

# Legionella (Legionellaceae)

## 1. DONNÉES GÉNÉRALES

### 1.1. Historique : une épidémie surprenante

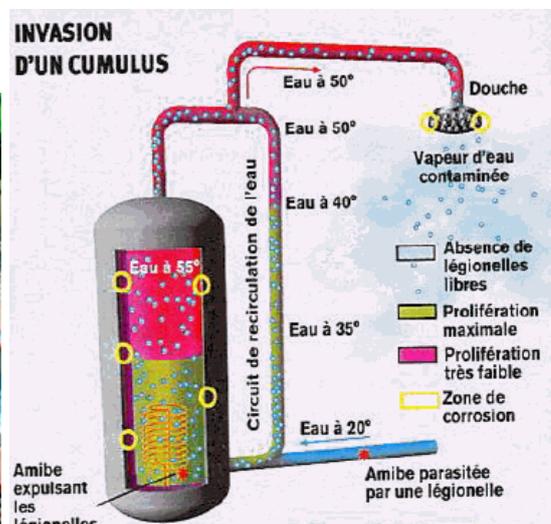
En 1976, une épidémie bizarre frappe le congrès de l'American legion (anciens combattants) à Philadelphie aux USA : 182 personnes sont atteintes d'une sévère pneumonie sur les 4400 participants. 29 meurent (incidence en mortalité : 0,7 %, en nombre de cas 4 %).



Il fallut d'énormes moyens pour mettre en évidence l'agent pathogène. Ce n'est qu'un an plus tard que l'isolement de la bactérie fut réalisé à partir de poumons de personnes décédées, grâce à la fabrication du milieu adapté. Elle est alors baptisée *Legionella*.

La recherche d'anticorps contre la bactérie isolée chez les autres infectés montre rétrospectivement que ces malades ont bien été en contact avec cette bactérie. À partir de là de nombreux autres cas sont diagnostiqués rétrospectivement. La souche avait même été isolée en 1963.

Du point de vue épidémiologique, on peut constater que la grande majorité des cas montre une **entrée aérienne des microbes par aérosols** liés le plus souvent à la climatisation, c'est à dire aux bacs d'eau assurant l'humidification de l'air issu des climatiseurs. La température de multiplication est comprise entre 25 et 43°C. Au delà de 50°C, les *Legionella* sont tuées.



Class III : Gammaproteobacteria	Ordre III : Xanthomonadales	famille des Xanthomonadaceae (avec les genres Stenotrophomonas, Xanthomonas...)
	Ordre V : Thiotrichales	(famille III : Francisellaceae)
	Ordre VI : Legionellales	famille des Legionellaceae (avec le genre Legionella)
		famille des Coxiellaceae (avec le genre Coxiella)
	Ordre IX : Pseudomonadales	famille des Pseudomonadaceae (avec les genres Pseudomonas, Morococcus...)
		famille des Moraxellaceae (avec les genres Moraxella, Acinetobacter...)
	Ordre X : Alteromonadales	famille des Alteromonadaceae (avec les genres Alteromonas, Shewanella...)
	Ordre XI : Vibrionales	famille des Vibrionaceae (avec les genres Vibrio, Listonella, Photobacterium...)
	Ordre XII : Aeromonadales	famille des Aeromonadaceae (avec les genres Aeromonas,...)
	Ordre XIII : Enterobacterales	famille des Enterobacteriaceae (avec les genres classiques mais aussi Plesiomonas...)
Ordre XIII : Pasteurellales	famille des Pasteurellaceae (avec les genres Pasteurella, Haemophilus, Actinobacillus...)	

## 1.2. Habitat : des protozoaires

Il est surprenant d'y trouver ces bactéries fragiles et de culture difficile... La raison en est simple : elles se multiplient en **parasitant des protozoaires**, en particulier des **amibes** colonisant des **biofilms** se formant dans les tuyauteries. De plus les Legionella survivent 2 heures dans un aérosol contenant 65 % d'eau à l'intérieur d'AMIBES (kystes ou formes végétatives). L'ensemble des participants au congrès ont donc été exposés à ces aérosols à cause de la climatisation centrale de l'hôtel.



**Photo d'Hartmanella, amibe infectée par Legionella (remerciements à Barry FIELDS du CDC Atlanta)**

Après cette découverte, de nombreuses Legionella ont été trouvées dans des environnements aquatiques d'eau douce. Elles parasitent là aussi des protozoaires. Le genre Legionella contient aujourd'hui 43 espèces rassemblées grâce à de fortes homologies DNA-DNA. D'autres genres apparaîtront probablement dans l'avenir pour cette famille nouvelle des Legionellaceae. La légionellose humaine est essentiellement due (81 %) au **sérovar 1 de Legionella pneumophila** (8 % au sérovar 6).

La place des LLAP (*Legionella-like amoebal pathogens*), bactéries ne cultivant pas sur les milieux spéciaux des Legionella, n'est pas encore clarifiée.

## 1.3. Caractères des Legionella

*Legionella* est aérobic stricte, inerte vis à vis des glucides, exige de la cystéine et du fer III pour sa croissance et ne produit pas de sidérophores. La concentration en NaCl doit être faible, le pH de 6,9.

Le génome est de 2,5 Gg/mol soit 3900 kbases avec un GC% de 38 à 46.

Elle est classée dans les gammaprotéobactéries aux côtés des *Pseudomonas*, Entérobactéries, *Vibrio* et autres *Aeromonas*.

## 2. POUVOIR PATHOGÈNE

*Legionella pneumophila* provoque en fait deux sortes de syndromes, la **maladie des légionnaires** décrite ci-dessous et un syndrome pseudogrippal guérissant spontanément, la **fièvre de Pontiac**.

### 2.1. La maladie

La maladie des légionnaires se caractérise par une **pneumonie très fébrile**. Après incubation de 2 à 10 jours, chez certains individus, la toux s'accompagne d'images radiologiques caractéristiques montrant le plus souvent des infiltrats mal limités, hétérogènes, s'étendant progressivement dans les deux champs pulmonaires. Il y a donc pneumonie.

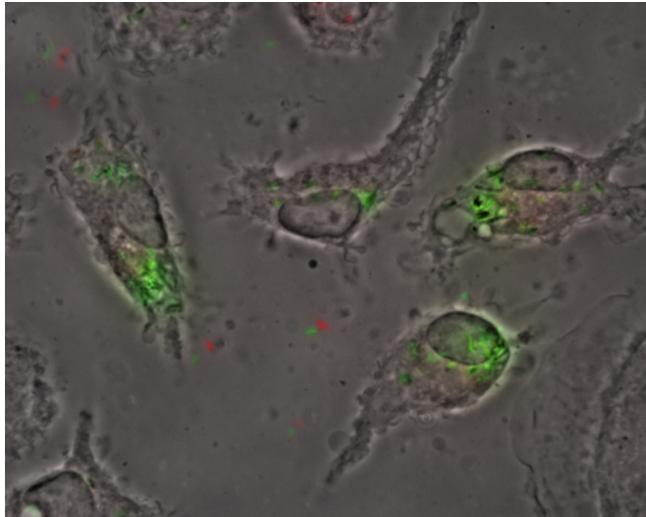
Les examens biologiques montrent une hyponatrémie, une hypoprotéïnémie, une hypolymphocytose (inférieur à 1000 par  $\text{mm}^3$ ), une augmentation de l'urée (supérieure à  $10 \text{ mmol.dm}^{-3}$ ), une atteinte des cellules hépatiques montrée par une forte augmentation de la PAL, de la LDH, de l'ALAT.

### 2.2. Physiopathologie

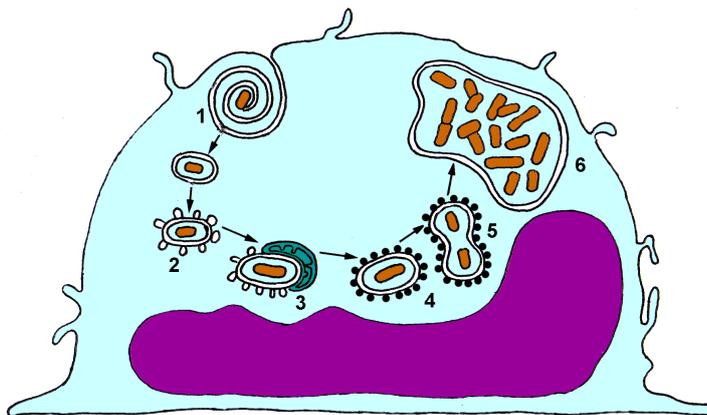
La contamination est liée à l'**inhalation d'aérosols** contenant des protozoaires parasités ou de bactéries libérées par les protozoaires et **n'est pratiquement jamais interhumaine**. Une belle preuve est que les malades ne sont pas isolés à l'hôpital !

La multiplication bactérienne est intracellulaire au fond des alvéoles. La phagocytose par les macrophages alvéolaires se fait par interaction entre une **protéine de la membrane externe (MOMP ou Major Outmembran Protein)** et le **facteur C3B du complément qui se lie au CR1**, récepteur du complément du macrophage (ou même le facteur C3b inactivé qui se lie à un autre récepteur CR3 du macrophage).

La phagocytose n'est pas suivie de l'union de la vacuole avec les lysosomes, mais au contraire avec son union avec le réticulum endoplasmique où les bactéries se multiplient puis tuent le phagocyte et vont infecter des cellules voisines.



La photographie ci dessous montre les Legionella dans les macrophages : (site <http://www.ethlife.ethz.ch/e/articles/sciencelife/legionellenhilbi.html>)



Cycle de *Legionella* dans un macrophage (Dessin de Jean-Pierre GUÉHO)

## 2.3. Complications

Le grand danger est l'**insuffisance respiratoire ou rénale**, et l'**état de choc** avec coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) en lien avec le LPS. La guérison est, sinon, la règle. Toutefois, 40 % des personnes hospitalisées décèdent. On estime l'incidence à 3500 cas par an en France (1124 cas déclarés avec 33 % d'exhaustivité en 1998). La légionellose représente entre 0,5 % à 7 % des pneumopathies communautaires.

## 2.4. Facteurs de risque

Les personnes atteintes sont toujours un terrain favorable, tout au moins pour les cas les plus graves car il semble (AFFSAPS) que la moitié des cas concerne l'adulte sain. Des facteurs favorisants sont clairement identifiés :

- l'âge (âge médian en 2005 : 61 ans). Incidence à 80 ans 12 pour 100 000, à 30 ans 1 pour 100 000)
- le sexe masculin (sex ratio M/F = 2,5 à 3)
- le tabagisme et l'éthylisme
- l'immunodépression (y compris la corticothérapie), cancers, diabète
- les affections respiratoires chroniques

En 2005 (France), la létalité est évaluée à 11 %, beaucoup plus forte chez les personnes âgées.  
(voir BEH 26/2006, site InVS)

Tableau comparatif :

	Maladie des Légionnaires	Fièvre de Pontiac
Durée d'incubation	2 à 10 jours	1 à 2 jours
Taux de mortalité	0 à 20 % (40% et plus chez les personnes hospitalisées)	0 %
Syndrome clinique	Pneumonie	Syndrome grippal
Symptômes communs	Fièvre, myalgies, céphalées, nausées, vomissements, diarrhées	
Symptômes propres	Dyspnée, infection du tractus respiratoire supérieur	
Autres organes atteints	Système nerveux central, tractus gastro-intestinal, reins, système cardiovasculaire	néant

## 3. RECHERCHE ET ISOLEMENT

Le diagnostic de l'infection est extrêmement important pour le malade. Il est souvent demandé à la suite de l'échec thérapeutique des bêtalactamines. Il peut se faire par :

- **immunofluorescence directe.**  
Le frottis du produit pathologique est recouvert d'Ac anti legionella fluorescents.
- **recherche des antigènes solubles dans les urines.**  
Par immunoenzymologie ou immunochromatographie (notamment chez All.Diag), il est possible de mettre en évidence les antigènes solubles de Legionella pneumophila séro-groupe 1 (80 % des légionelloses humaines), antigènes détectés 1 à 3 jours après le début des troubles.  
Cet antigène est un LPS.



- **Isolement**  
L'isolement est réalisé à partir d'un liquide de lavage bronchoalvéolaire ou/et du sang (hémoculture).  
*Legionella* ne cultive pas sur GS.  
On utilise un milieu très spécial : BCYE alpha à 35°C sous CO<sub>2</sub> (à 2,5 % de CO<sub>2</sub>) incubé durant 3 jours.  
BCYEalpha = tampon ACES + Charbon activé + Extrait de levure + alphaKG (alphacétoglutarate = 2-oxoglutarate) + L-Cystéine (0,4 g/L) + pyrophosphate de fer III (0,25 g/L de fer).  
Le pH doit absolument être à 6,9.  
(BCY = Buffer, Charcoal, Yeast, Extract - ACES = acide N-(2-Acetamido)-2-aminoéthanesulfonique)  
L'incubation peut se faire à 42°C voir 50°C  
Des antibiotiques peuvent rendre le milieu sélectif : Céfamandole, Polymyxine B, Anisomycine (ou Céfalotine, Colistine Vancomycine ?)

Durée d'incubation 2 à 15 jours.



- **Sérologie :**  
immunofluorescence indirecte sur deux sérums prélevés au plus tôt et 5 semaines plus tard. Une multiplication par 4 du taux d'Ig est significative ce qui n'est pas le cas d'un taux élevé isolé.

Cellules où la culture des Legionella est possible

- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• cellules de mammifères : CHO, H9, HL60, HeLa, Hep-2, JEG-3, L929, McCoy, MRD-5, RAW 264.7, THP-1, U937, Vero, Wi-26 et L2</li></ul>                              |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• cellules de protozoaires : Acanthamoeba (5 espèces), Echinamoeba, Hartmannella (2 espèces) Naegleria (4 espèces), Tetrahymena (3 espèces), Vahlkampfia</li></ul> |

Quelques données épidémiologiques :

- proportion des légionellose parmi les pneumopathies communautaires : 0,5 à 5 %
- la prévalence des anticorps contre *Legionella pneumophila* 1 (titre <sup>3</sup> 256) varie de 1 à 16 % dans la population adulte en bonne santé.
- le nombre de cas diagnostiqués en France : 530 cas (incidence : 0,9 cas pour 100 000 habitants). Le nombre réel est estimé à 2000-3000 cas
- le taux d'attaque (nombre de malades / nombre de personnes exposées) est plus faible dans la maladie du légionnaire (0,1 à 5 %) que dans la fièvre de Pontiac (95 %)

## 4. IDENTIFICATION

En laboratoire spécialisé.

## 5. TRAITEMENT ET ANTIBIOGRAMME

Les **bétalactamines sont inefficaces** en raison notamment de la sécrétion par Legionella d'une **céphalosporinase**.

Le traitement utilise des macrolides, historiquement **l'érythromycine** et actuellement la spiramycine par exemple.

On peut aussi utiliser des fluoroquinolones comme la lévofloxacine, particulièrement en cas d'infection sévère. Enfin, la rifampicine peut accompagner le macrolide ou la fluoroquinolone.

## 6. PROPHYLAXIE

L'habitat de la bactérie est habituellement hydrique. *Legionella* est capable de développement dans les protozoaires et peut être véhiculée par les kystes d'amibes. Les facteurs d'amplification sont une température de l'eau entre 25 et 45°C, la stagnation de l'eau, la présence de biofilms, de débris organiques, de produits de corrosion et bien sûr de microorganismes et en particulier d'amibes.

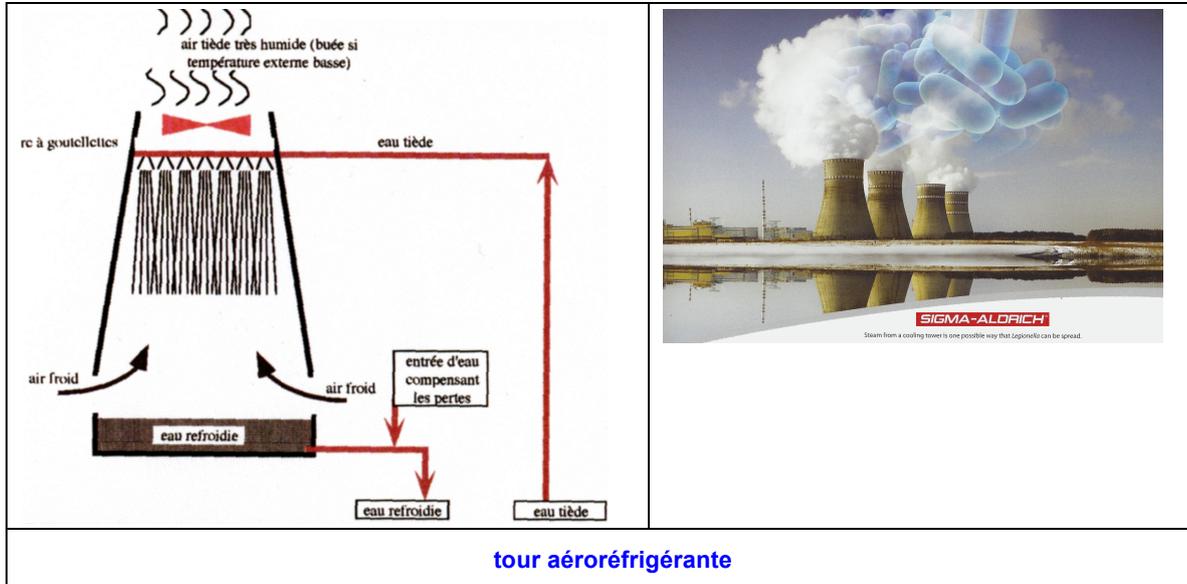
Le vecteur de contamination est l'aérosol avec des tailles de gouttelettes de 1 à 5 µm. La **recherche des sources de contamination** dans les établissements collectifs utilisant des eaux chaudes (**douches, bains à remous, installation de climatisation et de traitement d'air**) est essentielle et nécessite des enquêtes souvent difficiles. Les panaches des tours aéroréfrigérantes sont souvent mis en cause. La lutte contre les réservoirs de

*Legionella*, et des protozoaires qui les hébergent, utilise la **chloration**, le **choc thermique** (Durée de réduction décimale (division par 10 du nombre de germes) : 20 min à 55°C, 6 min 57.5°C, 2 min à 60°C) la modification des systèmes en essayant d'éviter les **aérosols**, la suppression des sources externes de *Legionella*.

La détection des *Legionella* peut passer par leur détection simple ou leur quantification par PCR quantitative permettant une action rapide (voir AES). Dans ces techniques, il est possible de s'intéresser à *Legionella* spp ou à *Legionella pneumophila* : l'utilisation d'une région très conservée du RNA 16S identifie spp, et un gène de virulence (non précisé) *pneumophila*.

Pour les **Tours aéroréfrigérantes** (TAR), un arrêté paru au JORF du 31/12/2004 impose la mise en place d'un dispositif mensuel ou bimestriel pour éviter la contamination par les *Legionella*.

Toutefois, c'est dans la conception des installations que réside la prévention la plus efficace : l'humidification de l'air climatisé peut utiliser des aérosols d'eau saine ou mieux de la vapeur, les échangeurs à plaque pour le chauffage de l'eau, une température suffisante dans les ballons d'eau chaude (mais pas excessive pour éviter les brûlures !)...



Ce texte a été écrit par Jean Noël Joffin qui souhaite que vous lui transmettiez vos critiques. Merci.23.3.2009

## COMPLÉMENTS

### Sitographie

<http://www.microbes-edu.org/professionnel/Legionella/legion.html>

<http://dm3.univ-lyon1.fr/legio/LEGIONELLES3.htm>

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/ll/legionella.html>

<http://www.legionelle.com>

<http://www.uae.fr/44/Legionelle.htm>

Rapport du Conseil supérieur d'Hygiène de France :

<http://www.sante.gouv.fr/htm/pointsur/legionellose/rapport.pdf>

### De Bruno Peiffer (liste Hygiène)

Toute question technique au sujet des Legionella peut être posée au  
CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES LÉGIONELLES

Hospices civils de Lyon

Laboratoire Central de Microbiologie

Bat 10 - Place d'Arsonval

69437 LYON CEDEX 03

Tél 04.72.11.07.62 Fax 04.72.11.07.64 email cnrneh@chu-lyon1.fr

Voici des liens francophones donnant des renseignements :

- LA SOUS-DECLARATION DE LA LEGIONELLOSE EN FRANCE : <http://www.rnsp-sante.fr/beh/1998/9838/index.html>
- Le diagnostic : <http://www.uvp5.univ-paris5.fr/MICROBES/Diagnostic/Legionella/Legionella.htm>

- Législation : <http://www.univ-lyon1.fr/LyonSud/nosobase/legislation/ci311299.htm>
- Autres sites : [http://www.ashrae.org/about/leg\\_papr.htm](http://www.ashrae.org/about/leg_papr.htm)  
<http://www.osha-slc.gov/SLTC/legionnairesdisease/index.html>
- Légionellose: mise au point des Aéroports de Paris
- Albert AMGAR (<http://www.asept.asso.fr>) vous conseille, pour les risques Legionella, la lecture du guide d'Uniclimate sur Climatisation & Santé Uniclimate - Cedex 72 - 92038 Paris La Défense - France Tél. 33 (0)1 47 17 62 92 Fax 33 (0)1 47 17 64 27
- Dominique Carton conseille le site <http://bureau.pharmacie.unicaen.fr/rrh/>
- Transmis par Dr Lionel Grosjean : Concernant la température de l'eau dans les réseaux d'eau chaude sanitaire, voici les recommandations données par la Direction Générale de la Santé dans la circulaire DGS n°2002/243 du 22/04/2003 relative à la prévention du risque lié aux légionnelles dans les établissements de soins : <http://nosobase.univ-lyon1.fr/legislation/Eau/ci220402.htm>

## Document AFP

### Aéroport de Paris

PARIS, 7 juil (AFP) - 16h32

Aéroports de Paris (ADP) précise mercredi que la présence de bactéries "*Legionella*" avait été constatée dans le réseau d'eau chaude sanitaire de l'aérogare 1 à Roissy-CDG en février et qu'aussitôt "une désinfection totale du réseau" avait été entreprise.

"Après avoir appliqué ces mesures de désinfection au mois de mars, ADP a aussitôt remis en service ces installations dont l'usage ne comporte aucun risque sanitaire", déclare encore ADP.

Depuis, ADP "à titre de précaution" a entrepris "une vérification systématique et un traitement de désinfection des réseaux de distribution d'eau chaude dans tous les bâtiments annexes de l'aéroport", ce qui a occasionné la coupure d'eau chaude dans certains bâtiments, comme indiqué mercredi par l'AFP.

"Le risque pathogène est minime: la légionellose ne se transmet que par inhalation aérienne de vapeur d'eau contaminée (douche). Il n'y a pas de transmission interhumaine de la *Legionella*", conclut le communiqué d'ADP.

### Épidémie dans le Pas-de-Calais en 2003-04.

Près de Lens, 86 personnes ont été touchées par la légionellose. 17 en sont mortes. L'épidémie a frappé en deux vagues successives entre nov 2003 et janvier 2004 dans un rayon de 10 km autour de l'usine Noroxo (industries pétrolières Exxon-Mobil), manifestement responsable de l'émission des aérosols infectieux par l'intermédiaire de tour aéroréfrigérantes contaminées par les mêmes Légionnelles que les malades. L'usine est actuellement fermée malgré la décision d'autorisation de réouverture par la Préfecture.

Des études sont toutefois nécessaires pour comprendre la contamination qui reste obscure. Il serait utile aussi de déterminer quels étaient les facteurs de risque (silicose ?) des malades et le pourquoi de l'absence totale de malades dans le personnel de l'usine.

(d'après Le Monde du 18-19 avril 2004)