

LEGIONELLOSE

DEFINITION

La légionellose ou maladie des légionnaires doit son nom aux circonstances de sa première description en 1976 lors de la survenue de cas groupés de pneumopathies aiguës chez des vétérans de «l'American legion» réunis en congrès à Philadelphie. Cette nouvelle infection aérogène était due à un pathogène respiratoire nouvellement identifié, **Legionella pneumophila**. Les *Legionella* sont des bacilles à Gram négatif classés dans la famille des *Legionellaceae*. Quarante deux espèces sont décrites à l'heure actuelle. *L. pneumophila* **sérogroupes 1 et 6** sont le plus souvent responsables d'infections humaines avec 80 % des cas liés au séro groupe 1. Les infections causées par les autres espèces (*L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. longbeachae*...) sont beaucoup plus rares et sont essentiellement isolées chez des patients immunodéprimés. Depuis 1987, la légionellose est une maladie à déclaration obligatoire en France. La déclaration doit être faite par le clinicien et par le biologiste (JO n°110 du 13 mai 1999 page 7095) à la DDASS du département d'hospitalisation. La fiche de déclaration obligatoire est disponible à l'adresse suivante : www.invs.sante.fr.

EPIDEMIOLOGIE

Les *Legionella* sont des bactéries de l'environnement hydrique, responsables de pneumopathie aiguë. Elles peuvent être présentes dans les eaux douces naturelles, dans les circuits de distribution d'eau potable froide ou chaude et dans les systèmes de climatisation d'air. Les *Legionella* survivent dans l'eau en se multipliant notamment dans les amibes. Ce parasitisme intracellulaire permet leur multiplication dans les macrophages et notamment dans les macrophages des alvéoles pulmonaires.

La transmission des légionelloses se fait par aérosols (jets d'eau, pommeaux de douche, bains à remous, systèmes de climatisation). Il n'y a pas de transmission interhumaine directe. La plupart des cas sont sporadiques mais les légionelloses peuvent également être observées sous forme de cas groupés survenant dans les collectivités (hôtels, hôpitaux, établissements thermaux...), résultant d'une contamination par le même aérosol.

Les *Legionella* sont la cause, en France, d'environ 4 % des pneumopathies aiguës de l'adulte.

CLINIQUE

Les *Legionella* peuvent être à l'origine de deux formes cliniques : la maladie des légionnaires (ou légionellose) et la fièvre de Pontiac.

A) La pneumopathie aiguë à *Legionella* se manifeste, après une incubation de 2 à 10 jours, par une atteinte respiratoire dont le début est brutal avec une température élevée, une toux sèche, une dyspnée importante, des céphalées et une diarrhée précoce. En quelques jours, le tableau devient très sévère (hyperthermie, troubles de la conscience, insuffisance rénale).

L'image radiologique est le plus souvent celle d'une pneumopathie interstitielle avec une atteinte multilobaire, des lésions très rapidement extensives et un épanchement pleural fréquent (50 % des cas).

La mortalité est importante (environ 15 %) en particulier chez les personnes âgées et les immunodéprimés. Le diagnostic est à évoquer systématiquement devant toute pneumopathie aiguë, grave, survenant chez un sujet de plus de 50 ans avec des facteurs de risques (sexe masculin, tabagisme, alcoolisme, maladie sous-jacente, immunodépression), chez lesquels les prélèvements sont négatifs (crachats, hémocultures, antigènes solubles...) pour la recherche des germes usuels et qui résiste à une antibiothérapie par les bêta-lactamines.

B) La fièvre de Pontiac est une atteinte bénigne des voies aériennes supérieures. Après une incubation courte (36 heures), apparaît un syndrome infectieux sous la forme d'une fièvre isolée ou d'un syndrome pseudo-grippal, qui guérit spontanément. Cette infection est exceptionnellement diagnostiquée.

INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Devant toute pneumopathie avec un contexte nosocomial ou épidémique ainsi que dans les situations à risque : voyage, thermes, exposition à de l'eau en aérosol...

Devant le tableau clinique suivant, très évocateur (1/3 des cas) : pneumonie d'allure sévère, début aigu, pas de signes ORL, pouls dissocié, atteinte bilatérale surtout chez un patient présentant un terrain favorisant (cancer, hémopathie) ou après échec d'un traitement préalable aux bêta-lactamines actives sur le pneumocoque.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

Liquide broncho-alvéolaire, expectorations, aspiration bronchique, aspiration trachéale, biopsies, LCR, sérum, urines.

Se reporter au référentiel des examens de biologie

médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

■ DIAGNOSTIC DIRECT

■ **L'immunofluorescence directe**, méthode facile à réaliser, rapide, peut être pratiquée sur les produits pathologiques bronchopulmonaires (produit d'expectoration, aspiration bronchique, lavage broncho-alvéolaire) et permet de visualiser les germes au microscope grâce à des anticorps polyclonaux ou monoclonaux fluorescents reconnaissant *L. pneumophila*. La sensibilité de cette technique est toutefois faible (30 à 50 % de positif) avec un seuil de détection de 10000 UFC/ml. La spécificité est en moyenne de 90 %.

■ **La culture bactériologique** est la méthode de référence, indispensable pour reconnaître la source de l'infection. Elle nécessite un prélèvement de bonne qualité (la meilleure sensibilité étant obtenue à partir du LBA, 90 %) et l'utilisation d'un milieu spécial BCYE (*Buffered Charcoal Yeast Extract*) supplémenté en cystéine, pyrophosphate de fer, cétylglutarate, glycine et antibiotiques.

Les colonies caractéristiques (aspect de verre fritté) peuvent être observées, à la loupe, après une incubation d'au moins 48 heures, à 35 - 37 °C en atmosphère à 2,55 % de CO₂. La différenciation et l'identification des colonies de *Legionella* sont traditionnellement fondées sur l'étude de leurs caractères culturels, biochimiques et antigéniques. La réalisation d'hémocultures est possible (technique Isolator de lyse – centrifugation), la sensibilité de la méthode n'étant que de 10 à 30 %. Toutes les souches de *Legionella* d'origine clinique doivent être envoyées au CNR pour typage (circulaire du 11 juillet 2005).

■ Recherche de l'Ag soluble de *Legionella pneumophila* de sérotype 1 dans les urines

La détection des antigènes solubles présents dans l'urine permet un diagnostic précoce d'infection à *Legionella pneumophila* de sérotype 1 en phase aiguë (en cause dans plus de 90 % des cas). Les antigènes apparaissent dans les 2 à 3 jours suivant l'apparition des signes cliniques chez 90 % des patients. L'excrétion n'est pas influencée par l'antibiothérapie. La durée de l'excrétion est variable suivant les patients : de quelques jours habituellement à plusieurs semaines parfois. Cette méthode (ELISA microplaque ou test rapide par immunochromatographie sur membrane), simple et rapide, est à privilégier en première intention.

■ Amplification génique

Cette méthode de diagnostic peut être utilisée, notamment pour le diagnostic des infections à *L. pneumophila* d'autres sérogroupes que le 1 ou à *L. non pneumophila*.

■ SEROLOGIE

Elle ne permet qu'un diagnostic tardif voire rétrospectif. Le dépistage est effectué par une technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur un mélange de 6 sérogroupes de *L. pneumophila* ou éventuellement par ELISA. Les anticorps apparaissent au bout d'une semaine (25 % des cas), de 2 semaines (50 % des cas), de 4 semaines (90 % des cas) ou jusqu'à 9 semaines.

De nombreuses réactions croisées ont été décrites notamment avec *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Mycobactéries*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydiae*...

Le titre d'anticorps significatif par technique IFI est variable selon les préparations antigéniques utilisées. Il est égal à 256 pour le Centre National de Référence, qui propose un test de confirmation utilisant différents antigènes : *Legionella pneumophila* sérotype 1 à 10 ; *Legionella micdadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumofii*, *Legionella jordanis*, *Legionella gormanii*, *Legionella longbeachae*.

Les avantages et les inconvénients de ces techniques sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Méthodes	Sensibilité	Spécificité	Avantages	Inconvénients
Ag soluble urinaire	56 – 80 % ¹	99 %	Rapide, + précoce, même sous traitement, diagnostic et traitement précoces, diminution de la mortalité	L.p. 1 (<i>L. pneumophila</i> de type 1) Risque de sous diagnostic des autres Légionelles ?
Culture	60 %	100 %	Gold standard Toutes espèces 3 – 5 J	Milieus spéciaux Demande spécifique Négativation rapide peu sensible sous traitement
Sérologie	80 %	97 - 99 %	Epidémiologique	Peu d'intérêt en aigu
IFI	25 %	65 %	Rapide	Labos spécialisés Réactions croisées

INTERPRETATION

En 2015, le diagnostic biologique d'une infection à *L. pneumophila* repose sur la recherche des Ag dans les urines.

- Si ce test est positif, la culture de *Legionella* à partir des prélèvements respiratoire (y compris les expectorations) doit être réalisée pour l'enquête épidémiologique. La PCR et la sérologie n'ont aucun intérêt diagnostique.

- Si ce test est négatif, chez les patients suspects de pneumopathie compatible avec une légionellose, la PCR ciblant *Legionella sp.* et *L. pneumophila* sur échantillon respiratoire bas est à privilégier, associée si possible à la culture. La sérologie ne devrait être effectuée que si la PCR ne peut être réalisée (absence d'échantillon respiratoire bas) ou en l'absence de culture (identification du sérotype nécessaire).

- **La confirmation d'un cas de légionellose** se fait sur les signes cliniques et/ou radiologiques de pneumopathie associés à au moins un des signes biologiques suivants :
- soit l'isolement de *Legionella* dans un prélèvement clinique,
 - soit la présence d'antigènes solubles de *Legionella* dans les urines,
 - soit une augmentation du titre des anticorps d'un facteur 4 sur 2 prélèvements avec un 2^e titre de 128 au minimum.

■ **Cas probables**

Signes cliniques et/ou radiologiques de pneumonie associés à un titre unique ou répété d'anticorps supérieur ou égal au titre significatif de la technique utilisée (256 pour le CNR) ou à une PCR positive.

■ **Définition de cas groupés de légionellose**

- Au moins deux cas, survenus dans un intervalle de temps inférieur à 6 mois, chez des personnes ayant fréquenté un même lieu d'exposition.
- Si l'intervalle de temps entre les cas est supérieur à 6 mois, on parlera de cas liés qui ont une importance épidémiologique plus faible que les cas groupés.

■ **Définition d'un cas nosocomial de légionellose**

Cas certain : patient qui a séjourné dans l'établissement pendant les 10 jours avant le début des signes cliniques.

Cas probable : patient qui a séjourné dans l'établissement au moins un jour pendant les 8 jours précédant l'apparition des signes cliniques.

TRAITEMENT - PREVENTION

Le diagnostic de légionellose doit être associé à la recherche de *Legionella* dans l'environnement hydrique qui est la source principale des infections. Cette recherche permet la mise en œuvre de mesures de désinfection et de prévention notamment en cas d'épidémies.

Les bêta-lactamines sont inefficaces, les *Legionella* produisant une bêta-lactamase.

Le choix thérapeutique dépend de la gravité et du terrain sous-jacent :

- formes non graves (patient ambulatoire ou hospitalisé en médecine ou aux urgences) : monothérapie par macrolide (azithromycine préférentiellement) ;
- formes graves (patient hospitalisé en unité de soins intensifs ou en réanimation, et/ou patient immunodéprimé) :
 - soit monothérapie par fluoroquinolone (par ordre de préférence : lévofloxacine, ofloxacine, ciprofloxacine) ;
 - soit association de deux antibiotiques au sein des trois familles suivantes : macrolides IV (spiramycine plutôt

qu'érythromycine), fluoroquinolones (par ordre de préférence : lévofloxacine, ofloxacine, ciprofloxacine), rifampicine (les associations avec la rifampicine ne sont pas à privilégier).

La durée du traitement est de 8 à 14 jours pour les formes non graves (5 jours pour l'azithromycine) et de 21 jours dans les formes graves et/ou chez l'immunodéprimé (10 jours pour l'azithromycine).

Dans les établissements de santé, la prévention repose sur la maintenance et le contrôle régulier des réseaux d'eau (Circulaire du 22 avril 2002).

POUR EN SAVOIR PLUS

- BEH, Bulletin épidémiologique hebdomadaire, n° 30-31/ 2002:149-155: numéro spécial consacré à la légionellose: <http://www.invs.sante.fr/beh>
- Jarraud S. et al., *Les légionelloses*, Rev Fr Lab 2002; 32 suppl: 28-32.
- www.afssaps.fr Traitement antibiotique de la légionellose chez l'adulte – actualisation juin 2011.
- Société française de microbiologie, *Legionella spp*, In : REMIC : Société Française de Microbiologie Ed ;2015 :515-521.