre les Gram négatifs, l'anisomycine contre les levures, et le céfamandole ou la vancomycine contre les Gram positifs. La vancomycine doit être utilisée si la culture vise d'autres espèces que *L. pneumophila*, car le céfamandole inhibe certaines espèces de légionelles qui ne produisent pas de bêta-lactamases [212].

L'identification des souches cultivées d'espèces de légionelles est souvent difficile, et même les techniques de classification chromatographiques les plus efficaces on eu du mal à différencier les espèces nouvellement décrites [213]. Un schéma de classification génotypique basé sur une séquence située sur le gène mip est capable de distinguer avec précision parmi les différentes espèces de légionelles [213]. Un schéma de classification basé sur une séquence située

sur le plus petit ARNr 5S (10^4 pb) et partiellement sur la séquence 16S, bien que moins discriminatoire que le gène mip, permet une identification spécifique de la plupart des espèces de légionelles impliquées dans la pathologie humaine [214;215].

Les légionelles peuvent être isolées à partir d'une variété d'échantillons, bien que les sécrétions des voies respiratoires basses (par exemple, les expectorations et le lavage broncho-alvéolaire) soient les prélèvements de choix. Le rendement de la culture dépend de la sévérité de la maladie, avec un rendement faible (15 à 25%) dans les pneumonies bénignes et un haut rendement (>90%) pour les pneumonies sévères avec détresse respiratoire [216]. Une des principales limites de la culture des expectorations est que moins de la moitié des patients atteints de MDL produisent des expectorations [115] [216-218]. Certains patients atteints de MDL ont des expectorations relativement peu purulentes ; ces échantillons peuvent être rejetés par certains laboratoires qui éliminent les échantillons contenant quelques leucocytes polynucléaires. Cependant, Ingram et Plouffe [219] ont démontré que jusqu'à 84% des échantillons positifs de *L. pneumophila* auraient été éliminés en utilisant des filtres et ont recommandé d'accepter tous les échantillons soumis pour la culture. La sensibilité estimée pour la culture des expectorations oscille de <10% à 80% et varie selon la technique utilisée et d'un laboratoire à un autre [202;216].

En pratique, les meilleurs résultats sont susceptibles d'être obtenus seulement par des laboratoires ayant un intérêt particulier pour la recherche de la *légionellose*.

II-3. La sérologie :

L'immunofluorescence indirecte (IFA) a été utilisée pour détecter les anticorps chez les patients lors de l'épidémie de Philadelphie et a joué un rôle dans la détermination des cas. Depuis lors, un certain nombre de techniques sérologiques ont été mises au point pour détecter les anticorps de différentes espèces de légionelles [220]. De toutes les techniques de détection sérologique, l'IFA et l'ELISA sont les plus couramment utilisés.

De nos jours, l'ELISA est préférée par de nombreux laboratoires à l'IFA car elle est moins subjective, plus efficace que l'IFA et peut être réalisée de façon automatisée [211][221-223]. Les sensibilités rapportées des tests sérologiques varient considérablement, de 41 à 94% [211]. Une étude récente dans laquelle des échantillons de sérums provenant des cas de légionelloses durant une épidémie au pays bas [208] a montré des sensibilités de 64, 61 et 44% respectivement pour l'ELISA, l'IFA et un test de micro-agglutination rapide. Durant l'ELISA, la moitié des patients ont montrés une séroconversion à l'IgM et l'autre moitié à l'IgG. D'autres études ont montré que pour plusieurs patients atteints de *légionellose*, la réponse immunitaire primaire est à IgM et donc les tests à IgM doivent être inclus pour une sensibilité optimale.

La séroconversion peut prendre plusieurs semaines, ce qui représente une grande limite des tests sérologique. Environ 25 à 40% des patients atteints de *légionellose* font une séroconversion durant la première semaine après l'apparition des symptômes [211]. Dans la majorité des cas, une augmentation de 4 fois du titre d'anticorps est détectée pendant les 3-4 semaines, mais dans quelques cas, cela peut prendre plus de 10 semaines [224]. Un titre supérieur à 256 durant la phase aigue en présence d'une pneumopathie était considéré

suffisant pour poser un diagnostic présomptif, mais s'est montré peu fiable, étant donné la forte prévalence des anticorps anti-légionelles chez des personnes sans signes cliniques évident de légionellose [225]. La spécificité de la séroconversion en utilisant l'antigène de *L. pneumophila* séro groupe 1 à l'IFA a été documentée comme approchant 99% [220;226].

Un inconvénient des tests sérologiques est leur incapacité d'identifier avec précision toutes les espèces de légionelles et leurs sérogroupes. Bien que la séroconversion de *L. pneumophila* séro groupe 1 soit généralement considérée comme nécessaire au diagnostic, la sensibilité et la spécificité aux autres espèces et sérogroupes n'a pas été rigoureusement confirmée [216].

Au total, un diagnostic basé sur l'augmentation des IgG ou IgM de 4 fois le titre ne peut être que dans un but rétrospectif, et influence rarement le traitement initial des patients. Il y a donc un besoin de tests supplémentaires pour diagnostiquer la légionellose à un stade précoce.

II-4. Biologie moléculaire (PCR):

Le premier test destiné à détecter l'ADN de *L. pneumophila* est une sonde ribosomique radio-marquée spécifique à toutes les souches de légionelles. Les recherches ont rapportées une sensibilité et une spécificité variable pour ce test [227;228;229]. L'utilisation de cette sonde dans un hôpital a révélé 13 faux positifs [230] et ce test fut retiré du marché peu après cette pseudo-épidémie.

La PCR permet l'amplification spécifique d'infimes quantités d'ADN de *Legionella* et peut fournir des résultats dans un court laps de temps. Elle a aussi le potentiel de détecter les infections causées par toutes les espèces de légionelles et tous les sérogroupes. La PCR pour la légionellose n'est disponible

que dans un nombre limité de laboratoires qui utilisent principalement des tests commerciaux [202;211;231]. Un nouveau test commercial (BD ProbeTec ET L. pneumophila, Becton Dickinson) qui détecte les sérotypes de 1 a14 de *L. pneumophila* dans les expectorations est désormais approuvé par la FDA.

La PCR en temps réel a ajouté plusieurs avantages au diagnostic de routine, puisqu'elle a diminuée le temps nécessaire pour la réalisation de la technique et rend l'analyse post-PCR superflue. Le test diagnostic de la PCR a principalement ciblé des régions spécifiques: les gènes de l'ARNr 16S [232-239], dans la région d'espacement 23S-5S [240], l'ADNr 5S [241;242], ou le gène mip (macrophage inhibitor potentiator) [213] [243-246]. Jusqu'à présent, des résultats encourageant ont été obtenus a partir d'évaluations *in vitro* de petites séries de patients. L'ADN des légionelles peut être détecté dans les urines, le sérum, et des échantillons de leucocytes obtenus de patients atteint de la MDL avec des sensibilités de 30 à 86% [241] [247-249].

L'application de la PCR à des échantillons non respiratoires semble particulièrement intéressante, car cela va contourner le problème des patients qui ne produisent pas d'expectorations. La sensibilité de la détection de l'ADN de *Legionella* dans le sérum est relativement basse (environ 50 à 60%) chez les patients atteints de *Legionellose*, mais peut être supérieur (environ 70 à 90%) chez les patients avec une forme plus grave de la maladie [247;248]. La preuve de son utilité présumée résiderait dans une étude prospective pour évaluer la valeur de la PCR sur des échantillons de patients atteints de pneumopathie.

Lors de l'analyse d'échantillons du tractus respiratoire inférieur, la PCR a maintes fois démontrée qu'elle a une sensibilité égale ou supérieur à celle de la culture [216;238;239]. En effet, la PCR est considérée par certains auteurs

comme le test de choix pour les patients qui expectorent [216]. Cependant, un nombre de faux positifs a été rapporté, avec les tests commerciaux et les tests ambulatoires [202;238]. Le problème avec l'interprétation de ces faux positifs est qu'on ne sait pas si ce sont vraiment des faux-positifs ou sont dus à une mauvaise technique, car certains cas de *légiellose* ne sont pas facilement détectables par les méthodes conventionnelles. Il est difficile de résoudre ce problème et à l'heure actuelle, il n'y a pas d'étude rigoureuse disponible qui détermine la sensibilité et la spécificité exacte de la PCR chez les patients atteints de pneumonie d'étiologie inconnue. En 2004 et 2005, 46 laboratoires ont participé à une évaluation de la qualité de détection des espèces de *légielles* par 2 exercices de contrôle de qualité [250]. Des méthodes ambulatoires ont été utilisées chez 93% des participants. Le taux de faux positifs a varié de 4% en 2004 et 8,2% en 2005. La survenue de ces faux-positifs montre l'intérêt de ces tests de confirmation habituelle, car de tels protocoles peuvent être bénéfiques dans la détection rapide des problèmes relatifs à ces tests. Les laboratoires devraient respecter les réglementations strictes des contrôles de qualité, vu que ces études de qualité soulignent que la technologie d'amplification des acides nucléiques n'a pas été correctement standardisée dans tous les laboratoires. Les techniciens de laboratoire ainsi que les praticiens devraient être prudents quant à l'interprétation des résultats obtenus par ce genre de test et ne devraient pas hésiter à remettre en question les résultats incohérents en se basant sur la présentation clinique et sur l'épidémiologie locale.

Tableaux 4 : récapitulatif des différentes méthodes diagnostique, leurs avantages et inconvénients [238].

Méthodes	sensibilité	spécificité	avantages	inconvénients
Ag soluble urinaire	56-80%	99%	-Rapide -précoce -diagnostic même sous traitement -↓ mortalité	-L.P 1 -Cher -En routine ? -Risque de sous diagnostic des autres <i>Legionella</i>
Culture	60%	100%	-Gold standard -Toutes espèces -3-5j	-Milieux spéciaux -Demande spécifique -Négativation rapide -Peu sensible sous traitement
Sérologie	80%	97-99%	épidémiologique	Peu d'intérêt en phase aigüe
IFD	25%	65%	rapide	-Laboratoires spécialisés -Réactions croisées

III- DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL :

L'absence de spécificité des symptômes cliniques doit faire évoquer :

1) Embolie pulmonaire :

Dans 30% des cas, il existe une fièvre. Elle est évoquée sur le terrain et l'existence de facteurs favorisants. Le diagnostic se fait par la scintigraphie et/ou angiographie.

2) Œdème pulmonaire cardiogénique :

Souvent fébrile, parfois asymétrique (sur valvulopathie mitrale) évoqué sur le terrain, l'ECG, l'échographie cardiaque, voire le cathétérisme cardiaque droit.

Souvent le diagnostique est rétrospectif devant la guérison « trop rapide » sous diurétique.

3) Atélectasie par obstruction bronchique :

Peut être surinfectée avec opacité à caractère systématisé et rétractile avec absence de bronchogramme aérien. La fibroscopie bronchique et la kinésithérapie ont une grande valeur ajoutée.

4) Pneumopathies non infectieuses :

Elles sont en règle évoquées après échec d'un traitement antibiotique (tumeur, pneumopathie médicamenteuse, atteinte pulmonaire d'une maladie systémique)

5) Tuberculose pulmonaire :

Parfois tableau brutal d'allure bactérienne. Evoqué après échec antibiotique.

6) Bronchiolite oblitérante à organisation pneumonique (BOOP) :

Peut survenir après une pneumopathie infectieuse.



Traitement



I- Traitement curatif :

I-1.Principes du traitement antibiotique :

Le traitement antibiotique pour les pneumopathies communautaires est le plus souvent empirique et couvre les germes suspectés. Le spectre d'action des antibiotiques utilisés pour les pneumopathies sévères ou chez les patients à risque englobe les Légionelles. L'antibiotique est choisi selon son activité, son épidémiologie et sa co-morbidité. Le traitement est habituellement ambulatoire [251].

Si la Légionellose est confirmée, le traitement se fait généralement par les macrolides, parfois par les fluoroquinolones ou la Rifampicine.

Si les beta-lactamines sont initialement prescrites, elles doivent être arrêtées car elles ne sont pas actives sur légionelles.

Le choix d'antibiotiques pour les infections extra-respiratoires devrait être le même que pour la pneumopathie à *L. pneumophila*.

I-2. Choix de l'antibiothérapie

Il y a une certaine controverse sur l'utilisation des fluoroquinolones par rapport aux macrolides comme traitement de choix de la MDL. Parmi les macrolides, l'azithromycine est généralement supérieur à la clarithromycine ou l'érythromycine dans de nombreux modèles cellulaires et aussi la plupart des modèles animaux [252]. Dans les modèles animaux, la mort est plus rapide avec certaines nouvelles quinolones puissantes, mais il existe une différence frappante quand au degré d'inflammation du poumon comparé à d'autres antimicrobiens. Le degré d'inflammation le plus faible dans le modèle animal est causé par l'azithromycine alors que l'inflammation la plus importante est due

à l'érythromycine, pour ce qui est des fluoroquinolones, leur degré d'inflammation reste intermédiaire. Par ailleurs, l'azithromycine et les quinolones sont tous deux capables de provoquer une inhibition irréversible de la croissance intracellulaire de *Legionella* même après le retrait des médicaments dans le modèle macrophagique [252]. De récentes études [253-255], qui montrent plusieurs limites en raison de défauts méthodologiques [256], suggèrent qu'en termes de mortalité et de complications, les macrolides et les fluoroquinolones sont équivalents pour la majorité des cas de Légionellose qui nécessite une hospitalisation.

Les informations provenant des premières études sur la Légionellose ont donné des indices très utiles sur l'efficacité clinique réelle des différents antibiotiques [257]. Il est devenu évident que les patients traités par l'érythromycine montraient un taux de mortalité (6%) plus bas que chez les patients traités par aminosides, bêta-lactamines ou chloramphénicol qui avait un taux de mortalité de 30-40%.

Un grand nombre d'études cliniques ont prouvés la grande efficacité de l'érythromycine contre la Légionellose, et jusqu'à il y a quelques années, elle fut considérée comme la molécule de référence. En effet, une série récente a confirmé que l'érythromycine est encore un agent efficace [258]. La voie, la dose et la durée d'administration de l'érythromycine sont des facteurs important à prendre en compte pour obtenir une efficacité maximale. La voie intraveineuse est, comme pour plusieurs autres thérapeutiques, recommandée pour initier le traitement chez les patients nécessitant une hospitalisation. La dose prescrite pour commencer de 1g/6h est associée à certains effets indésirables [259] comme indiqué ci-dessous.

D'autres macrolides plus récents ont la même capacité de pénétrer à l'intérieur des macrophages au même titre que l'érythromycine avec en plus l'avantage d'avoir une activité intrinsèque supérieure contre *Légionella*. Outre leur activité supérieure *in vitro* contre *Légionella*, ils offrent des avantages pharmacocinétique et pharmacodynamique. De légères différences sur l'activité de ces nouvelles molécules ont été trouvées dans différentes études [260]. Les formes intraveineuses de la spiramycine, largement utilisée en France [261], de l'azithromycine et de la clarithromycine sont disponibles sur le marché. L'azithromycine [252], en raison d'un meilleur profil pharmacocinétique (une seule administration par jour, délai de traitement raccourci) ainsi que sa capacité d'inhibition irréversible de la croissance de *Légionella*, est probablement la meilleure option thérapeutique pour le traitement des patients hospitalisés pour Légionellose [262;263].

Les fluoroquinolones sont capables d'atteindre de bonnes concentrations intracellulaires et une activité *in vitro* élevée contre *Légionella*. Les nouveaux fluoroquinolones, tel que la gémifloxacine, la gatifloxacine ou la pazufloxacine ont également montrés une excellente activité intrinsèque contres les espèces de *Légionella* [264-268]. Une expérience clinique pertinente a été rapportée avec la gémifloxacine contre la *Légionellose* [269].

Il existe des preuves *in vitro* et *in vivo* de la grande puissance de la Rifampicine contre *Légionella* [270-272]. La possibilité théorique de l'induction rapide des souches résistantes à la rifampicine, quand elle est administrée seule, exclue sont utilisation en monothérapie. En effet, il existe des preuves *in vitro* de la résistance à la rifampicine lorsqu'elle est utilisée seule [273;274].

Comme indiqué plus haut, l'efficacité clinique des tétracyclines dans la Légionellose semble inférieure à celle de l'érythromycine [257]. La minocycline et la doxycycline se sont avérées efficaces dans certaines études [270] et offrent un meilleur profil pharmacocinétique.

L'association sulfaméthoxazole-triméthoprime (cotrimoxazole) montre également une bonne efficacité chez certains modèles animaux [270] mais avec des résultats moins impressionnants que ceux de l'érythromycine ou la rifampicine. Les données cliniques restent très limitées. Il a été suggéré que cette association pourrait être particulièrement efficace contre *L. micdadei* en se basant sur quelques cas de pneumonies causés par cette espèce, qui ne répondaient pas à l'érythromycine mais qui se sont vus guérir par le cotrimoxazole [275].

Les kétolides montrent une bonne activité intrinsèque contre les espèces de *Legionella* [276]. Il semblerait qu'ils sont cliniquement fiables dans les formes modérées de Légionellose [277].

La pristynamycine s'est avérée utile chez un petit nombre de patients atteints de pneumopathie à *L. pneumophila* [278]. Les nouveaux peptides inhibiteurs de la déformylase ne semblent pas offrir un avantage supplémentaire par rapport aux autres agents thérapeutiques puisque leur activité intrinsèque contre les légionelles n'est pas optimale [279].

Contrairement aux pneumopathies communautaires à germes typiques, le développement de la résistance à ces antibiotiques habituellement actifs contre les agents pathogènes intracellulaires n'est pas une préoccupation [280-282].

La durée du traitement doit être décidée au cas par cas [281]. L'analyse clinique doit être faite pour établir combien de temps le traitement doit être administré, mais habituellement, une courte durée de 7 à 14 jours est suffisante pour guérir la plupart des patients [283;280;281;282;268]. Avec l'azithromycine, même 5 jours peuvent être suffisant dans les cas bénins [281]. Il a également été rapporté que certains patients atteints de forme légère de Légionellose peuvent également être traités avec un traitement de 5 jours par la lévofloxacine à une dose de 750 mg par jour [284]. Une dose de charge constituée d'une double dose de lévofloxacine ou d'azithromycine a été recommandé par quelques experts, mais les raisons de ce protocole ne sont pas claire. En fait, il n'y a aucune preuve cohérente à l'appui de cette approche [281;282;252].

Le tableau 4 mentionne les points clés suggéré pour une approche thérapeutique de la maladie des Légionnaires [281;285].

Le traitement adapté et précoce suppose généralement un meilleur résultat et un taux de mortalité plus faible, en particulier dans le cas des formes cliniques graves nécessitant l'admission en unité de soins intensifs [286].

Tableau 5 : point clés essentiel dans le traitement de la Légionellose.

- 1) L'administration précoce d'une thérapie efficace est un facteur pronostique favorable.
- 2) Le traitement oral de courte durée (7-10 jours) est possible dans les cas légers à modérés.
- 3) Pendant la grossesse, l'azithromycine et l'érythromycine sont les options les plus sûres.
- 4) L'utilisation des fluoroquinolones doit être évitée chez les enfants.
- 5) Les échecs d'éradication, le non rétablissement ou les rechutes ne sont pas causés par le développement des résistances aux antibiotiques.
- 6) Un traitement de courte durée doit être évité chez les patients immunodéprimés.
- 7) Un traitement prolongé (3 semaines) est nécessaire dans les cas sévère d'immunodépression.
- 8) Un traitement plus long que la normale est nécessaire si endocardite.
- 9) Il faut drainer toute collection purulente.
- 10) Prendre en considération les infections associées, surtout si patient immunodéprimé.
- 11) Une lésion aigue du poumon peut entrainer une mauvaise réponse clinique.
- 12) Les associations n'ont pas prouvé une efficacité supérieure a la monothérapie.
- 13) Si une association avec la rifampicine est envisagée, elle ne devrait pas dépasser 5 jours en raison du risque de toxicité hépatique.
- 14) La rifampicine ne devrait pas être administrée seule (risque de développement des résistances).
- 15) Un diagnostic précoce conduit a un rétablissement prompt ainsi qu'une faible mortalité.

Tableau 6 : recommandation des différentes approches thérapeutiques dans la Légionellose.

[286]

familles	Antibiotiques	Dosage	Voie
Macrolides.a,b	<i>Azithromycine.d</i>	500 mg/24h	IV, per os
	<i>Clarithromycine</i>	500 mg/12h	IV, per os
	<i>Spiramycine</i>	1,5 M UI/8h	IV
		6-9 M UI/24h	Per os
	<i>Erythromycine.c</i>	1g/6-8h	IV, per os
Tétracyclines	<i>Doxycycline</i>	100 mg/12-24h	IV, per os
Fluoroquinolones	<i>Lévofoxacine.d</i>	500-750 mg/24h	IV, per os
	<i>Moxifloxacine.d</i>	400 mg/24h	IV, per os
	<i>Gémifloxacine.e</i>	320 mg/24h	Per os
	<i>Gatifloxacine.e</i>	200-400 mg/24h	IV, per os
	<i>Ciprofloxacine</i>	400 mg/8-12h	IV
		500-750 mg/12h	Per os
	<i>Ofloxacine</i>	400-800 mg/24h	IV, per os
Kétolides	<i>Telithromycine.e</i>	800 mg/24h	Per os

a : la voie orale est recommandée seulement chez les patients ne nécessitant pas d'hospitalisation.

b : dans les cas de sévérité moyenne, la josamycine (1g/12h), la roxithromycine (150mg/12h) et la dirithromycine (500 mg/24h) sont aussi efficaces.

c : moins actif que les autres macrolides ; risque de phlébites, de surdité surtout en IV

d : recommandée dans les cas sévères, surtout chez l'immunodéprimé.

e : en raison de données cliniques trop pauvres, leur utilisation se limite au cas bénin ou de moyenne sévérité.

Thérapies combinées :

L'association médicamenteuse est recommandée pour les épisodes graves par certaines directives internationales, mais il n'y a aucune preuve appuyant cette suggestion. Pour la plupart des patients, la monothérapie par les macrolides ou les fluoroquinolones conduit généralement à un résultat positif plus rentable [252] [280-282].

Des données récentes provenant d'une étude espagnole multicentrique [287] suggèrent que le traitement combiné serait plus favorable que la monothérapie dans le groupe de patients atteints de formes sévères de Légionellose sous ventilation mécanique [282]. La bithérapie la plus fréquemment utilisée dans cette étude est la clarithromycine associée à la rifampicine. On n'est pas certain sur quelle approche thérapeutique est préférable même si la rifampicine est l'agent le plus utilisé en terme d'association. Comme indiqué précédemment, la rifampicine ne doit jamais être utilisée en monothérapie car elle peut induire un développement rapide des résistances. En raison du risque de toxicité hépatique qui semble croître avec la durée du traitement, nous recommandons de donner la rifampicine pendant juste quelques jours [288].

Le fait d'ajouter un autre antibiotique pouvant causer une toxicité est une préoccupation, surtout dans les services de soins intensifs.

La rifampicine semble apporter peu aux antibiotiques les plus efficaces *in vitro*, mais quand elle est utilisée chez le cochon de Guinée, il apparaît qu'elle est bénéfique associée à l'érythromycine et probablement la clarithromycine. L'association de l'érythromycine à la rifampicine a été rapportée comme étant plus active contre *L. pneumophila* que les autres options telles que l'association érythromycine-ciprofloxacine ou ciprofloxacine-rifampicine [274]. Chez le cochon de Guinée, l'addition de la rifampicine est responsable d'une forte bactéricidie, d'une diminution de l'extension de la pneumonie ainsi que du taux de mortalité [270;290].

En se basant sur une synergie *in vitro*, une étude suggère que l'association macrolides-fluoroquinolones pourrait être bénéfique [290]. Cependant, dans d'autres études, l'association érythromycine-quinolones n'a pas montrée une meilleure efficacité ou un taux de mortalité plus bas dans le modèle animal [273]. Dans quelques études [291], alors que dans d'autres non [273], la rifampicine serait un antagoniste de la ciprofloxacine du moins *in vitro*. Moffie et Mouton [274] ont rapportés que cette combinaison n'est pas efficace pour éradiquer les mutants résistants à la rifampicine.

II- Traitement préventif :

Il n'existe pas en ce moment de traitement prophylactique contre l'association *A. castellanii-L. pneumophila*, du coup, nous traiterons le volet préventif de la Légionellose.

Il y a plus d'échecs que de succès lors de traitements contre la *Légionellose*.

II-1. Raison des échecs du traitement préventif :

- Une confusion entre les bactéries circulantes et la situation réelle sanitaire du circuit, avec une totale ignorance de la présence ou l'absence de biofilm. A l'exception des gros circuits de refroidissement, il n'y a pratiquement pas de suivi périodique du biofilm.

- Une non connaissance des vitesses de l'eau dans les divers tronçons, dans diverses configurations.

- Une non connaissance de la vitesse de corrosion et de l'efficacité des inhibiteurs (pas de moyens de suivi de la corrosion et de l'entartrage).

- Une non connaissance de l'âge de l'eau dans les divers tronçons, sauf dans les grandes tours de refroidissement où ce paramètre est connu.
- Une non connaissance du pH de l'eau en absence et en présence de chlore.
- un suivi approximatif des traitements désinfectants oxydants (javel, ...).

II-2. La prévention a domicile :

- Se servir de l'eau chaude régulièrement. Les points d'eau qui restent inutilisés longtemps, comme dans les résidences saisonnières, sont particulièrement sujets aux contaminations par *L. pneumophila*. Dans ce cas de figure, la règle est de laisser couler l'eau pendant quelques minutes avant de l'utiliser, et ce en sortant de la pièce de préférence.

- Le milieu optimal de prolifération de *L. pneumophila* est une eau à 37°C. il faut donc régler le chauffe-eau à 60°C. en effet, à cette température, *L. pneumophila* est tuée en 25 minutes environ dans les « bras morts » des canalisations.

- Détartrer et désinfecter (15 minutes dans de l'eau de javel diluée) tous les 6 mois les éléments de robinetterie : pommeaux de douche, brise-jets, joints et flexibles. Si ces mêmes éléments sont usés, il ne faut pas hésiter à les remplacer tous les 2 ans environ.

il faut aussi Vidanger, nettoyer et désinfecter les réservoirs de stockage d'eau chaude au moins une fois par an (15 minutes dans de l'eau de javel diluée), surtout pour les résidences saisonnières.

II-3. La prévention dans les établissements de santé :

Dans les établissements de santé, la prévention repose sur la maintenance et le contrôle régulier des réseaux d'eau :

- nettoyage pour éliminer le tartre, suppression des boucles et bras morts;
- un taux de chlore suffisant (1–1,5 ppm) ;
- les contrôles bactériologiques doivent révéler un taux < 1000UFC/L dans tous les services sauf ceux hébergeant des patients à haut risque (immunodépression sévère après transplantation, corticothérapie prolongée ou à haute dose) où le seuil doit être < 50 UFC/L qui est le seuil de détection de la méthode bactériologique (par filtration, seule méthode de référence devant être utilisée).

II-4. La prévention chez les propriétaires de tours aéro-réfrigérantes :

Les propriétaires de tours aéro-réfrigérantes doivent également nettoyer régulièrement ces tours et les contrôler : ici, le seuil d’alerte et d’intervention est supérieur ou égal à 1000 UFC/L et le seuil d’arrêt immédiat des tours est supérieur ou égal à 100000 UFC/L.

Quand les contrôles sont positifs il convient de désinfecter le réseau ; trois types de traitement sont possibles : chloration continue (au moins 1mg/l de chlore libre), choc chloré (15 à 100 mg/l selon la procédure) ou choc thermique (70°C pendant 30 minutes).

II-5. Prévention lors d’un cas nosocomial :

Lors d’un cas nosocomial, il convient :

- d’interdire l’usage de tous les points d’eau du service jusqu’à ce que les taux soient redevenus normaux ;
- de surveiller tous les patients hospitalisés et ayant été exposés au même risque, afin de les traiter rapidement si nécessaire ;

- d'administrer une antibioprophylaxie avec un macrolide aux sujets à risque en cas de suspicion d'épidémie.

Les légionelles sont des bactéries normalement présentes dans l'eau et il est donc impossible de les éradiquer complètement. La seule garantie serait une filtration terminale de tous les points d'usage.

Il est formellement interdit dans un établissement de santé d'utiliser de l'eau de réseau soit pour l'humidification de l'oxygénothérapie, soit pour la reconstitution des aérosols.

Il est fortement recommandé de purger le circuit d'eau de temps en temps lorsqu'il y a fermeture de lits.

Le taux de légionelles dans le réseau d'un hôpital est un indicateur de qualité de la structure et il fait partie de l'aqua-vigilance. Le CLIN doit s'efforcer de mettre en place et de faire appliquer les procédures pour éviter le risque de Légionellose.



Conclusion



A. castellanii est une amibe libre pathogène largement rependue dans l'environnement et dont les kystes ont une grande capacité de survie dans des conditions hostile.

L. pneumophila est un bacille Gram négatif vivant dans les réseaux de distribution d'eaux tel que les robinets, les climatiseurs et les tours aéroréfrigérantes et occasionnant une pneumopathie atypique appelée *Légionellose* ou maladies des Légionnaires.

Il est prouvé qu'*A. castellanii* joue le rôle de protecteur et de potentialisateur pour *L. pneumophila* rendant cette affection encore plus dangereuse et potentiellement mortelle.

Le diagnostic est basé sur la clinique, la radiographie thoracique mais surtout la biologie (détection de l'antigène urinaire de *L. pneumophila*).

Le traitement antibiotique précoce et adapté est la base d'une prise en charge adéquate.

Le traitement préventif n'est pas indispensable en routine mais s'avère indispensable en cas d'apparition d'un cas de *Légionellose*



Résumé



RESUME

Titre : association *Acanthamoeba castellanii*- *Légionella pneumophila*, un duo redoutable.

Auteur : RIFKI Fayçal

Mots clés : *Acanthamoeba castellanii*, *Légionella pneumophila*, BCYE, choc chloré et thermique.

Acanthamoeba castellanii est une amibe libre se présentant sous deux formes : trophozoïde mobile, biologiquement active et mesurant 25 à 40µm et kystique résistante, biologiquement inactive et mesurant 18µm. Cette amibe sert en effet d'hôte naturel, de potentialisateur et de protecteur pour *Légionella pneumophila*, qui est un bacille Gram négatif vivant dans les réseaux de distributions d'eaux (robinets, climatiseurs et tours aéroréfrigérantes)

L. pneumophila se développe en intracellulaire dans les macrophages et sa période d'incubation oscille entre 7 à 10 jours. La *Légionellose* est transmise par inhalation de microgouttelettes d'eau lors d'un contact avec une source d'infection.

Le diagnostic de la maladie est facile à condition qu'il soit évoqué. Il repose sur des critères cliniques, radiologiques mais surtout bactériologiques. Faute de traitement, la *Légionellose* entraîne une pneumopathie atypique pouvant se compliquer d'atteinte neurologique, rénale, cardio-vasculaire mais plus grave encore, l'insuffisance respiratoire aigüe.

La stratégie thérapeutique a grandement évolué ces dernières années vues l'émergence de nouvelles molécules plus efficace que l'érythromycine qui était considérée jusqu'à lors comme la molécule de référence comme l'azithromycine, les fluoroquinolones, certaines cyclines, les kétolidés ainsi que la rifampicine en association.

Cependant, malgré les grands progrès dans la prise en charge de la maladie des légionnaires, le nombre de cas diagnostiqué ne fait qu'accroître et serait dû à la grande propagation des installations climatiques.

La prévention reste le meilleur moyen de lutte. Elle n'est recommandée que s'il y a présence d'un cas et repose sur deux volets : la prévention des sujets contact et la prévention des installations.

SUMMARY

Title: *Acanthamoeba castellanii*-*Legionella pneumophila* association, a dreadful duet.

Author: RIFKI Fayçal

Keywords: *Acanthamoeba castellanii*, *Legionella pneumophila*, BCYE, chlorinated and thermal shocks.

Acanthamoeba castellanii is a free living amoeba with two forms: trophozoide form, mobile, biologically active and measuring 25 to 40µm and a cystic form, resistant, biologically inactive and measuring 18µm. This amoeba is indeed a natural host potentiator and protector for *Legionella pneumophila*, a Gram-negative bacilli living in the distribution networks of water (faucets, air conditioners and cooling towers)

L. pneumophila develops in intracellular in macrophages and its incubation period ranges from 7-10 days. *Legionella* is transmitted by inhalation of water microdroplets on contact with a source of infection.

The diagnosis of this disease is easily provided if mentioned. It is based on clinical, radiological and especially bacteriological features. Without treatment, *Legionella* causes atypical pneumonia that may be complicated by neurological, kidney or cardiovascular disorders, but more importantly, acute respiratory failure.

The therapeutic strategy has evolved recently seeing the emergence of new and more effective drugs than erythromycin which until then was considered as the reference molecule such as azithromycin, fluoroquinolones, some cyclins, ketolides and the Rifampicin in combination.

However, despite the great progress made in the treatment of Legionnaires' disease, the number of cases diagnosed only grows and is due to the large spread of air conditioning systems.

Prevention remains the best means of control. It is recommended if there is a confirmed case and is based on two components: prevention of contact subjects and prevention for facilities.

ملخص

العنوان: إتحاد أكنتموبيا كستلاني لجيونل بنموفيل: تنائي رهيب.

من طرف: رفقي فيصل

الكلمات الأساسية: أكنتموبيا كستلاني، لجيونل بنموفيل، مستخلصات خميرة الفحم المخزنة.

أكنتموبيا كستلاني أميبة حرة نجدها في حالتين: حالة تروفوزويد متحرك، نشيط بيولوجيا، يبلغ طوله 25 إلى 40 μ م و حالة كيسية مقاومة، عديمة النشاط البيولوجي، يبلغ طولها م18. يتلخص دور هذه الأميبة في الإحتضان الطبيعي، تأييد و كذا الحفاظ على لجيونل بنموفيل، و الذي هي عصية غرام سالبة تعيش في شبكات توصيل المياه (صنابير، المكيفات، أبراج التبريد). لجيونل بنموفيل تتطور داخل البلعميات و تتراوح عندها فترة الحضانة ما بين 7 إلى 10 أيام. يتناقل داء اللجينلوز عبر استنشاق جزيئات دقيقة من الماء عند الإتصال المباشر مع مصدر العدوى. تشخيص المرض سهل شرط أن يتم ذكره. يركز التشخيص على معايير سريرية، إشعاعية و خصوصا بكتريولوجية. في غياب العلاج، يتسبب داء اللجينلوز في إتهاب رئوي غير نمطي قد يزيد في التعقيد حيث يسبب مضاعفات عصبية، كلوية، إصابات على مستوى القلب و الشرايين، لكن، و أهم من ذلك، فشل الجهاز التنفسي الحاد.

عرفت الإستراتيجية العلاجية تطورا ملحوظا في السنوات الأخيرة و يرجع ذلك إلى ظهور أدوية معاصرة أكثر فعالية من الإرثرومسين التي كانت تعتبر الجزيئة المرجعية مثل الأرترومسين، الفلوروكينولونات، بعض السكليينات، الكيتوليدات و الريفنيسين في علاج مركب.

و رغم التقدم الحاصل في ميدان علاج مرض اللجينلوز، فإن تزايد الحالات المشخصة يعود أساسا إلى انتشار أجهزة التكييف.

و تبقى الوقاية أحسن وسيلة لمحاربة المرض. و لا ينصح بها إلا عند تسجيل حالة إصابة و تركز على نقطتان أساسيتان: وقاية الأشخاص التي كان لهم إتصال مباشر بالحالة المسجلة و وقاية الأجهزة و تركيباتها.



Références



- [1] <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/legionellose/1948-legionellose-climatisation.htm>
- [2] Dujardin F. (1841). Histoire naturelle des zoophytes. Infusoires.
- [3] Amir S. *Acanthamoeba castellanii* as a host and model to study bacterial virulence. Karolinska institutet, Stockholm 2009.
- [4] Jahnes W.G & Fullmer H.M. Free living amoebae as contaminants in monkey kidney tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 96 (1957), 484-488.
- [5] Culbertson C.G, Smith J.W, Cohen H.K & Minner J.R. Experimental infection of mice and monkeys by *Acanthamoeba*. *Am J Pathol* 35 (1959), 185-197.
- [6] Fowler M & Carter R.F. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: a preliminary report. *Br Med J* 2 (1965), 740-742.
- [7] Willaert E, Stevens A.R & Healy G.R. Retrospective identification of *Acanthamoeba culbertsoni* in a case of amoebic meningoencephalitis. *J Clin Pathol* 31 (1978), 717-720.
- [8] Schuster F.L & Visvesvara G.S. Free-living amoebae as opportunistic and nonopportunistic pathogens of humans and animals. *Int J Parasitol* 34 (2004), 1001-1027.
- [9] Jones D.B, Visvesvara G.S & Robinson N.M. *Acanthamoeba polyphaga* keratitis and *Acanthamoeba uveitis* associated with fatal meningoencephalitis. *Trans Ophthalmol Soc U K* 95 (1975), 221-232.

- [10] Lakomy. Une kératite à amibes libres chez un non porteur de lentilles de contact. *Annales de Biologie Clinique* 63 (2005), 531-534.
- [11] Visvesvara G.S, Schuster F.L & Martinez A.J. Balamuthia mandrillaris, N. G., N. Sp., agent of amebic meningoencephalitis in humans and other animals. *J Eukaryot Microbiol* 40 (1993), 504-514.
- [12] Greub G & Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin Microbiol Rev* 17 (2004), 413-433.
- [13] Fraser, D.W., Tsai, T.R., Orenstein W., Parkin, W.E., Beecham, H.J., Sharrar, R;G., Harris J., Mallison, G.F., Martin, S.M., McDade, J.E., Shepard, C. C. & Brachman, P. S. (1977). Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 297, 1189-1197.
- [14] Brenner, D. J., Steigerwalt, A. G. & McDade, J. E. (1979). Classification of the Legionnaires' disease bacterium: Legionella pneumophila, genus novum, species nova, of the family Legionellaceae, familia nova. *Ann Intern Med* 90, 656-658.
- [15] Glick, T. H., Gregg, M. B., Berman, B., Mallison, G., Rhodes, W. W., Jr. & Kassanoff, I. (1978). Pontiac fever. An epidemic of unknown etiology in a health department: I. Clinical and epidemiologic aspects. *Am J Epidemiol* 107, 149-160.
- [16] McDade, J. E., Brenner, D. J. & Bozeman, F. M. (1979). Legionnaires' disease bacterium isolated in 1947. *Ann Intern Med* 90, 659-661.

- [17] Rowbotham, T. J. (1980). Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *J Clin Pathol* 33, 1179-1183.
- [18] Philippe, C., Blech, M. F. & Hartemann, P. (2006). Intra-amoebal development of *Legionella pneumophila* and the potential role of amoebae in the transmission of Legionnaires' disease. *Med Mal Infect* 36, 196-200.
- [19] Segal, G. & Shuman, H. A. (1999). *Legionella pneumophila* utilizes the same genes to multiply within *Acanthamoeba castellanii* and human macrophages. *Infect Immun* 67, 2117-2124.
- [20] Pussard, M. & Pons, R. (1977). Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). *Protistologica* 13, 557-610.
- [21] Adl, S. M., Simpson, A. G., Farmer, M. A., Andersen, R. A., Anderson, O. R., Barta, J. R., Bowser, S. S., Brugerolle, G., Fensome, R. A., Fredericq, S., James, T. Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C. E., Lewis, L. A., Lodge, J., Lynn, D. H., Mann, D. G., McCourt, R. M., Mendoza, L., Moestrup, O., Mozley-Standridge, S. E., Nerad, T. A., Shearer, C. A., Smirnov, A. V., Spiegel, F. W. & Taylor, M. F. (2005). The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J Eukaryot Microbiol* 52, 399-451.
- [22] Institut de parasitologie, Berne; www.labor-spiez.ch/fr/the/ar/bs/frthearbsbak03.htm

- [23] Bowers, B. & Korn, E. D. (1968). The fine structure of *Acanthamoeba castellanii*. I. The trophozoite. *J Cell Biol* 39, 95-111.
- [24] Pearson Scott Foresman, donated to the Wikimedia Foundation, <http://en.wikipedia.org/wiki/Amoeba>
- [25] Marciano-Cabral, F. & Cabral, G. (2003). *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev* 16, 273-307.
- [26] www.med-chem.com
- [27] Bowers, B. & Korn, E. D. (1969). The fine structure of *Acanthamoeba castellanii* (Neff strain). II. Encystment. *J Cell Biol* 41, 786-805.
- [28] Bouyer, S., Imbert, C., Daniault, G., Cateau, E. & Rodier, M. H. (2007). Effect of caspofungin on trophozoites and cysts of three species of *Acanthamoeba*. *J Antimicrob Chemother* 59, 122-124
- [29] Mazur, T., Hadas, E. & Iwanicka, I. (1995). The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. *Trop Med Parasitol* 46, 106-108.
- [30] Meisler, D. M., Rutherford, I., Bican, F. E., Ludwig, I. H., Langston, R. H., Hall, G. S., Rhinehart, E. & Visvesvara, G. S. (1985). Susceptibility of *Acanthamoeba* to surgical instrument sterilization techniques. *Am J Ophthalmol* 99, 724-725.
- [31] Puytorac, P. d., Grain, J. & Mignot, J. P. (1987). *Précis de protistologie*. Paris.

- [32] Schuster, F. L. & Levandowsky, M. (1996). Chemosensory responses of *Acanthamoeba castellanii*: visual analysis of random movement and responses to chemical signals. *J Eukaryot Microbiol* 43, 150-158.
- [33] Bowers, B. & Olszewski, T. E. (1972). Pinocytosis in *Acanthamoeba castellanii*. Kinetics and morphology. *J Cell Biol* 53, 681-694.
- [34] Bowers, B. (1980). A morphological study of plasma and phagosome membranes during endocytosis in *Acanthamoeba*. *J Cell Biol* 84, 246-260.
- [35] Krishna-Murti, C. R. & Shukla, O. P. (1984). Differentiation of pathogenic amoebae : encystation and excystation of *Acanthamoeba culbertsoni* - A model. *Journal of Biosciences* 6, 475-489.
- [36] Byers, T. J., Kim, B. G., King, L. E. & Hugo, E. R. (1991). Molecular aspects of the cell cycle and encystment of *Acanthamoeba*. *Rev Infect Dis* 13 Suppl 5, S373-384.
- [37] Cordingley, J. S., Wills, R. A. & Villemez, C. L. (1996). Osmolarity is an independent trigger of *Acanthamoeba castellanii* differentiation. *J Cell Biochem* 61, 167-171.
- [38] Stöhr, M., Bommert, K., Schulze, I. & Jantzen, H. (1987). The cell cycle and its relationship to development in *Acanthamoeba castellanii*. *Journal of Cell Science* 88, 579-589.

- [39] Maeda, Y., Ohmori, T., Abe, T., Abe, F. & Amagai, A. (1989). Transition of starving Dictyostelium cells to differentiation phase at a particular position of the cell cycle. *Differentiation* 41, 169-175.
- [40] Khunkitti, W., Lloyd, D., Furr, J. R. & Russell, A. D. (1998). Acanthamoeba castellanii: growth, encystment, excystment and biocide susceptibility. *J Infect* 36, 43-48.
- [41] Chavez-Munguia, B., Omana-Molina, M., Gonzalez-Lazaro, M., Gonzalez-Robles, A., Bonilla, P. & Martinez-Palomo, A. (2005). Ultrastructural study of encystation and excystation in Acanthamoeba castellanii. *J Eukaryot Microbiol* 52, 153-158.
- [42] Jarroll, E. L. & Sener, K. (2003). Potential drug targets in cyst-wall biosynthesis by intestinal protozoa. *Drug Resist Updat* 6, 239-246.
- [43] Chen, L., Orfeo, T., Gilmartin, G. & Bateman, E. (2004b). Mechanism of cyst specific protein 21 mRNA induction during Acanthamoeba differentiation. *Biochim Biophys Acta* 1691, 23-31.
- [44] Hirukawa, Y., Nakato, H., Izumi, S., Tsuruhara, T. & Tomino, S. (1998). Structure and expression of a cyst specific protein of Acanthamoeba castellanii. *Biochim Biophys Acta* 1398, 47-56.
- [45] Jantzen, H. (1981). Control of actin synthesis during the development of Acanthamoeba castellanii. *Dev Biol* 82, 113-126.

- [46] Schulze, I. & Jantzen, H. (1982). Coordinate regulation of synthesis of ribosomal proteins during encystation of *Acanthamoeba castellanii*. *Eur J Biochem* 126, 285-292.
- [47] Park, J., Jeong, Y. & Ahn, T. (2002). Changes in profiles of major proteins in encysting *Acanthamoeba castellanii*. *Korean J Biol Sci* 6, 341-347.
- [48] Moon, E. K., Chung, D. I., Hong, Y. C., Ahn, T. I. & Kong, H. H. (2008b). *Acanthamoeba castellanii*: gene profile of encystation by ESTs analysis and KOG assignment. *Exp Parasitol* 119, 111-116.
- [49] Hong, Y. C., Kong, H. H., Ock, M. S., Kim, I. S. & Chung, D. I. (2000). Isolation and characterization of a cDNA encoding a subtilisin-like serine proteinase (ahSUB) from *Acanthamoeba healyi*. *Mol Biochem Parasitol* 111, 441-446.
- [50] Kim, W. T., Kong, H. H., Ha, Y. R., Hong, Y. C., Jeong, H. J., Yu, H. S. & Chung, D. I. (2006). Comparison of specific activity and cytopathic effects of purified 33 kDa serine proteinase from *Acanthamoeba* strains with different degree of virulence. *Korean J Parasitol* 44, 321-330.
- [51] Lorenzo-Morales, J., Ortega-Rivas, A., Foronda, P., Abreu-Acosta, N., Ballart, D., Martinez, E. & Valladares, B. (2005). RNA interference (RNAi) for the silencing of extracellular serine proteases genes in *Acanthamoeba*: molecular analysis and effect on pathogenicity. *Mol Biochem Parasitol* 144, 10-15.

- [52] Sissons, J., Alsam, S., Goldsworthy, G., Lightfoot, M., Jarroll, E. L. & Khan, N. A. (2006). Identification and properties of proteases from an *Acanthamoeba* isolate capable of producing granulomatous encephalitis. *BMC Microbiol* 6, 42.
- [53] Moon, E. K., Chung, D. I., Hong, Y. C. & Kong, H. H. (2008a). Characterization of a serine proteinase mediating encystation of *Acanthamoeba*. *Eukaryot Cell* 7, 1513- 517.
- [54] Dudley, R., Alsam, S. & Khan, N. A. (2008). The role of proteases in the differentiation of *Acanthamoeba castellanii*. *FEMS Microbiol Lett.*
- [55] <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Sarcodina/acanth/03.html>
- [56] McDade, J. E., Brenner, D. J. & Bozeman, F. M. (1979). Legionnaires' disease bacterium isolated in 1947. *Ann Intern Med* 90, 659-661.
- [57] Bilan annuel d'activité 2006 du CNR, Lyon, <http://dm3.univ-lyon1.fr/>
- [58] http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:LegionellaPneumophila_Gram.jpg
- [59] Gabay, J. E., Blake, M., Niles, W. D. & Horwitz, M. A. (1985). Purification of *Legionella pneumophila* major outer membrane protein and demonstration that it is a porin. *J Bacteriol* 162, 85-91.
- [60] Lambert, M. A. & Moss, C. W. (1989). Cellular fatty acid compositions and isoprenoid quinone contents of 23 *Legionella* species. *J Clin Microbiol* 27, 465-473.

- [61] Diogo, A., Verissimo, A., Nobre, M. F. & da Costa, M. S. (1999). Usefulness of fatty acid composition for differentiation of *Legionella* species. *J Clin Microbiol* 37, 2248-2254.
- [62] Steinert, M., Emody, L., Amann, R. & Hacker, J. (1997). Resuscitation of viable but nonculturable *Legionella pneumophila* Philadelphia JR32 by *Acanthamoeba castellanii*. *Appl Environ Microbiol* 63, 2047-2053.
- [63] Hookey, J. V., Birtles, R. J. & Saunders, N. A. (1995). Intergenic 16S rRNA gene (rDNA)- 23S rDNA sequence length polymorphisms in members of the family Legionellaceae. *J Clin Microbiol* 33, 2377-2381.
- [64] Ratcliff, R. M., Lanser, J. A., Manning, P. A. & Heuzenroeder, M. W. (1998). Sequencebased classification scheme for the genus *Legionella* targeting the mip gene. *J Clin Microbiol* 36, 1560-1567.
- [65] Salloum, G., Meugnier, H., Reyrolle, M., Grimont, F., Grimont, P. A., Etienne, J. & Freney, J. (2002). Identification of *Legionella* species by ribotyping and other molecular methods. *Res Microbiol* 153, 679-686.
- [66] Ratzow, S., Gaia, V., Helbig, J. H., Fry, N. K. & Luck, P. C. (2007). Addition of neuA, the gene encoding N-acylneuraminate cytidylyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. *J Clin Microbiol* 45, 1965-1968.

- [67] Jacquemin, J. L., Simitzis-Le Flohic, A. M. & Chauveau, N. (1981). [Free-living Amoebae in fresh water. Study of the water supply of the town of Poitiers (France) (author's transl)]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 74, 521-524.
- [68] Lawande, R. V. (1983). Recovery of soil amoebae from the air during the harmattan in Zaria, Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol* 77, 45-49.
- [69] Rivera, F., Ramirez, E., Bonilla, P., Calderon, A., Gallegos, E., Rodriguez, S., Ortiz, R., Zaldivar, B., Ramirez, P. & Duran, A. (1993). Pathogenic and free-living amoebae isolated from swimming pools and physiotherapy tubs in Mexico. *Environ Res* 62, 43-52.
- [70] Vesaluoma, M., Kalso, S., Jokipii, L., Warhurst, D., Ponka, A. & Tervo, T. (1995). Microbiological quality in Finnish public swimming pools and whirlpools with special reference to free living amoebae: a risk factor for contact lens wearers? *Br J Ophthalmol* 79, 178-181.
- [71] Brown, C. M., Nuorti, P. J., Breiman, R. F., Hathcock, A. L., Fields, B. S., Lipman, H. B., Llewellyn, G. C., Hofmann, J. & Cetron, M. (1999). A community outbreak of Legionnaires' disease linked to hospital cooling towers: an epidemiological method to calculate dose of exposure. *Int J Epidemiol* 28, 353-359.
- [72] Garcia-Fulgueiras, A., Navarro, C., Fenoll, D., Garcia, J., Gonzalez-Diego, P., Jimenez- Bunuales, T., Rodriguez, M., Lopez, R., Pacheco, F., Ruiz, J., Segovia, M., Balandron, B. & Pelaz, C. (2003). Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. *Emerg Infect Dis* 9, 915-921

- [73] Kirrage, D., Reynolds, G., Smith, G. E. & Olowokure, B. (2007). Investigation of an outbreak of Legionnaires' disease: Hereford, UK 2003. *Respir Med* 101, 1639-1644.
- [74] Sabria, M., Alvarez, J., Dominguez, A., Pedrol, A., Sauca, G., Salleras, L., Lopez, A., Garcia-Nunez, M. A., Parron, I. & Barrufet, M. P. (2006). A community outbreak of Legionnaires' disease: evidence of a cooling tower as the source. *Clin Microbiol Infect* 12, 642-647.
- [75] Garcia-Nunez, M., Sopena, N., Ragull, S., Pedro-Botet, M. L., Morera, J. & Sabria, M. (2008). Persistence of Legionella in hospital water supplies and nosocomial Legionnaires' disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 52, 202-206.
- [76] Erdogan, H. & Arslan, H. (2007). Colonization of Legionella species in hotel water systems in Turkey. *J Travel Med* 14, 369-373.
- [77] Bornstein, N., Vieilly, C., Nowicki, M., Paucod, J. C. & Fleurette, J. (1986). Epidemiological evidence of legionellosis transmission through domestic hot water supply systems and possibilities of control. *Isr J Med Sci* 22, 655-661.
- [78] Foster, K., Gorton, R. & Waller, J. (2006). Outbreak of legionellosis associated with a spa pool, United Kingdom. *Euro Surveill* 11, E060921 060922.
- [79] Declerck, P., Behets, J., Margineanu, A., van Hoef, V., De Keersmaecker, B. & Ollevier, F. (2007b). Replication of Legionella pneumophila in biofilms of water distribution pipes. *Microbiol Res.*

- [80] Leclerc, H. (2006). Les Legionella : de l'environnement à la maladie chez l'homme. *European Journal of Water Quality* 37, 9-20.
- [81] Abu Kwaik, Y., Gao, L. Y., Stone, B. J., Venkataraman, C. & Harb, O. S. (1998b). Invasion of protozoa by Legionella pneumophila and its role in bacterial ecology and pathogenesis. *Appl Environ Microbiol* 64, 3127-3133.
- [82] Atlas, R. M. (1999). Legionella: from environmental habitats to disease pathology, detection and control. *Environ Microbiol* 1, 283-293.
- [83] Venkataraman, C., Haack, B.J., Bondada, S. & Abu Kwaik, Y. Identification of a Gal/GalNAc lectin in the protozoan Hartmannella vermiformis as a potential receptor for attachment and invasion by the Legionnaires' disease bacterium. *J Exp Med* 186, 537-547 (1997).
- [84] Venkataraman, C., Gao, L.Y., Bondada, S. & Kwaik, Y.A. Identification of putative cytoskeletal protein homologues in the protozoan host Hartmannella vermiformis as substrates for induced tyrosine phosphatase activity upon attachment to the Legionnaires' disease bacterium, Legionella pneumophila. *J Exp Med* 188, 505-514 (1998).
- [85] Horwitz, M.A. Phagocytosis of the Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) occurs by a novel mechanism: engulfment within a pseudopod coil. *Cell* 36, 27-33 (1984).

- [86] Cirillo, S.L., Lum, J. & Cirillo, J.D. Identification of novel loci involved in entry by *Legionella pneumophila*. *Microbiology* 146 (Pt 6), 1345-1359 (2000).
- [87] Abu Kwaik, Y. The phagosome containing *Legionella pneumophila* within the protozoan *Hartmannella vermiformis* is surrounded by the rough endoplasmic reticulum. *Appl Environ Microbiol* 62, 2022-2028 (1996).
- [88] Bozue, J.A. & Johnson, W. Interaction of *Legionella pneumophila* with *Acanthamoeba castellanii*: uptake by coiling phagocytosis and inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Infect Immun* 64, 668-673 (1996).
- [89] F. Ader. Physiopathologie de l'infection à *Legionella pneumophila*. Centre National de Référence des Légionelles, Lyon Laboratoire de Recherche en Pathologie Infectieuse, Lille. *DESC Maladies Infectieuses et Tropicales* 2006
- [90] control of communicable disease in man. an official report of the american public health association; legionellosis, edition 1990, ABRAM S. Benenson, Editor, p 512-515.
- [91] ERNEST CUTZ; PAUL S.THORNER; C. PANDU RAO and al. disseminated legionella pneumophila infection in an infant with severe combined immunodeficiency. *the journal of pediatrics*; may 1982, p 760-762.

- [92] CARETTE M.F; C.MAYAUD; E.DOURNON; A.BURE; S.HOUACINE; B.MORINIERE; J.F.SICARD et G.AKOUN. la maladie des legionnaires: 21 cas observés en 2 ans et demi dans une unité parisienne de soins intensifs respiratoires. *revue de pneumologie clinique*; 1985, 41,p 107-113.
- [93] JAEGER T.M.; ATKINSON P.P. and al.; Legionella bozemanii pneumonia in an immunocompromised patient. *mayo clin. proc.*; 1988,63(1), p72-76.
- [94] LANG R., WILLER Z.; MANOR J.; KAAZK R. and BOLDUR I.; Legionella longbeachae pneumonia in a patient splenectomized for hairy-cell leukemia. *Infection*; 1990, 18, p31-32.
- [95] ALLEN M.B.; RAY S.G.; LEITCH A.G. and McHARDY G.J; legionella pneumonia complicating Wegener's granulomatosis. *Chest*. 1988, 94(5), p 1101-1103.
- [96] ARTHUR L. REINGOLD. Role of legionellae in acute infections of the lower respiratory tract. *Reviews of infectious diseases*; 1988, 10(5), p 1018-1028.
- [97] AURIL J.L.; DABERNAT H.; DENIS F. et MONTEIL H.; Legionella. *Bacteriologie clinique*, edition Marketing, Ellipses, 1988, p 309-317.
- [98] BARBARA D.KIRBY, KIM N. SNIDER, RICHARD D. MEYER and SYDNEY M. FINEGOLD; Legionnaires 'disease: Report of sixty-five nosocomially aquired cases and review of the literature. *medecine*; 1980, 59(3), p 188-205.

- [99] BONNIE V. BOCK, BARBARA D. KIRBY, PAUL H. EDELSTEIN and al.; legionnaires' disease in renal-transplant recipients, *the Lancet*; february 25, 1978, p 410-413.
- [100] DIETER W. GUMP, ROBERT O. FRANK, WASHINGTON C. WINN, ROGER S. FOSTER; CLAIR V. BROOME and WILLIAM B. CHERRY, legionnaire's disease in patients with associated serious disease. *Annals of internal medicine*
- [101] FLEURETTE J. legionelloses. 1982. *encyclopedie medico-chirurgicale*; (paris) 8021 A10-4, 1982.p. 1-7.
- [102] FLEURETTE J. les legionella. *l'eurobiologiste*; 1990, tome 24(190), p 381-388.
- [103] GRIST N.R.; REID D. and NAJERA R.; legionnaire's disease and the traveller, *Annals of internal medicine*; 1979, 90, p 563-564.
- [104] JESS M. HOFFLIN and al.; Infectious complications in heart transplant recipient receiving cyclosporine and corticosteroids. *Annals of internal medicine*; 1987, 106, p 209-216.
- [105] PASSI C.; MADDALUNO R. and PASTORIS M.C.; Incidence of legionella pneumophila infection in tourists:Italy. *Public health* 1990, 104(3), p 183-188.
- [106] RUF.B, SCHURMANN D.; HORBACH I.; EHRENBACH F.J.; POHLE H.D.; Incidence and clinical features of community-acquired legionellosis in hospitalized patients. *Eur Respir J*; 1989, 2, p 257-262.

- [107] SENNEVILLE E.; CHIDIAC C.; SIVERY B. and MOUTON Y.; Les legionelloses un pour cent des pneumopathies de ville, quatre a quinze pour cent des pneumopathies hospitalisées. *La revue du praticien-médecine générale*; 17 sep 1990, 106, p 36-39.
- [108] WASHINGTON C. WINN JR. Legionnaire's disease; Historical perspective. *Clinical Microbiology Reviews*; 1988, 1(1), p 60-81.
- [109] MIRICH D.; GRAY R. and HYLAND R.; Legionella lung cavitation. *Can. Assoc. Radiol. J.*; 1990, 41(2), p 100-102.
- [110] ROIG J.; AGUILAR X.; RUIZ J. and al.; comparative study of Legionella pneumophila and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest*; 1991, 99(2), p 344-350.
- [111] FOTOS P.G.; WESTFALL H.N. and al.; prevalence of Legionella-specific IgG and IgM antibody in a dental clinic population. *J. dent. Res.*; 1985, 64(12), p 1382-1385.
- [112] REINTHALER F.F.; MASCHER F. and STUNZNER D.; Serological examinations for antibodies against Legionella species in dental personnel. *J. Dent. Res.*; 1988, 67(6), p 942-943.
- [113] ALICE FRIIS-MOLLER; CATHERINE RECHNITZER; FINN T. BLACK; MICHEAL T. COLLINS; KLAUS LIND and OLE AALUND; prevalence of legionnaires' disease in pneumopnia patients admitted to a danish departement of infectious diseases. *Scand. J. infect. dis.*; 1986, 18, p 321-328.

- [114] MACFARLANE J. T., M. WARD; R.G. FINCH and A.D. MACRAE. hospital study of adult community-acquired pneumonia. *The Lancet*; july 1982, p 255-258.
- [115] WOODHEAD M.A. and MACFARLANE J.T.; legionnaires' disease: a review of 79 community acquired cases in nottingham. *Thorax*; 1986, 41, p 635-640.
- [116] VICTOR L. YU; FRANJ J. KROBOTH; JHON SHONNARD; ARNOLD BROWN; SARA McDEARMAN; MARGARET MAGNUSSEN. legionnaires' disease: new clinical perspective from a prospective pneumonia study. Sep 1982, *The American Journal of medicine*; Vol. 73, p 357-361.
- [117] RICHARD D. MEYER, Legionnaires' disease, Aspects of nosocomial infection. *The American journal of medicine*; 1984, Vol. 76, p 657-663.
- [118] LEOPHONTE P.; LARIOS-RAMOS L. and ROUQUET R.M.; Pneumonies extrahospitalieres?. *La revue du praticien*. 1989, n°18, p 1570-1575.
- [119] OLIVIER PATEY, S.DELLION et B.HALIOUA, la maladie des légionnaires, *le concours médical*; Avr 1991, 113(13), p 1045-1051.
- [120] WOODHEAD M.A.; MACFARLANE J.T.; Mc CRACKEN J.S.; ROSE D.H. and FINCH R.G.; Prospective study of the etiology and outcome of pneumonia in the community. *The lancet*; March 21, 1987, p 671-674.

- [121] www.invs.sante.fr
- [122] JORGE ROIG;X.AGUILAR;J.RUIZ;and al. Comparative study of Legionella pneumophila and other nosocomial acquired pneumonias. *Chest*; 1991, 99, p 344-350.
- [123] FALC'O V.;FERNANDEZ DE SEVILLA T. and al.; Legionella pneumophila: a cause of severe community-acquired pneumonia. *Chest*; 1991, 100(4), p 1007-1011.
- [124] WOODHEAD M.A.; MACFARLANE J.T.; RODGERS F.F. and al.; etiology and outcome of severe community-acquired pneumonia. *Journal of infection*; 1985, 10, p 204-210.
- [125] RUF B.; SCHURMANN D.; and al.; the incidence of Legionella pneumonia: a 1 year prospective study in a large community hospital. *Lung*; 1989, 167(1), p 11-22.
- [126] oms| légionellose. aide mémoire n° 285.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs285/fr/>
- [127] PATRICK BERCHE; JEAN LOUIS GAILLARD et MICHEAL SIMONET; Legionella. *Bacteriologie, Medecine sciences*; Flammarion; 1988, chapitre 24.
- [128] VICTOR L. YU; Legionella pneumophila. *Principals and practice of infections diseases*. MANDEL, DOUGLAS, BENNETT. third edition; 1990, p 1764-1775.

- [129] DONOWITZ G.R.; REARDON I.; DOWLING J. and al.; Ingestion of legionella micdadei inhibits human neutrophil function. *infec. immun.*; 1990, 58(10), p 3307-3311.
- [130] RAJAGOPALAN P.; DOURNON E.; VILD'E J.L. and POCIDALO J.J.; Direct activation of human monocyte-derived macrophages by a bacterial glycoprotein extract inhibits the intracellular multiplication of virulent Legionella pneumophila serogroup 1. *infect. Immun.*; 1987, 55(9), p 2234-2239.
- [131] ELLIOTT J.A. and WINN W.C.; Treatment of alveolar macrophages with cytochalasin D inhibits uptake and subsequent growth of legionella pneumophila. *infect. immun.*; 1986, 51(1), p 31-36.
- [132] KING C.H.; FIELDS B.S. and al.; Effects of cytochalasin D and methylamine on intracellular growth of Legionella pneumophila in amoeba and human monocyte-like cells. *infec. immun.*; 1991, 59(3), p 758-763.
- [133] De Buck, E., Anne, J. & Lammertyn, E. (2007). The role of protein secretion systems in the virulence of the intracellular pathogen Legionella pneumophila. *Microbiology* 153, 3948- 3953.
- [134] Abu-Zant, A., Santic, M., Molmeret, M., Jones, S., Helbig, J. & Abu Kwaik, Y. (2005). Incomplete activation of macrophage apoptosis during intracellular replication of Legionella pneumophila. *Infect Immun* 73, 5339-5349.

- [135] PETER A. WARD; immunology and immunopathology of legionnaires' disease. *Annals of internal medicine*, 1979, 90, p 506-508.
- [136] NIKAIDO Y.; YOSHIDA S. and al.; Macrophage-activating T-cell factor(s) produced in an early phase of Legionella pneumophila infection in guinea pigs. *infect. immun*; 1989, 57(11), p 3458-3465.
- [137] BREIMAN R.F. and HORWITZ M.A.; Guinea pigs sublethally infected with aerosolized Legionella pneumophila develop humoral and cell-mediated immune response and are protected against lethal aerosol challenge. A model for studying host defences against lung infections caused by intracellular pathogens. *J. Exp. Med.*; 1987, 165(3), p 799-811.
- [138] FRIEDMAN H.; KLEIN T.W.; WIDEN R. and al.; Legionella pneumophila immunity and immunomodulation: nature and mechanisms. *Adv. Exp. Med. Biol.*; 1988, 239, p327-341.
- [139] SAMPSON J.S.; PLIKAYTIS B.B. and al.; Immunologic characterization and specificity of three monoclonal antibodies against the 58-kilodalton protein of Legionella pneumophila. *Journal of Clinical Microbiology*; 1991, 29(4), p 836-841.
- [140] PAYNE N.R.; and HORWITZ M.A.; Phagocytosis of Legionella pneumophila is mediated by human monocyte complement receptors. *J. Exp. Med.*; 1987, 166(5), p1377-1389.

- [141] SUMMERSGILL J.T.; RAFF M.J. and MILLER R.D.; Interaction of virulent and avirulent *Legionella pneumophila* with human monocytes. *J. Leukoc. Biol.*; 1990, 47(1), p 37-38.
- [142] MINTZ C.S.; SCHULTZ D.R.; ARNOLD P.I. and JOHNSON W.; *Legionella pneumophila* lipopolysaccharide activates the classical complement pathway. *Infect. Immun.*; 1992, 60(7), p 2769-2776.
- [143] FRIEDMAN H.; NEWTON C.; BLANCHARD D.K. and al.; Immunogenicity and adjuvanticity of lipopolysaccharide from *Legionella pneumophila*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*; 1987, 184(2), p 191-196.
- [144] BLANCHARD D.K.; FRIEDMAN H.; KLEIN T.W. and DJEU J.Y.; Introduction of interferon-gamma and tumor necrosis factor by *legionella pneumophila*: augmentation of human neutrophil bactericidal activity. *J. Leukoc. Biol.*; 1989, 45(6), p 538-545.
- [145] BHARDWAJ N.; NASH T.W. and HORWITZ M.A.; Interferon-gamma-activated human monocytes inhibit the intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*; *J. Immunol.*; 1986, 137(8), p 2662-2669.
- [146] NASH T.W.; LIBBY D.M. and HORWITZ M.A.; IFN-gamma-activated human alveolar macrophages inhibit the intracellular multiplication of *legionella pneumophila*. *J. Immunol.*; 1988, 140(11), p 3978-3981.

- [147] KLEIN T.W.; YAMAMOTO Y.; BROWN H.K. and FRIEDMAN H.; IFN-gamma induced resistance to legionella pneumophila in susceptible A/j mouse macrophage. *J. Leukoc. Biol.*; 1991, 49(1), p 98-103.
- [148] YAMAMOTO Y.; KLEIN T.W.; NEWTON C.A. and al.; Differential growth of Legionella pneumophila in Guinea pig versus mouse macrophage cultures. *Infect. immun.*; 1987, 55(6), p 1369-1374.
- [149] YAMAMOTO Y.; KLEIN T.W.; NEWTON C. and FRIEDMEN H.; Differing macrophage and Lymphocyte roles in resistance to Legionella pneumophila infection. *J. immunol.*; 1992, 148(2), p 584-589.
- [150] BLANCHARD D.K.; FRIEDMAN H. and al.; Role of gamma IFN in induction of natural killer activity by Legionella pneumophila in vitro in an experimental murine infection model? *Infect. Immun.*; 1988, 56(5), 187-1193.
- [151] BLANCHARD D.K.; STEWART W.E. and al.; Cytolytic activity of human peripheral blood leucocytes against Legionella pneumophila-infected monocytes: characterization of the effector cell and augmentation by interleukine 2; *J. Immunol.*; 1987, 139(2), p 551-556.
- [152] VAN ZWET T.L.; MEENTHORST P.L.; LEIJH P.C.J. and al.; characteristics of anti-bodies in patients infected with Legionella pneumophila serogroups 1,6 and 10. *Journal of clinical microbiology*; 1988, 26(11), p 2377-2381.

- [153] BLANDER S.J. and HORWITZ M.A.; Vaccination with legionella pneumophila membranes induces cell-mediated and protective immunity in a Guinea pig model of Legionnaires' disease. Protective immunity independent of the major secretory protein of Legionella pneumophila. *J. Clin. Invest.*; 1991, 87(3), p 1054-1059.
- [154] BLANDER S.J.; SZETO L. and al.; An immunoprotective molecule, the major secretory protein of legionelle pneumophila, is not a virulence factor in a Guinea pig model of legionnaires' disease. *J. Clin. Invest.*; 1990, 86(3), p 817-824.
- [155] BLANCHARD D.K.; DJEU J.Y.; KLEIN T.W. and al.; protective effects of tumor necrosis factor in experimental legionella pneumophila infections of mice via activation of polymorphonuclear leukocyte function. *J. Leukoc. Biol.*; 1988, 43(5), p429-435.
- [156] BLANCHARD D.K.; DJEU J.Y.; KLEIN T.W. and al.; induction of tumor necrosis factor by Legionella pneumophila. *Infect. Immun.*; 1987, 55(2), p433-437.
- [157] WASHINGTON C. WINN; FREDERICK L.G. and al.; Macroscopic pathology of the lungs in legionnaires' disease. *Annals of internal medicine*; 979, 90, p 548-551.
- [158] FRENKEL J.K.; LARRY H. BAKER and ARNOLD M. CHONKO. autopsy diagnosis of legionnaires's disease in immunosuppressed patients. *Annals of internal medicine*. 1979, 90, p 559-562.

- [159] MGHABBAR GHIZLANE; *THESE doctorat en medecine* n°176/1986; la maladie des legionnaires; Faculté de medecine de casablanca.
- [160] Boshuizen HC, Neppelenbroek SE, van Vliet H, Schellekens JF, den Boer JW, Peeters MF, et al. Subclinical Legionella infection in workers near the source of a large outbreak of legionnaires disease. *J Infect Dis* 2001;184:515e8.
- [161] THEAKER J.M.; TOBIN J.D.; JONES S.E. and al.; Immunohistological detection of Legionella pneumophila in lung sections. *J. Clin. Pathol.*; 1987, 40(2), p143-146.
- [162] LEMOIGNE F.; BLAIVE B.; CHABERT J.M. et BOCQUET J.P.; A propos de deux pneumopathies graves a legionella pneumophila au C.H.R. de nice. *Poumon-coeur*; 1982, 38, p 189-195.
- [163] THEODORE F. TSAI; M.D; DAVID R.FINN; M.D.; BRIAN D. PLIKAYTIS; M.Sc. & DAVID W.FRASER; M.D.; 1979. Legionnaires' disease: clinical features of the epidemic in Philadelphia. *Annals of internal medicine*; 90, p 509-517.
- [164] CHRISTIAN DOMINGO, JORGE ROIG, FRANCESC PLANAS, JORDI BECHINI, MONTSERRAT TENESA ans JOSEP MORERA; Radiographic appearance os nosocomial legionnaires'disease after erythromycin treatment. *Thorax*; 1991, 46, p 663-666.
- [165] DELACOUR J.L., A.NOIROT, C.FLORIOT et al. les formes neurologiques graves de la maladie des legionnaires. *Est medecine*; Jan Fev 992, tome 12, n°181-182, p 26-30.

- [166] ELLEN J. MANJIONE; ROBERT S.REMIS; KEITH A. TAIT and al.; An outbreak of Pontiac fever related to whirlpool use, michigan 1982. *JAMA*; Jan 25, 1985, 253(4), p535-539.
- [167] ROTILY M. and POTELON J.L.; Morbidité liée aux bains a remous. *Le concours médical*; 1992, 114(3), p203-206.
- [168] FLOURNOY D.J.; GUTHRIE P.J. and al.; incidence of legionella pneumophila infections among Oklahoma pulmonary disease patients. *J. Natl. Med. Assoc.*; 1990, 82(1), p25-29.
- [169] GARY L. LATTIMER, LUTHER V. RHODES, JOHN S. SALVENTI and al. The Philadelphia epidemic of legionnaires'disease: Clinical, pulmonary and serologic findings two years later. *Annals of Internal medicine*; 1979, 90, p 522-526.
- [170] MAMANE M.; KASPARIAN P.; BABO P. et ACCARD J.L.; Maladie des legionnaires avec sequelles pulmonaires tardives. *Poumon-coeur*; 1983; 39, p 305-308.
- [171] PARENTI C.M.; RICHARDS S.W. and al.; Long-term pulmonary sequelae after Legionella pneumophila in the Hamster. *American Review of respiratory diseases*; 1989, 139(4), p 988-995.
- [172] SAAL J.P.; Oedeme aigu du poumon, physiopathologie, diagnostic et principe du traitement. *La revue du praticien*; 1991, 20, p 1967-1974.

- [173] JOHN N. DOWLING; FRANCK J. KROBOTH; MICHEAL KARP; ROBERT B. YEE and A. WILLIAM PASCULLE. Pneumonia and multiple lung abscesses caused by dual infection with Legionella micdadei and Legionella pneumophila. *American Review of Respiratory diseases*; 1983, 127, p 121-125.
- [174] HALBERSTAM M.; ISENBERG H.D. and HILTON E.; Abscess and empyema caused by Legionella micdadei. *Journal of Clinical Microbiology*; 1992, 30(2), p512-513.
- [175] MYLES E.GOMBERT; ADELE JOSEPHSON; ELLIE GOLDSTEIN; PETER SMITH, and KHALID BUTT. Cavity legionnaires' pneumonia: nosocomial infection in renal transplant recipients. *The American Journal of Surgery*; March 1984, vol. 147 p 402-405.
- [176] HUARINGA A.J.; PATEL Y. and SARUBI F.; Legionnaires'disease: an overwhelming pneumonia and something else. The 1991 international conference, May 12-15, Anaheim, California, American Lung Association, *The american review of respiratory diseases*; April 1991, 143(4), p 1495.
- [177] CASTERBROOK P.J. and SMYTH E.G.; Post-infectious encephalomyelitis associated with mycoplasma pneumoniae and Legionella pneumophila infection. *Postgrad. Med. J.*; 1992, 68(796), p 124-128.

- [178] PLATZECK C.; FORESTER E.C. and al.; Encephalitis in Legionella bozemanii pneumonia. *Dtsch. Med. Wochenschr*; 1990, 115(51-52), p1956-1959.
- [179] HARVEY M. FRIEDMAN. Legionnaires'disease in non legionnaires. A report of five cases. *Annals of internal medicine*; 1978, 88, p 294-302.
- [180] HEATH P.D.; BOOTH L.; LEIGH P.N. and TURNER A.M.; Legionella brain stem encephalopathy and peripheral neuropathy without preceding pneumonia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*; 1986, 49(2), p 216-218.
- [181] JOHN T. MACFARLANE; MIKE J. WARD; JOHN MAWHEW; Creatine kinase and confusion in pneumonia. *The Lancet*; november 27, 1982, p 1221.
- [182] WARNER C.L.; FAYAD P.B and HEFFNER R.R.; Legionella myositis. *Neurology*; 1991, 41(5), p 750-752.
- [183] DE TRUCHIS P., E.DOURNON, E. GLUKMAN, J.L. TOUBOUL, C. MAYAUD ET G. AKOUN; Maladie des legionnaires avec pancytopenie et isolement de legionelles par hemoculture et culture de moelle osseuse. *La Presse Medicale*; 9-16 Jan 1988, 17(1), p 34-35.
- [184] SVENDSEN J.H.; JOHNSON V. and NIEBUHR U.; Combined pericarditis and pneumonia caused by Legionella infection. *Br. Heart. J.*; 1987, 58(6), p 663-664.

- [185] LITTRUP P.; MADSEN J.K. and LIND K.; Aortic valve endocarditis associated with Legionella infection after Mycoplasma pneumonia. *Br. Heart. J.*; 1987, 58(3), p 293-295.
- [186] TOMPKINS L.S.; ROESSLER B.J. and al.; Legionella prosthetic-valve endocarditis. *New England Journal of medicine*; 1988, 318(9), p 530-535.
- [187] MIRAGLIOTTA G. and FUMAROLA D.; production of procoagulant activity, tissue factor-like, by human mononuclear cells and its role in the pathogenesis of Legionella prosthetic valve endocarditis. *Med. Hypotheses*; 1989, 30(2), p 73-74.
- [188] TOKUNAGA Y.; CONCEPCION W. and al.; Graft involvement by Legionella in a liver transplant recipient. *Arch. Surg.*; 1992, 127(4), p 475-477.
- [189] KILBORN J.A.; MANZ L.A. and al.; Necrotizing cellulitis caused by Legionella micdadei. *Am. J. Med.*; 1992, 92(1), p 104-106.
- [190] NOMURA S.; HATTA K.; IWATA T. and AIHARA M.; Legionella pneumophila isolated in pure cultures from the ascites of a patient with systemic lupus erythematosus; *Am. J. Med.*; 1989, 86(6 Pt 2), p 833-834.
- [191] WESTBLOM T.U. and HAMORY B.H.; Acute pancreatitis caused by Legionella pneumophila. *South Med. J.*; 1988, 81(9), p1200-1201.

- [192] SCHMIDT T.; PFEIFFER A. and al.; Legionella infection of the colon presenting as acute attack of ulcerative colitis. *Gastroenterology*; 1989, 97(3), p 751-755.
- [193] ARNOOTS P.J.; RAMAEL M.R. and al.; Legionella pneumophila peritonitis in a kidney transplant patient. *Scand. J. Infect. Dis.*; 1991, 23(1), p 119-122.
- [194] Berdal BP, Farshy CE, Feely JC. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J Clin Microbiol* 1979;9:575-8.
- [195] Kohler RB, Winn WC, Wheat LJ. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 1984;20:605-7.
- [196] Kohler RB, Zimmerman SE, Wilson E, Allen SD, Edelstein PH, Wheat LJ, et al. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' disease: detection and partial characterization of urinary antigen. *Ann Intern Med* 1981;94:601-5.
- [197] Williams A, Lever MS. Characterisation of Legionella pneumophila antigen in urine of guinea pigs and humans with Legionnaires' disease. *J Infect* 1995;30:13-6.
- [198] Joseph JA. European Working Group for Legionella Infections. Legionnaires' disease in Europe 2000-2002. *Epidemiol Infect* 2004;132:417-24.

- [199] Formica N, Yates M, Beers M, Carnie J, Hogg G, Ryan N, et al. The impact of diagnosis by legionella urinary antigen test on the epidemiology and outcomes of legionnaires' disease. *Epidemiol Infect* 2001;127:275-80.
- [200] Wever PC, Notermans DW, Tulevski II, Schattenkerk JK, de Jong MD. Detection of Legionella pneumophila serogroup 1 antigen in bronchoalveolar lavage fluid by an immunochromatographic assay. *J Clin Microbiol* 2003;41:2265.
- [201] Joseph CA, Ricketts KD. Legionnaires' Disease in Europe 1995-2004: a ten year review. In: Cianciotto NP, Kwaik Y, Edelstein PS, Fields BS, Geary DF, Harrison TG, et al., editors. Legionella: state of the art 30 years after its recognition. Washington, D.C.: *American Society for Microbiology*; 2006. p. 89-93.
- [202] Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002;15: 506-26.
- [203] Leland DS, Kohler RB. Evaluation of the L-CLONE Legionella pneumophila Serogroup 1 Urine Antigen Latex Test. *J Clin Microbiol* 1991;29:2220-3.
- [204] Helbig JH, Uldum SA, Bernander S, Luck PC, Wewalka G, Abraham B, et al. Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 2003;41:838-40.

- [205] Edelstein PH. Urinary antigen detection for Legionella spp. In: Isenberg HD, editor. *Clinical microbiology procedures manual*. 2nd ed. Washington: ASM Press; 2004. p. 11.4.1-6.
- [206] Harrison T, Uldum S, Alexiou-Daniel S, Bangsberg J, Bernander S, Drasbrevear V, et al. A multicenter evaluation of the Biotest Legionella urinary antigen EIA. *Clin Microbiol Infect* 1998;4:359-65.
- [207] Domínguez J, Gali N, Blanco S, Pedroso P, Prat C, Matas L, et al. Assessment of a new test to detect Legionella urinary antigen for the diagnosis of Legionnaires' disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;41:199-203.
- [208] Yzerman EP, den Boer JW, Lettinga KD, Schellekens J, Dankert J, Peeters M. Sensitivity of three urinary antigen tests associated with clinical severity in a large outbreak of Legionnaires' disease in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 2002;40: 3232-6.
- [209] Diederer BM, Peeters MF. Evaluation of two new immunochromatographic assays (Rapid U Legionella Antigen Test and SD Bioline Legionella Antigen Test) for the detection of Legionella pneumophila serogroup 1 antigen in urine. *J Clin Microbiol* 2006;44:2991-3.
- [210] Diederer BM, Peeters MF. Evaluation of the SAS Legionella Test, a new immunochromatographic assay for the detection of Legionella pneumophila serogroup 1 antigen in urine. *Clin Microbiol Inf* 2007;13:86-8.

- [211] den Boer JW, Yzerman EP. Diagnosis of Legionella infection in Legionnaires' disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23: 871-8.
- [212] Lee TC, Vickers RM, Yu VL, Wagener MM. Growth of 28 Legionella species on selective culture media: a comparative study. *J Clin Microbiol* 1993;31:2764-8.
- [213] Ratcliff RM, Lanser JA, Manning PA, Heuzenroeder MW. Sequence-based classification scheme for the genus Legionella targeting the mip gene. *J Clin Microbiol* 1998;36: 1560-7.
- [214] Murdoch DR, Light GJ, Jennings LC, Chambers ST. Sequencebased classification scheme for the genus Legionella targeting the 5S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 1991;37:281.
- [215] Wilson DA, Reischl U, Hall GS, Procop GW. Use of partial 16S rRNA gene sequencing for identification of Legionella pneumophila and non-pneumophila Legionella spp. *J Clin Microbiol* 2007;45:257-8.
- [216] Murdoch DR. Diagnosis of Legionella infection. *Clin Infect Dis* 2003;36:64-9.
- [217] Sopena N, Sabria`-Leal M, Pedro-Botet ML, Padilla E, Dominguez J, Morera J, et al. Comparative study of the clinical presentation of Legionella pneumonia and other community- acquired pneumonias. *Chest* 1998;113:1195-200.

- [218] Tsai TF, Finn DR, Plikaytis BD, McCaule W, Martin SM, Fraser DW. Legionnaires' disease: clinical features of the epidemic in Philadelphia. *Ann Intern Med* 1979;90:509-17.
- [219] Ingram JG, Plouffe JF. Danger of sputum purulence screens in culture of Legionella species. *J Clin Microbiol* 1994;32: 209-10.
- [220] Harrison TG, Taylor AG. The diagnosis of Legionnaires' disease by estimation of antibody levels. In: Harrison TG, Taylor AG, editors. *A laboratory manual for Legionella*. Chichester, England: John Wiley and Sons, Ltd; 1988. p. 13-35.
- [221] Malan AK, Martins TB, Jaskowski TD, Hill HR, Litwin CM. Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays with an immunofluorescence assay for detection of Legionella pneumophila types 1 to 6. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3060-3.
- [222] Boshuizen HC, Den Boer JW, de Melker H, Schellekens JF, Peeters MF, van Vliet JA, et al. Reference values for the SERION classic ELISA for detecting Legionella pneumophila antibodies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:706-8.
- [223] Wreghitt TG, Nagington J, Gray J. An ELISA test for the detection of antibodies to Legionella pneumophila. *J Clin Pathol* 1982;35:657-60.
- [224] Monforte R, Estruch R, Vidal J, Cervera R, Urbano-Marquez A. Delayed seroconversion in Legionnaires' disease. *Lancet* 1988; 2:513.

- [225] Plouffe JF, File TM, Breiman RF, Hackman BA, Salstrom SJ, Marston BJ, et al. Reevaluation of the definition of Legionnaires' disease: use of the urinary antigen assay. *Clin Infect Dis* 1995;20:1286-91.
- [226] Wilkinson HW, Cruce DD, Broome CV. Validation of Legionella pneumophila indirect immunofluorescence assay with epidemic sera. *J Clin Microbiol* 1981;13:139-46.
- [227] Doebbeling BN, Bale MJ, Koontz FP, Helms CM, Wenzel RP, Pfaller MA. Prospective evaluation of the Gen-Probe assay for detection of legionellae in respiratory specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:748-52.
- [228] Pasculle AW, Veto GE, Krystofiak S, McKelvey K, Vrsalovic K. Laboratory and clinical evaluation of a commercial DNA probe for the detection of Legionella spp. *J Clin Microbiol* 1988;27: 2350-8.
- [229] Wilkinson HW, Sampson JS, Plikaytis BB. Evaluation of a commercial gene probe for identification of Legionella cultures. *J Clin Microbiol* 1986;23:217-20.
- [230] Laussucq S, Schuster D, Alexander WJ, Thacker WL, Wilkinson HW, Spika JS. False-positive DNA probe test for Legionella species associated with a cluster of respiratory illnesses. *J Clin Microbiol* 1988;26:1442-4.

- [231] Ginevra C, Barranger C, Ros A, Mory O, Stephan JL, Freymuth F, et al. Development and evaluation of Chlamyge, a new commercial test allowing simultaneous detection and identification of Legionella, Chlamydophila pneumoniae, and Mycoplasma pneumoniae in clinical respiratory specimens by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2005;43:3247-54.
- [232] Jonas D, Rosenbaum A, Weyrich S, Bhakdi S. Enzyme-linked immunoassay for detection of PCR-amplified DNA of legionellae in bronchoalveolar fluid. *J Clin Microbiol* 1995;33: 1247-52.
- [233] Reischl U, Linde HJ, Lehn N, Landt O, Barratt K, Wellinghausen N. Direct detection and differentiation of Legionella spp. and Legionella pneumophila in clinical specimens by dual-color real-time PCR and melting curve analysis. *J Clin Microbiol* 2002;40:3814-7.
- [234] Rantakokko-Jalava K, Jalava J. Development of conventional and real-time PCR assays for detection of Legionella DNA in respiratory specimens. *J Clin Microbiol* 2001;39: 2904-10.
- [235] Wellinghausen N, Frost C, Marre R. Detection of legionellae in hospital water samples by quantitative real-time LightCycler PCR. *Appl Environ Microbiol* 2001;67:3985-93.
- [236] Stolhaug A, Bergh K. Identification and differentiation of Legionella pneumophila and Legionella spp. with realtime PCR targeting the 16S rRNA gene and species identification by mip sequencing. *Appl Environ Microbiol* 2006;72: 6394-8.

- [237] van der Zee A, Verbakel H, de Jong C, Pot R, Bergmans A, Peeters M, et al. Novel PCR-probe assay for detection of and discrimination between *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2002;40:1124-5.
- [238] Cloud JL, Carroll KC, Pixton P, Erali M, Hillyard DR. Detection of *Legionella* species in respiratory specimens using PCR with sequencing confirmation. *J Clin Microbiol* 2000;38:1709-12.
- [239] Templeton KE, Scheltinga SA, Sillekens P, Crielaard JW, van Dam AP, Goossens H, et al. Development and clinical evaluation of an internally controlled, single-tube multiplex realtime PCR assay for detection of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *J Clin Microbiol* 2003;41:4016-21.
- [240] Herpers B, de Jongh BM, van der Zwaluw K, van Hannen EJ. Real-time PCR assay targets the 23S-5S spacer for direct detection and differentiation of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 2003;41:4815-6.
- [241] Murdoch DR, Walford EJ, Jennings LC, Light GJ, Schousboe MI, Cheresky AY, et al. Use of the polymerase chain reaction to detect *Legionella* DNA in urine and serum samples from patients with pneumonia. *Clin Infect Dis* 1996;23:475-80.

- [242] Kessler HH, Reinthaler FF, Pschaid A, Pierer K, Kleinhappl B, Eber E, et al. Rapid detection of Legionella species in bronchoalveolar lavage fluids with the EnviroAmp Legionella PCR amplification and detection kit. *J Clin Microbiol* 1993;31: 3325-8.
- [243] Koide M, Saito A. Diagnosis of Legionella pneumophila infection by polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1995;21: 199-201.
- [244] Lindsay DS, Abraham WH, Fallon RJ. Detection of mip gene by PCR for diagnosis of Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 1994;32:3068-9.
- [245] Wilson DA, Yen-Lieberman B, Reischl U, Gordon SM, Procop GW. Detection of Legionella pneumophila by realtime PCR for the mip gene. *J Clin Microbiol* 2003;41:3327-30.
- [246] Jaulhac B, Nowicki M, Bornstein N, Meunier O, Prevost G, Piemont Y, et al. Detection of Legionella spp. in bronchoalveolar lavage fluids by DNA amplification. *J Clin Microbiol* 1992;30:920-4.
- [247] Diederer BM, de Jong CM, Marmouk F, Kluytmans JA, Peeters MF, van der Zee A. Evaluation of real-time PCR for the early detection of Legionella pneumophila DNA in serum samples. *J Med Microbiol* 2007;56:94-101.
- [248] Diederer BM, Bruin JP, den Boer JW, Peeters MF, Yzerman EP. Sensitivity of Legionella pneumophila DNA detection in serum samples in relation to disease severity. *J Med Microbiol* 2007; 56:1255.

- [249] Helbig JH, Engelsta dter T, Maiwald M, Uldum SA, Witzleb W, Lu ck PC. Diagnostic relevance of the detection of Legionella DNA in urine samples by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:716-22.
- [250] Mendonca R, Wallace P, NacKay WG, Rottiers S, Crevecoeur S, Maes N, et al. External quality assessment for the detection of Legionella pneumophila by nucleic acid amplification technology (NAAT)- A European pilot program. In: *Programme and abstract book 21st meeting of the European Working Group for Legionella infections*, Lisbon, p. 54.
- [251] Bergogne-B rezin E. In: Bryskier, editor. Macrolides. Arnette Blackwell, 1993.
- [252] Edelstein PH. Chemotherapy of Legionnaires' disease with macrolide or quinolone antimicrobial agents. In: Marre R, editor. Legionella. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 183-8.
- [253] Sabri  M, Pedro-Botet ML, G mez J, Roig J, Vilaseca B, Sopena N, et al. Fluoroquinolones versus macrolides in the treatment of Legionnaires'. *Dis Chest* 2005;128:1401-5.
- [254] Bl zquez RM, Espinosa FJ, Alemany L, Ramos RM, S nchez-Nieto JM, Segovia M, et al. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires' disease: levofloxacin versus macrolides. *Clin Infect Dis* 2005;40:800-6.

- [255] Mykietiuk A, Carratalà J, Fernández-Sabe N, Dorca J, Verdaguer R, Manresa F, et al. Clinical outcomes for hospitalized patients with Legionella pneumonia in the antigenuria era: the influence of levofloxacin therapy. *Clin Infect Dis* 2005;40:794–9.
- [256] Kraus CN, Zalkikar J, Powers JH. Levofloxacin and macrolides for treatment of Legionnaires' disease. Multiple comparisons give few answers. *Clin Infect Dis* 2005;41:416.
- [257] Davis GS, Winn Jr. WC, Beaty HN. Legionnaires' disease. Infections caused by Legionella pneumophila and Legionella-like organisms. *Clin Chest Med* 1981;2:145–66.
- [258] Howden BP, Stuart RL, Tallis G, Bailey M, Johnson PD. Treatment and outcome of 104 hospitalized patients with Legionnaires' disease. *Intern Med J* 2003;33:484–8.
- [259] Roig J, Carreres A, Domingo C. Treatment of Legionnaires' disease. *Drugs* 1993;46:63–79.
- [260] Amsden GW. Treatment of Legionnaires' disease. *Drugs* 2005;65:605–14.
- [261] Benhamou D, Bru JP, Chidiac C, Étienne J, Léophonte P, Marty N, et al. Legionnaires' disease: definition, diagnosis and treatment. *Med Mal Infect* 2005;35:1–5.

- [262] Sanchez F, Mensa J, Martinez JA, Garcia E, Marco F, Gonzalez J, et al. Is azithromycin the first-choice macrolide for treatment of communityacquired pneumonia? *Clin Infect Dis* 2003;36:1239–45.
- [263] Plouffe JF, Breiman RF, Fields BS, Herbert M, Inverso J, Knirsch C, et al. Azithromycin in the treatment of Legionella pneumonia requiring hospitalization. *Clin Infect Dis* 2003;37:1475–80.
- [264] Baltch AL, Bopp LH, Smith RP, Michelsen PB, Ritz WJ. Antibacterial activities of gemifloxacin, levofloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin and erythromycin against intracellular Legionella pneumophila and Legionella micdadei in human monocytes. *J Antimicrob Chemother* 2005;56: 104–9.
- [265] Tano E, Cars O, Lowdin E. Pharmacodynamic studies of moxifloxacin and erythromycin against intracellular Legionella pneumophila in a vitro kinetic model. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:240–2.
- [266] Edelstein PH, Shinzato T, Doyle E, Edelstein MA. In vitro activity of gemifloxacin (SB-265805, LB2034a) against Legionella pneumophila and its pharmacokinetics in guinea pigs with L. pneumophila pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2204–9.
- [267] Higa F, Akamine M, Haranaga S, Tohyama M, Shinzato T, Teteyama M, et al. In vitro activity of pazufloxacin, tosufloxacin and other quinolones against Legionella species. *J Antimicrob Chemother* 2005.

- [268] Yu VL, Greenberg RN, Zadeikis N, Stout JE, Khashab MM, Olson WH, et al. Levofloxacin efficacy in the treatment of community-acquired legionellosis. *Chest* 2004;125:2135–9.
- [269] Santos J, Aguilar L, Garcia-Mendez E, Siquier B, Custardoy J, Garcia-Rey C, et al. Clinical characteristics and response to newer quinolones in Legionella pneumonia: a report of 28 cases. *J Chemother* 2003;15:461–5.
- [270] Edelstein PH, Calarco K, Yasui VK. Antimicrobial therapy of experimentally induced Legionnaires' disease in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:849–56.
- [271] Gibson DH, Fitzgeorge RB, Baskerville A. Antibiotic therapy of experimental airborne Legionnaires' disease. *J Infect* 1983;7:210–7.
- [272] Liebers DM, Baltch AL, Smith RP, Hammer MC, Conroy JV. Susceptibility of Legionella pneumophila to eight antimicrobial agents including four macrolides under different assay conditions. *J Antimicrob Chemother* 1989;23:37–41.
- [273] Barker JE, Farrell ID. The effects of single and combined antibiotics on the growth of Legionella pneumophila using time-kill studies. *J Antimicrob Chemother* 1990;26:45–53.
- [274] Moffie BG, Mouton RP. Sensitivity and resistance of Legionella pneumophila to some antibiotics and combinations of antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1988;22:457–62.

- [275] Rudin JE, Evans TL, Wing EJ. Failure of erythromycin in treatment of Legionella micdadei pneumonia. *Am J Med* 1984;76:318–20.
- [276] Stout JE, Sens K, Mietzner S, Obman A, Yu VL. Comparative activity of quinolones, macrolides and ketolides against Legionella species using in vitro broth dilution and intracellular susceptibility testing. *Int J Antimicrob Agents* 2005;25:302–7.
- [277] Carbon C, Nusrat R. Efficacy of telithromycin in community-acquired pneumonia caused by Legionella pneumophilla. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:650–2.
- [278] Tremolieres F, Mayaud C, Mouton Y, Weber P, Dellatolas F, Caulin E, et al. Efficacy and safety of pristinamycin versus amoxicillin in community acquired pneumonia in adults. *Pathol Biol (Paris)* 2005;53:503–10.
- [279] Edelstein PH, Hu B, Edelstein MA. In vitro and intracellular activities of LBM415 (NVP PDF-713) against Legionella pneumophila. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:2533–5.
- [280] Edelstein PH. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaires disease: time for a change. *Ann Intern Med* 1998;129:328–30.
- [281] Roig J, Rello J. Legionnaires' disease: a rational approach to therapy. *JAC* 2003;51:1119–29.

- [282] Roig J, Rello J. Treatment of Legionnaires' disease. In: Cianciotto NP, editor. *Legionella: State of the Art 30 Years after its Recognition*. Washington, DC: ASM Press; 2006 [in press].
- [283] Chidiac C, Maulin L. Legionella pneumophila pneumonia: clinical and therapeutic aspects. *Med Mal Infect* 2003;33:549–53.
- [284] Dunbar LM, Khashab MM, Kahn JB, Zadeikis N, Xiang JX, Tennenberg AM. Efficacy of 750-mg, 5-day levofloxacin in the treatment of community-acquired pneumonia caused by atypical pathogens. *Curr Med Res Opin* 2004;20(4):555–63.
- [285] Reilly KM, Urban MA, Barreiro T, Betts RF, Trawick DR. Persistent culture-positive Legionella infection in an immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 2005;40:e87–e89.
- [286] Gacouin A, Le Tulzo Y, Lavoue S, Camus C, Hoff J, Bassen R, et al. Severe pneumonia due to Legionella pneumophila: prognostic factors, impact of delayed appropriate antimicrobial therapy. *Intensive Care Med* 2002;28:686–91.
- [287] Bodi M, Rodriguez A, Solé-Violan J, Gilavert MC, Garnacho J, Blanquer J, et al. Antibiotic prescription for community-acquired pneumonia in the Intensive Care Unit. Impact of adherence to IDSA guidelines and outcome. *Clin Infect Dis* 2005;41:1709–16.
- [288] Hubbard RB, Mathur RM, MacFarlane JT. Severe community acquired Legionella pneumonia: treatment, complications and outcome. *Q J Med* 1993;86:327–32.

- [289] Gibson DH, Fitzgeorge RB, Baskerville A. Antibiotic therapy of experimental airborne Legionnaires' disease. *J Infect* 1983;7:210–7.
- [290] Martin SJ, Pendland SL, Chen C, Schreckenberger P, Danzinger LH. In vitro synergy of macrolide-quinolone combinations against 41 clinical isolates of Legionella. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1419–21.
- [291] Havlichek D, Pohlod D, Saravolatz L. Comparison of ciprofloxacin and rifampicin in experimental Legionella pneumophila pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 1987;20:875–81.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.
- Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.
- Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.
- Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.
- Les médecins seront mes frères.
- Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.
- Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.
- Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.
- Je m'y engage librement et sur mon honneur.

قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- أنا أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
- وأنا أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
- وأنا أمارس مهنتي بواجب من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي في الأول .
- وأنا لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
- وأنا أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
- وأنا أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
- وأنا أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
- وأنا أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
- وأنا لا أستعمل معلوماتي الطبية بطرق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
- بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في .

والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس - السويسي
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 190

سنة : 2013

إتجاد أكانتوميبة كستلاني - لجيونلا بنوموفيللا: ثنائلي رهيب

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

السيد : فيصل رفقي

المزاد في: 13 شتنبر 1987 باكادير

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية - الرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: أكانتوميبة كستلاني - لجيونلا بنوموفيللا - مستخلصات خميرة الفحم المخزنة -
الصدمة الكلورية والحارارية.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس و مشرف

أعضاء

السيدة: سكيئة الحمزاوي
أستاذة في علم الأحياء الدقيقة
السيدة: نزهة السعودي
أستاذة في علم الدم البيولوجي
السيدة: سعيدة طلال
أستاذة في الكيمياء الإحيائية
السيدة: حنان الوزاني
أستاذة في أمراض الصدر والسل