

Légionelloses du voyageur.

S. Jarraud, M. Reyrolle, S. Riffard, F. Lo Presti & J. Etienne

Centre national de référence des légionelles, Laboratoire central de microbiologie, Hôpital Edouard Herriot, 5 Place d'Arsonval, 69437 Lyon cedex 03

Manuscrit n°1977/SMV8. 3ème Journéebieniale de Médecine des voyages. Accepté le 13 octobre 1998.

Summary: Travel-Associated Legionnaire's Disease.

The outbreak of pneumonia involving delegates to the 1976 American Legion convention at a Philadelphia hotel was the first example of travel-associated legionnaires' disease. Travel is now well known as a common risk factor for legionnaires' disease. This travel-associated disease is a preoccupation among European countries because of morbidity among citizens of the European Union. The definition of the case of legionellosis is a patient who presents an acute lower respiratory tract infection with focal signs of pneumonia and/or radiological features, and microbiological evidence of Legionella infection. A case is considered to be travel associated if the patient has spent one or more nights away from home during the ten days before becoming ill.

An European Surveillance Scheme for Travel-Associated Legionnaires' Disease was established in 1987 to identify clusters and outbreaks of cases of the disease. This group centralizes the case reports of twenty-nine collaborating centres in twenty-five countries. Outbreaks of legionnaires' disease were described in hotels, camps or cruise ships. In 1996, the number of travel-associated cases of legionnaires' disease represented 16% of the total number cases. The increase of the number of reported cases may reflect improved surveillance and increased ascertainment. In Europe in 1996, the diagnosis of legionellosis was confirmed by detection of Legionella pneumophila sero group 1 antigen in urine (36%), seroconversion (fourfold rise in antibody titre, 33%) and culture of the organism (16%). Fifteen per cent of legionellosis was diagnosed by the identification of a single high antibody titre.

In France a coordination between Public Health Institutions (Réseau National de Santé Public and DDASS), clinicians, laboratories and National Reference Center was established to improve prevention and control of legionnaires' disease outbreaks. Legislation obliges to report each case. When more two cases in the same area are notified an epidemiological investigation must be done. The knowing of the source of the contamination and its eradication allows to prevent new cases and outbreaks.

Outbreaks of Legionnaires' disease are even now mediatic and this fact leads to maintain attention for the quality of diagnosis and epidemiology investigation due to touristic and economic consequences for the implicated countries.

Résumé :

La légionellose est une infection pulmonaire aiguë dont la létalité peut atteindre 10 à 20 %, voire plus chez les immunodéprimés. La contamination résulte de l'inhalation d'aérosols (surtout d'eau chaude) contenant des légionelles, germes très répandus dans l'environnement. - par exemple lors d'un douche ou d'un séjour dans une pièce climatisée. Des épidémies se développent autour d'une source commune d'infection.

La maladie a surtout une expression respiratoire : syndrome grippal ou pneumopathie aiguë, laquelle peut être très sévère chez les immunodéprimés et les personnes âgées. Dès son émergence, la légionellose se présentait comme une maladie du voyageur, susceptible de provoquer une épidémie dans un hôtel infecté. Un réseau européen de surveillance a été mis en place depuis 1987 dans 25 pays. Il est coordonné à Londres par le CDSC (Centre de Surveillance des Maladies transmissibles). Par ce réseau, 1566 cas européens ont été recensés en 1996, au cours de l'été, dont 204 cas associés au voyage, acquis plus particulièrement en Espagne, en Italie, en Turquie,...et en France. Le risque a été estimé, en Europe méridionale, à 3 ou 4 cas par million de voyageurs. Ce risque existe ailleurs, puisque 20 % des cas ont été contractés en dehors de l'Europe. Le développement des voyages risque fort de favoriser celui des légionelloses du voyageur.

Key-words: Legionellosis - Travel - Outbreak - European surveillance

Mots-clés : Légionellose - Voyage - Epidémie - Surveillance européenne

La légionellose est une infection pulmonaire aiguë dont la mortalité peut atteindre 10 à 20 % voire plus chez les immunodéprimés. L'épidémie de l'été 1976 affectant la "Pennsylvania American Legion" à Philadelphie et qui a conduit à l'identification formelle de "la bactérie de la mala-

die du légionnaire" est le premier exemple de légionellose associée au voyage. Sur les 4400 personnes présentes, plus de 200 personnes furent touchées et 40 en moururent. En 1996, la proportion des cas liés au voyage correspond à 16 % de l'ensemble des légionelloses. La contamination a été décrite lors

de séjour dans des hôtels, dans des campings ou lors de voyage en croisière. Un réseau européen de surveillance des légionelloses acquises lors des voyages a été mis en place. Il centralise les déclarations des cas de vingt-neuf centres collaborateurs. Le diagnostic de certitude des légionelloses associées au voyage ainsi que les investigations épidémiologiques mises en œuvre sont essentiels, car cette pathologie est une menace pour l'économie des pays en cause et notamment pour les pays très touristiques.

Écologie des Legionella

Les légionelloses sont des infections pulmonaires provoquées par des bactéries du genre *Legionella* qui comprend actuellement 42 espèces regroupant 64 sérogroupes (2, 6). La plupart des espèces ont été isolées à la fois chez l'homme et dans l'environnement, quelques-unes n'ont été isolées à ce jour qu'à partir de prélèvements environnementaux. Les *Legionella*, bacilles à Gram négatif, ont pour habitat naturel l'eau. Elles ont été isolées de la plupart des milieux aquatiques naturels (lacs, rivières, eaux thermales) ainsi que de sédiments, de boues et de composts. Les *Legionella* n'ont jamais été isolées à partir de l'eau de mer, la salinité semblant agir comme un inhibiteur. Les *Legionella* ont la capacité de survivre et de se multiplier en symbiose au sein de protozoaires (amibes appartenant aux genres *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Tetrahymena* et *Hartmannella*) (30). Les *Legionella* sont également présentes dans les réservoirs artificiels qui correspondent aux principales sources de contamination. Les *Legionella* colonisent 40 à 60 % des réseaux de distribution d'eau potable et à usage sanitaire (siphons, robinets, mélangeurs et pommeaux de douche), les chauffe-eau et les réservoirs de grande capacité (7). L'historique des légionelloses montre l'importance des systèmes de conditionnement d'air en tant que sources d'épidémies (36). On peut citer également l'isolement de *Legionella* à partir de centrales d'humidification, de tours aéroréfrigérantes, de fontaines réfrigérantes, d'eaux de piscines ou de bains à remous (11). Ces bactéries sont rarement présentes dans les canalisations d'eau froide (température inférieure à 20 °C). Plusieurs facteurs favorisent la présence et la multiplication de cette bactérie dans l'environnement. Ces facteurs sont la température de l'eau (35 à 45°C), la présence de dépôts organiques (biofilm) et de micro-organismes (amibes), la nature des matériaux favorable à leur croissance (fer, zinc, aluminium) et enfin tout circuit responsable d'une stagnation de l'eau (réservoirs, boucles et espaces morts de distribution) (25).

La transmission des *Legionella* s'effectue à partir de l'environnement aquatique par l'intermédiaire d'aérosols infectieux inhalés jusque dans l'alvéole pulmonaire. Les poumons sont le site d'isolement le plus fréquent. La seconde voie de contamination admise, mais non prouvée, est l'aspiration directe d'eau souillée (37, 38). La transmission interhumaine n'a pas été prouvée jusqu'à maintenant.

Caractéristiques cliniques et traitement

La légionellose peut se manifester sous deux tableaux cliniques distincts, la maladie des légionnaires, infection pulmonaire aiguë dont la mortalité peut atteindre 10 à 20 % voire plus chez les immunodéprimés et la fièvre de Pontiac, syndrome pseudo-grippal de guérison spontanée en deux à cinq jours. La pneumonie est plus ou moins sévère, souvent très fébrile et accompagnée d'un cortège de signes cliniques et biologiques (toux non productive, douleur thoracique,

céphalées, confusion, myalgies, diarrhée, insuffisance rénale, cytolyse, rhabdomyolyse, hyponatrémie). Les légionelloses extrapulmonaires sont rares, mais les manifestations cliniques sont dramatiques (myocardite, péricardite, endocardite sur valve prothétique, péritonite, colite nécrosante, pancréatite, sinusite, cellulite, et pyélonéphrite) (9, 23, 33, 34). Le tabagisme, la maladie hépatique chronique et les immunosuppressions (essentiellement la corticothérapie et les cancers) constituent les principaux facteurs de risque (10).

Le traitement reposait historiquement sur l'érythromycine. Les fluoroquinolones et les nouveaux macrolides (azithromycine et clarithromycine) sont actuellement considérés comme les antibiotiques de choix dans le traitement des légionelloses sévères. La forme injectable de ces nouveaux macrolides n'est cependant pas encore disponible en France (34).

Surveillance des légionelloses associées au voyage

Diagnostic des légionelloses

La légionellose est une maladie à déclaration obligatoire. A ce titre, le diagnostic de certitude est important afin de détecter les cas groupés et mettre en place des mesures de prévention. Les critères de diagnostic sont très précis. Un cas de légionellose est défini comme un patient présentant des signes de pneumopathies et/ou des caractéristiques radiologiques associées à une confirmation microbiologique d'infection à *Legionella*. Ces critères biologiques sont l'isolement de *Legionella* dans des prélèvements bronchiques, une immunofluorescence directe positive, une recherche d'antigènes urinaires *Legionella* positive ou une séroconversion (augmentation significative (x4) des titres d'anticorps) (21, 24). Les légionelloses associées au voyage en 1996 en Europe ont été le plus souvent diagnostiquées par la détection de l'antigène *Legionella pneumophila* séro groupe 1 dans les urines (36%) (18, 26). Cette technique permet un diagnostic rapide particulièrement important lors de suspicion d'épidémie. Au moins 80 % des patients avec une légionellose auraient des antigènes solubles de *Legionella* dans les urines dès le début (3 à 4 jours) de leur infection (19). L'inconvénient majeur de cette méthode est que seuls les antigènes *Legionella pneumophila* séro groupe 1 sont détectés. En France cette technique n'est utilisée que depuis 1997, mais son utilisation ne cesse de croître. La séroconversion a permis, en 1996, 33 % des diagnostics de légionellose en Europe. Le sérodiagnostic réalisé par immunofluorescence indirect ne permet qu'un diagnostic tardif voire rétrospectif. De plus de nombreuses réactions croisées ont été décrites avec les mycobactéries, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Citrobacter*, *Campylobacter* et *Coxiella burnetii* (3-5, 13). La culture a permis 16 % des diagnostics en 1996. L'isolement de *Legionella* à partir de prélèvements pulmonaires est difficile et lent. Cette technique reste primordiale afin de pouvoir comparer les souches environnementales aux souches cliniques et ainsi confirmer la source de la contamination. L'immunofluorescence directe permet en utilisant un réactif commercialisé, le Monofluo Kit (Sanofi Diagnostics Pasteur Marne-la-Coquette France) une détection rapide des *Legionella pneumophila* au microscope à fluorescence, soit une heure et demie après l'arrivée du prélèvement au laboratoire. La sensibilité de cette technique est faible (25 à 40 %) et le seuil de détection est de 104 UFC/ml. La spécificité est de 60 à 70 % (8). Deux autres techniques sont d'utilisation plus restreintes par des laboratoires spécialisés. La détection de

Legionella dans des prélèvements bronchiques par amplification du gène mip (16) et la détection des *Legionella* à développement intracellulaire obligatoire par co-cultures amibiennes. Les *Legionella* à développement intracellulaire obligatoire sont désignées *Legionella*-like amoebal pathogen (LLAP) (28). Elles ne cultivent pas sur milieu BCYE mais peuvent se développer à l'intérieur des amibes. Les LLAP-3 sont responsables d'infections humaines et des études sérologiques ont montré que l'ensemble des LLAPs serait impliqué dans 19 % des pneumopathies d'étiologie inconnue (29). Une étude Européenne en 1996 a montré que *Legionellapneumophila* séro-groupe 1 est responsable de 75 % du total des infections. *L. pneumophila* d'autres sérogroupes ou de séro-groupe inconnu représentent 18 % des légionelloses et 7 % sont dues à d'autres espèces de *Legionella*.

Les réseaux de surveillance

Les cas de légionellose peuvent être classés selon la source de la contamination : cas communautaire, nosocomial ou associé au voyage. Un cas est considéré comme associé au voyage si le patient a passé une ou plusieurs nuits hors de chez lui pendant les dix jours précédant la survenue de la maladie, que ce soit à l'étranger où dans le pays où il vit habituellement. Ces légionelloses sont acquises le plus souvent lors de séjour à l'hôtel, mais également au camping ou lors de croisière (1, 15, 17). On définit un foyer de cas groupés par deux cas ou plus associés au même établissement et dont la maladie est survenue dans un intervalle de moins de six mois. Les cas sont dits liés lorsque la maladie est survenue dans un intervalle de plus de six mois.

Un réseau de surveillance des légionelloses a été mis en place en France qui s'articule entre le Réseau national de santé publique, les DDASS, le Centre national de référence des *Legionella*, les cliniciens et les laboratoires. Les cas survenus à la suite de voyage représentaient environ 10 % des cas français déclarés entre 1987 et 1995 (14). Ce chiffre ne prend pas en compte les cas survenus chez des étrangers à la suite d'un séjour en France.

Depuis 1997, la France participe de façon plus active à un réseau européen de surveillance des légionelloses acquises lors des voyages (EWGLI : European Working Group for *Legionella* Infections) créé en 1987, en fournissant des informations sur les cas de légionellose acquis lors de voyages en France ou à l'étranger. Ce réseau est coordonné par le centre anglais de surveillance des maladies transmissibles (CDSC : Communicable Disease Surveillance Centre). Vingt-neuf centres collaborateurs dans 25 pays participent à la déclaration des cas. Selon les résultats de ce réseau de surveillance européen, en 1996, les données cumulées montrent un total de 1566 cas de maladie des légionnaires dans 24 pays européens dont 204 cas de légionelloses associés au voyage (20). Depuis 1987 l'accroissement continu du nombre de cas déclarés reflète l'amélioration de la surveillance. Cependant, certains pays ont peu ou pas d'informations disponibles sur cette catégorie de cas, cela indique que ce chiffre est une sous estimation. De plus les méthodes mises en œuvre pour le diagnostic des légionelloses ainsi que pour la surveillance diffèrent d'un pays européen à l'autre et il est donc parfois difficile de comparer les informations rapportées. Vingt foyers de cas groupés ont été détectés en 1996. Selon les résultats de la surveillance européenne, les pays pour lesquels les hôtels ou les autres résidences de voyage sont les plus incriminés sont l'Espagne (22%), l'Italie (12%), la Turquie (11%) et la France (10%). Cela reflète la tendance des voyages qui se font des pays du

nord vers les pays méditerranéens au climat plus chaud. Les cas liés au voyage doivent donc être analysés en relation avec le nombre de visiteurs dans les pays attirant beaucoup de touristes. Si l'on considère par exemple le taux d'infection par million de tourisme, celui-ci n'est pas plus important en Espagne (3 à 4/10⁶) qu'en Grèce (3 à 4/10⁶).

Dans 20 % des cas, la source de la contamination est située en dehors de l'Europe. Ce chiffre est en augmentation soulignant l'évolution des déplacements touristiques des Européens. La répartition des cas durant l'année est saisonnière puisque durant les cinq dernières années les cas les plus nombreux sont apparus en juin et septembre. Ces deux mois correspondent au tourisme de basse saison des personnes âgées, plus sensibles à l'infection à *Legionella*. Une directive européenne pour les voyages organisés existe depuis 1996. Cette directive rend responsable le voyageur s'il place des clients dans des hôtels qu'il sait susceptible d'être responsable de légionellose. Il peut ainsi décider de rappeler les clients qui séjournent dans les hôtels associés à des cas groupés. Le diagnostic de certitude ainsi que les résultats de l'enquête épidémiologique sont donc primordiaux.

Enquête épidémiologique

Lorsque deux ou plusieurs cas de légionellosesont identifiés une investigation épidémiologique doit être menée. Celle-ci doit permettre d'identifier une source commune d'infection pour adapter les mesures de prévention. Il est fréquent de constater que les cas ont fréquenté plusieurs hôtels au cours de leur voyage ce qui multiplie les sources potentielles de contamination. L'interrogatoire permettra de définir les dates et les lieux précis de séjour des cas, la date de survenue des symptômes, la compatibilité entre ces dates et la période d'incubation de la légionellose et de relever méticuleusement les activités des patients pendant les dix jours précédents leur maladie (piscine, jacuzzi...). Pour l'enquête épidémiologique il est important de se limiter aux établissements fréquentés par le patient dans les 2 à 10 jours précédents les signes cliniques. L'enquête environnementale doit commencer par une description détaillée de l'établissement notamment en ce qui concerne le réseau de distribution d'eau sanitaire, les installations de conditionnement d'air, les tours aérorefrigérantes du bâtiment et du voisinage ainsi que les équipements tels que les dispositifs d'humidification, les fontaines décoratives, les bains à remous...

La recherche et la numération des *Legionella* dans l'eau sont effectuées dans les laboratoires en France selon la norme AFNOR T90-431, cette méthode a un seuil de détection de 50 UFC/l. Il est admis qu'au-dessous de 10³ UFC/l, le risque d'apparition de cas de légionellose est très faible (31).

La comparaison des souches cliniques avec des souches environnementales par des techniques de typage moléculaire permet de confirmer la source de contamination. Les études récentes suggèrent que l'électrophorèse en champ pulsé est la technique la plus discriminante pour typer des souches de *Legionella* (12, 32, 35).

Mesures de lutte et de prévention

Les méthodes de décontamination font appel dans un premier temps à des mesures simples : nettoyage et détartrage des terminaux (robinets, douches) et des réservoirs. Une élévation de température à plus de 70°C ainsi que la chloration de l'eau est proposée afin de réduire les concentrations en *Legionella* dans les réseaux d'adduction d'eau. Ces mesures

bien qu'efficaces n'aboutissent jamais à une stérilisation complète du réseau traité puisqu'il est probable que des biofilms offrent une protection suffisante pour engendrer une re-colonisation active. Ces mesures doivent donc être renouvelées (27). Une autre méthode basée sur l'augmentation de la concentration de cuivre et d'argent dans les réseaux de distribution par le système "Tarn-Pure" est en cours d'évaluation (22).

Conclusion

La surveillance européenne des légionelloses associées au voyage nécessite une bonne évaluation des cas au niveau de chaque pays membre. Celle-ci implique un diagnostic de certitude le plus rapide possible et un réseau de collaboration efficace entre les différents acteurs de cette surveillance. En France, la collaboration entre le Réseau national de santé publique, les DDASS et les cliniciens par le biais des déclarations obligatoires permet la mise en œuvre d'enquêtes épidémiologiques en présence de cas groupés. Ces enquêtes ont pour but d'identifier les sources de contamination et de mettre en place le plus rapidement possible les mesures de décontamination et de prévention afin d'éviter l'apparition d'épidémie de légionellose.

Références bibliographiques

- BELL JC, JORM LR, WILLIAMSON M, SHAW NH, KAZANDJIAN DJ *et al.* - Legionellosis linked with a hotel car park-how many were infected. *Epidemiol Infect*, 1996, **116**, 185-192.
- BENSON RFW, THACKER L, DANESHVAR MI & BRENNER DJ - *Legionella waltersii* sp. nov. and an unnamed *Legionella* genom-species isolated from water in Australia. *Int J System Bacteriol*, 1996, **46**, 631-634.
- BORNSTEIN N, FLEURETTE J, BOSSHARD S, BOUVET C, THOUVENOT D & AYMARD M - Evaluation de la fréquence des réactions sérologiques croisées entre *Legionella* et *Mycoplasma* ou *Chlamydia*. *Path Bio*, 1984, **32**, 165-168.
- BORNSTEIN N, JANIN N, BOURGUIGNON G, SURGOT M & FLEURETTE J - Prevalence of anti-*Legionella* antibodies in a healthy population and in patients with tuberculosis or pneumonia. *Path Bio*, 1987, **35**, 335-356.
- BOSWELL TCJ, MARSHALL LE & KUDERIA G - False-positive *Legionella* titres in routine clinical serology testing detected by absorption with *Campylobacter*: implications for the serological diagnosis of Legionnaires' disease. *J Infect*, 1996, **32**, 23-26.
- BRENNER DJ, STEIGERWALT G & McDADE JE - Classification of the Legionnaires' disease bacterium: *Legionella pneumophila*, genus novum, species nova, of the family Legionellaceae, family nova. *Ann Intern Med*, 1979, **90**, 656-658.
- CABANES PA, DUBROU S, LARGUER M, SAUDE I & FESTY B - Les *Legionella* dans l'environnement hydrique sanitaire. *Méd Mal Infect*, 1995, **25**, 850-857.
- EDELSTEIN PH - Legionnaires' disease. *Clin Infect Dis*, 1993, **16**, 741-749.
- EDELSTEIN PH & MEYER RD - *Legionella* pneumonias, p. 455-484. In: JE Pennigton (ed.), *Respiratory Infections: Diagnosis and Management*. 3rd ed. Raven Press, Ltd., 1994, New York.
- FLEURETTE J & BORNSTEIN N - *Légionelloses*, p.10, EMC 1995.
- FLIERMANS CB - Ecology of *Legionella*: from data to knowledge with a little wisdom. *Microbiol Ecol*, 1996, **32**, 203-228.
- GRATTARD F, BERTHELOT P, REYROLLE M, ROS A, ETIENNE J & POZZETTO B - Molecular typing of nosocomial strains of *Legionella pneumophila* by arbitrarily primed PCR. *J Clin Microbiol*, 1996, **34**, 1595-1598.
- GRAY JJ, WARD KL, WARREN RE & FARRINGTON M - Serological cross-reaction between *Legionella pneumophila* and *Citrobacter freundii* in indirect immunofluorescence and rapid microagglutination test. *J Clin Microbiol*, 1991, **29**, 200-201.
- HUBERT B, INFUSO A & LEDRANS M - Guide d'investigation d'un ou plusieurs cas de légionellose. *BEH*, 1997, **20-22**, 83-101.
- INFUSO A, HUBERT B, DUMAS D, REYROLLE M, MATEO SD *et al.* - Epidémiologie de légionellose dans deux groupes de touristes voyageant dans des campings en France et Espagne, juin 1996. *Eurosurveillance*, 1997, **2**, 43-50.
- JAUHAC B, NOWICKI M, BORNSTEIN N, MEUNIER O, PREVOST G *et al.* - Detection of *Legionella* spp in bronchoalveolar lavage fluids by DNA amplification. *J Clin Microbiol*, 1992, **30**, 920-924.
- JERNIGAN DB, HOFMANN J, CETRON MS, GENESE CA, PEKKA NUORTI J *et al.* - Outbreak of Legionnaires' disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. *The Lancet*, 1996, **347**, 494-499.
- KASHUBA ADM & BALLOW CH - *Legionella* urinary antigen testing: potential impact on diagnosis and antibiotic therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1996, **24**, 129-139.
- KOHLER RB, WINN WC & WHEAT LJ - Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaire disease. *J Clin Microbiol*, 1984, **20**, 605-607.
- LANE CR, JOSEPH CA & BARTLETT CLR - European surveillance of travel associated legionnaires' disease 1996. *Eurosurveillance*, 1998, **3**, 6-8.
- Legionella* RNSP - *Légionellose en France en 1995: diagnostic microbiologique et surveillance épidémiologique*. RNSP, Saint Maurice, France 1996.
- LIU Z, STOUT JE, TEDESCO L, BOLDIN M, HWANG C *et al.* - Controlled evaluation of copper-silver ionization in eradicating *Legionella pneumophila* from a hospital water distribution system. *J Infect Dis*, 1993, **169**, 919-922.
- McDADE JE, SHEPARD CC, FRASER DW, TSAI TR, REDUS MA *et al.* - Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Eng J Med*, 1977, **297**, 1197-1203.
- Memorandum - Epidemiology, prevention and control of legionellosis: Memorandum from a WHO meeting. *Bull WHO*, 1990, **68**, 155-164.
- MEYER RD - *Legionella* infections: a review of five years of research. *Rev Infect Dis*, 1983, **5**, 258-278.
- PLOUFFE JF, FILE TM, BREIMAN RF *et al.* - Reevaluation of the definition of Legionnaires' disease: use of the urinary antigen assay. *Clin Infect Dis*, 1995, **20**, 1286-1291.
- Prevention CDC - Guidelines for prevention of nosocomial pneumonia. *Mortal morbidity weekly report*, 1997, **46**.
- ROWBOTHAM TJ - Isolation of *Legionella pneumophila* from clinical specimens via amoebae, and the interaction of those and other isolates with amoebae. *J Clin Pathol*, 1983, **36**, 978-986.
- ROWBOTHAM TJ - *Legionella*-like amoebal pathogens. In: Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1993, 137-140.
- ROWBOTHAM TJ - Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for fresh water and soil amoebae. *J Clin Pathol*, 1980, **33**, 1179-1183.
- Circulaire DGS du 20 juillet 1992 relative à la qualité microbiologique des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux*. 1992.
- SCHOONMAKER D, HEIMBERG T & BIRKHEAD G - Comparison of ribotyping and restriction enzyme analysis using pulsed-field gel electrophoresis for distinguishing *Legionella pneumophila* isolates obtained during a nosocomial outbreak. *J Clin Microbiol*, 1992, **30**, 1491-1498.
- SIRE S, STAUBT T & CHRISTMANN D - Manifestations extra-pulmonaires des Legionelloses. *Med Mal Infect*, 1994, **24**, 874-880.
- STOUT JE & YU VL - Legionellosis. *N Eng J Med*, 1997, **337**, 682-687.
- STRUELENS MJ, MAES N, ROST F, DEPLANO A, JACOBS F *et al.* - Genotypic and phenotypic methods for the investigation of a nosocomial *Legionella pneumophila* outbreak and efficacy of control measures. *J Infect Dis*, 1992, **166**, 22-30.
- WINN WC - Legionnaires disease: historical perspective. *Clin Microbiol Rev*, 1988, **1**, 60-81.
- WOO AH, GOETZ A & YU VL - Transmission of *Legionella* by respiratory equipment and aerosol generating devices. *Chest*, 1992, **102**, 1586-1590.
- YU VL - Could aspiration be the major mode of transmission for *Legionella*? *Am J Med*, 1993, **95**, 13-15.