

UNIVERSITE PARIS VAL DE MARNE
FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

ANNEE 2001

N°

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE
DOCTEUR EN MEDECINE

Discipline : Médecine Générale

Présentée et soutenue publiquement le
à CRETEIL (PARIS XII)

Par Catalin Constantin FLOREA
Né le 20 Novembre 1969 à Constantza

TITRE :

LA LEGIONELLOSE : MESURES DE LUTTE ET DE
PREVENTION CONTRE LA TRANSMISSION DE LA
MALADIE A L'HOPITAL.

DIRECTEUR DE THESE :

Monsieur le Docteur O. GILHODES

LE CONSERVATEUR DE LA

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE

Signature du
Directeur de thèse

Cachet de la bibliothèque
Universitaire

ANNEE : 2001

NOM ET PRENOM DE L'AUTEUR : Catalin Constantin FLOREA

DIRECTEUR DE THESE : Monsieur le Docteur O. GILHODES

TITRE DE LA THESE :

**LA LEGIONELLOSE : MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION CONTRE
LA TRANSMISSION DE LA MALADIE A L'HOPITAL.**

RESUME DE LA THESE :

La légionellose est une pneumopathie sévère dont le mode de contamination résulte de l'inhalation d'aérosols contenant des légionelles, et dont le pronostic est lié au terrain et à la précocité du traitement.

En milieu hospitalier, les réseaux d'eau chaude sanitaire constituent des milieux favorables pour la multiplication des légionelles, car ils sont le plus souvent extrêmement complexes, facilitant l'accumulation de tartre et de biofilm. Les douches, les systèmes de climatisation et d'humidification de l'air, les tours aéro- réfrigérentes sont ainsi incriminés.

Les protocoles de surveillance et de prévention sont élaborés par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) de l'établissement. Ce comité est chargé d'obtenir la description du réseau d'eau, d'élaborer des protocoles d'entretien, de surveiller la contamination de l'eau par la recherche régulière de légionelles et d'élaborer un programme d'amélioration du réseau et de décolonisation si nécessaire.

En l'absence de méthode idéale, le choix de la méthode de désinfection sera fonction des possibilités d'application dans l'établissement.

MOTS CLES :

Légionellose
Prévention
Législation
Infection hospitalière
Eau

**ADRESSE DE L'U.F.R. : 8, Rue du Général SARRAIL
94010 CRETEIL CEDEX**

UNIVERSITE PARIS VAL DE MARNE
FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

ANNEE 2001

N°

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE
DOCTEUR EN MEDECINE
Discipline : Médecine Générale

Présentée et soutenue publiquement le
à CRETEIL (PARIS XII)

Par Catalin Constantin FLOREA
Né le 20 Novembre 1969 à Constantza

TITRE :

LA LEGIONELLOSE : MESURES DE LUTTE ET DE
PREVENTION CONTRE LA TRANSMISSION DE LA
MALADIE A L'HOPITAL.

DIRECTEUR DE THESE :

Monsieur le Docteur O. GILHODES

LE CONSERVATEUR DE LA

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE

Signature du
Directeur de thèse

Cachet de la bibliothèque
Universitaire

A toute ma famille,

A tous mes amis.

A Monsieur le Docteur Olivier GILHODES, qui nous a fait
l'honneur de diriger cette thèse avec patience et
bienveillance à notre égard.

Avec nos sincères remerciements pour ses riches
enseignements.

Aux membres jury, nous sommes sensibles à l'honneur que vous
nous faites en acceptant de participer à ce jury de thèse.

TABLE DES MATIERES

I – INTRODUCTION	9
II - PATHOLOGIES LIEES AUX <i>LEGIONELLA</i>	10
II – 1. <u>LA MALADIE DES LEGIONNAIRES</u>	10
II – 1.1 Incubation	10
II – 1.2 Manifestations cliniques	11
II – 1.3 Anatomopathologie	12
II – 1.4 Examens complémentaires	14
II – 1.5 Traitement	15
II – 2. <u>LA FIEVRE DE PONTIAC</u>	18
III – ETIOLOGIE	19
III – 1. <u>ECOLOGIE DES <i>LEGIONELLA</i></u>	19
III – 2. <u>LES EQUIPEMENTS IMPLIQUES DANS LA CONTAMINATION</u>	22
IV - TRANSMISSION	24
V - EVALUATION DU RISQUE	25
VI - DEFINITION DES CAS	25
VI – 1. <u>CAS ISOLEES DE LEGIONELLOSE</u>	26
VI – 2. <u>CAS GROUPES DE LEGIONELLOSE</u>	27
VI – 3. <u>LEGIONELLOSE NOSOCOMIALE</u>	27
VII – EPIDEMIOLOGIE	28

VII – 1. <u>PREVALENCE DES <i>LEGIONELLA</i></u>	28
VII – 2. <u>FREQUENCE</u>	28
VII – 3. <u>EVOLUTION DE L'INCIDENCE</u>	29
VII – 4. <u>METHODES DE DIAGNOSTIC</u>	30
VII – 5. <u>REPARTITION PAR AGE ET SEXE</u>	31
VII – 6. <u>FACTEURS PRE-DISPOSANTS</u>	31
VII – 7. <u>EXPOSITION A RISQUE</u>	31
VII – 8. <u>PRONOSTIC DE LA MALADIE</u>	32
VII – 9. <u>CAS GROUPES</u>	32
VIII – DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	33
VIII – 1. <u>ECHANTILLONS BIOLOGIQUES</u>	33
VIII – 2. <u>DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE</u>	34
VIII – 2.1 Intérêts et limites de la méthode	35
VIII – 3. <u>CULTURE</u>	36
VIII – 3.1 Types de prélèvements	38
VIII – 3.2 Intérêts et limites	38
VIII – 4. <u>IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE</u>	39
VIII – 4.1 Types de prélèvements	39
VIII – 4.2 Intérêts et limites	40
VIII – 5. <u>DETECTION PAR AMPLIFICATION GENOMIQUE (PCR)</u>	40
VIII – 5.1 Intérêts et limites	41

VIII – 6. <u>RECHERCHE D’ANTIGENE SOLUBLE URINAIRE</u>	41
VIII – 6.1 Technique radio-immunologique	41
VIII – 6.2 Technique immuno-enzymologique	42
VIII – 6.3 Technique immuno-chromatographique	42
<i>Principes du test NOW Legionella BINAX</i>	42
<i>Interprétation de résultats</i>	43
<i>Recueil de l’échantillon</i>	44
<i>Intérêts et limites</i>	44
IX – MODALITES DU SYSTEME DE SURVEILLANCE DE LA LEGIONELLOSE EN FRANCE	46
IX – 1. <u>DECLARATION OBLIGATOIRE</u>	46
IX – 2. <u>ORGANISATION DU SYSTEME DE SURVEILLANCE</u>	49
X – INVESTIGATION DES CAS DE LEGIONELLOSE	51
X – 1. <u>LEGIONELLOSE NOSOCOMIALE</u>	53
X – 2. <u>LEGIONELLOSE COMMUNAUTAIRE</u>	53
XI – ENQUETE ENVIRONNEMENTALE	54
XI – 1. <u>EXPERTISE DES SOURCES POTENTIELLES DE CONTAMINATION</u>	54
XI – 2. <u>RECHERCHE DE <i>LEGIONELLA</i> DANS L’ENVIRONNEMENT</u>	55
XI – 2.1 Lieux de prélèvement	55
XI – 2.2 Modalités de prélèvement	56
XI – 2.3 Modalités de transport	57
XI – 2.4 Recherche et numération des <i>Legionella</i> dans l’eau	57
XI – 2.5 Seuils admissibles	60
XI – 2.6 Conclusion	60
XII – MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION AU NIVEAU DES CIRCUITS D’EAU CHAUDE SANITAIRE	61

XII – 1. <u>MESURES DE LUTTE A COURT TERME</u>	61
XII – 2. <u>MESURES DE PREVENTION A LONG TERME</u>	64
XIII – MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION AU NIVEAU DES TOURS AERO-REFRIGERANTES ET DES SYSTEMES DE CLIMATISATION	68
XIII – 1. <u>LES TOURS AERO-REFRIGERANTES</u>	68
XIII – 1.1 Mesures de lutte à court terme	68
XIII – 1.2 Mesures de prévention à long terme	69
XIII – 2. <u>LES SYSTEMES DE CLIMATISATION A BATTERIES</u>	69
XIII – 2.1 Mesures de lutte à court terme	70
XIII – 2.2 Mesures de prévention à long terme	70
XIV – MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION AU NIVEAU DU SERVICE HOSPITALIER	71
XIV – 1. <u>MESURES CONCERNANT L'OXYGENOTHERAPIE NASALE, LA VENTILATION ARTIFICIELLE, L' AEROSOL ET LA NEBULISATION</u>	71
XIV – 2. <u>MESURES CONCERNANT LES APPAREILS D'ENDOSCOPIE</u>	73
XIV – 3. <u>MESURES CONCERNANT LES PATIENTS ET LE PERSONNEL HOSPITALIER</u>	74
XV – DISCUSSION	75
XV – 1. <u>STRATEGIES GENERALES DE PREVENTION ET DE TRAITEMENT</u>	75
XV – 2. <u>EFFICACITE DES MOYENS MIS EN ŒUVRE</u>	77
XV – 3. <u>INTERET DE LA SURVEILLANCE REGULIERE DES RESEAUX DE DISTRIBUTION D'EAU</u>	78
XVI – CONCLUSION	79
BIBLIOGRAPHIE	81

I - INTRODUCTION

Le terme " **maladie des légionnaires** " se rapporte à une épidémie de pneumopathies sévères survenant chez 221 personnes et provoquant 34 décès, au cours du 58^{ème} congrès de l' AMERICAN LEGION (anciens combattants) à l'hôtel BELLEVUE-STRATFORD de PHILADELPHIE, entre le 22 juillet et 3 août 1976 (28).

D'abord appelé *agent de la maladie des légionnaires*, le germe s'est révélé être une nouvelle espèce de bactérie, et fut dénommé par la suite *Legionella pneumophila*. Le sérotypage a montré que cet organisme était responsable de précédentes épidémies de pneumopathies, y compris 20 cas de pneumopathies graves parmi les participants d'un congrès dans ce même hôtel de PHILADELPHIE en 1974 (28).

Par ailleurs, en juillet 1968, 144 employés et visiteurs d'un bâtiment des services de santé à PONTIAC dans le MICHIGAN ont présenté une affection spontanément résolutive qui comportait fièvre, myalgies, céphalées, malaise. Cette affection fut donc nommée *fièvre de Pontiac* (77).

L'hypothèse de la contamination par l'intermédiaire du système de traitement de l'air avait été rapidement évoquée. Depuis ces épidémies, de nombreux travaux internationaux ont permis de mieux préciser les aspects cliniques et épidémiologiques des légionelloses.

Il est maintenant établi que la légionellose est une pneumopathie aiguë due à l'inhalation d'aérosols provenant d'eaux colonisées par des légionelles.

En milieu hospitalier, les douches sont le plus souvent mises en cause. De même, plusieurs épidémies (58,79) ont impliqué des aérosols d'humidificateurs d'air, ou des systèmes de ventilation assistée, ainsi que les tours de refroidissement des systèmes de climatisation, situées sur les toits. Ces tours peuvent libérer des panaches contaminés qui disséminent à l'extérieur et l'intérieur du bâtiment par l'intermédiaire de prises d'air de climatisation proches des tours.

Le but de cette étude est de décrire les moyens de lutte et de prévention disponibles à ce jour, contre la transmission de cette maladie en milieu hospitalier, après avoir décrit les outils de diagnostic sur des prélèvements à la fois cliniques et environnementaux.

II - PATHOLOGIES LIEES AUX *LEGIONELLA*

Parmi les pathologies liées à l'infection par les *Legionella*, on distingue la maladie des légionnaires, la fièvre de Pontiac et les formes extrapulmonaires. L'ensemble des maladies provoquées par ces organismes s'appelle légionellose.

II – 1. LA MALADIE DES LEGIONNAIRES :

C'est une pneumopathie aiguë, qui est la maladie-type provoquée par *Legionella pneumophila*.

II – 1.1 Incubation :

La période d'incubation de la maladie varie de 2 à 10 jours (habituellement 5 à 6 jours) (39).

II – 1.2 Manifestations cliniques :

La pneumopathie commence généralement de façon brutale par une sensation de malaise, des céphalées, des myalgies, et une altération de l'état général . La fièvre et des frissons intermittents apparaissent 24 heures plus tard, la température dépassant 40°C chez plus de la moitié des patients. Une toux non productive est fréquente (39,77).

Environ la moitié des sujets atteints ont une expectoration peu abondante et peu purulente, et chez un tiers d'entre eux peut se produire une hémoptysie de faible abondance. La douleur thoracique de type pleural associée à la dyspnée peut faire suspecter une embolie pulmonaire. Une bradycardie relative est fréquente (77).

Les symptômes gastro-intestinaux comportent diarrhée, nausées, vomissements et douleurs abdominales (22,77).

Les troubles des fonctions supérieures évocatrices d'une encéphalopathie toxique peuvent se manifester par une confusion, une désorientation, une léthargie, des hallucinations, une dépression, un délire, une obnubilation et un coma (39). Les convulsions sont rares. Une atteinte des nerfs crâniens ou périphériques et des signes cérébelleux peuvent s'observer.

L'auscultation pulmonaire retrouve des râles bronchiques et parfois des crépitants (22,39)

Les complications et manifestations systémiques comprennent abcès pulmonaire, insuffisance respiratoire, hypotension, choc, coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), rhabdomyolyse, microangiopathie thrombotique et insuffisance rénale (77).

Les légionelles peuvent également être responsables d'infections extra - pulmonaires liées à la bactériémie contemporaine de la pneumopathie ou à l'exposition locale à de l'eau contaminée, parmi lesquelles péricardite, myocardite, pyélonéphrite, pancréatite, sinusite, péritonite, et infections de fistules d'hémodialyse (39,70). Des abcès du foie, de la peau et de la région périrectale, ainsi que des plaies postopératoires ont été signalés. *Legionella pneumophila* peut être responsable d'endocardites subaiguës et chroniques sur prothèses valvulaires avec abcès de

l'anneau et du myocarde. La transmission du germe se fait en période périopératoire et l'infection primitive peut ressembler à un syndrome post-péricardiotomie (78). Le site extra-pulmonaire le plus fréquent est le cœur (39,77).

L'évolution de la maladie est déterminée par les facteurs de virulence de la bactérie, la taille de l'inoculum aérosolisé et par la compétence immunitaire de l'hôte(39).

II – 1.3 Anatomopathologie :

Les légionelles peuvent être éliminées par l'appareil mucociliaire. La colonisation asymptomatique n'existe pas, et au cours de la maladie, les anomalies anatomopathologiques sont limitées aux voies respiratoires inférieures (74). Les dépôts alvéolaires de l'aérosol lui-même, ainsi que des facteurs comme le tabac, qui altère la clairance mucociliaire, permettent au germe d'infecter les macrophages alvéolaires (22).

Les légionelles sont des parasites intracellulaires facultatifs des monocytes et des macrophages. Ces micro-organismes activent le complément par la voie classique, mais sont résistants à la lyse. Les phagocytes mononucléés ingèrent *Legionella pneumophila* par un mécanisme appelé phagocytose par enroulement, par l'intermédiaire des récepteurs du complément CR1 et CR3, après dépôt de C3 sur la protéine membranaire externe majeure de la bactérie. Une protéine de surface appelée facteur de potentialisation de l'infectiosité vis-à-vis des macrophages (MIP) est capable, expérimentalement, d'accroître l'infectiosité et la virulence. Des protéines de type MIP existent chez toutes les espèces de légionelles (39).

Les micro-organismes phagocytés inhibent la fusion des phagosomes aux lysosomes primaires et secondaires, empêchant le transfert des substances antibactériennes dans le phagosome et perturbant l'acidification de la vacuole. Les germes se divisent par fission binaire dans des vacuoles qui contiennent les ribosomes de l'hôte, et sont entourés par des granules de glycogène et des mitochondries. La réplication continue aboutit à une lyse de la cellule mononucléée et à l'extension de l'infection aux cellules voisines.

Des neutrophiles et des monocytes sont recrutés au niveau du foyer inflammatoire en développement, mais ils sont incapables d'inhiber la croissance bactérienne de façon efficace. Des anticorps spécifiques sont sécrétés, mais le germe est résistant à la lyse par les anticorps et le complément. La phagocytose est accrue par les anticorps spécifiques, et donc favorise la situation intracellulaire des bactéries(22,39).

A partir du site initial, l'infection s'étend par voie endobronchique, hémotogène, lymphatique, et par contiguïté. Une bactériémie se produit chez un tiers des patients atteints de légionellose. Elle est à l'origine de presque toutes les infections extra-pulmonaires (24).

Comme dans d'autres infections dues à des germes intracellulaires, l'infection à légionelle est maîtrisée quand apparaît l'immunité cellulaire. Les lymphocytes T activés sécrètent des facteurs activateurs du macrophage, surtout l'interféron qui permet aux cellules d'inhiber la réplication intracellulaire. Les cellules *Natural Killer*, activées par l'interleukine 2, sont également capables de détruire les monocytes infectés par les légionelles *in vitro*. L'importance de l'immunité cellulaire est illustrée par l'incidence accrue et la sévérité des légionelloses chez les patients immunodéprimés, particulièrement les patients transplantés (24,39).

Macroscopiquement, les lésions de bronchopneumopathie varient d'un aspect de petites lésions lobaires disséminées à une condensation multilobaire beaucoup plus étendue, avec parfois des lésions rondes et nodulaires. Une pleurésie et des épanchements séro-hématiques peu abondants sont fréquents (39).

Microscopiquement, l'infection se caractérise par une alvéolite et une bronchiolite très importantes. Les alvéoles sont remplies de polynucléaires et de fibrine. On peut mettre en évidence le germe par immunofluorescence directe. Il est surtout présent à l'intérieur des phagocytes. Les parois alvéolaires et l'espace interstitiel sont épaissis par l'œdème et l'infiltration des cellules inflammatoires. Une forme plus sévère de la maladie, avec lésions alvéolaires diffuses et formation de membranes hyalines, se produit chez les patients immunodéprimés. Les anomalies

histologiques ne progressent pas des bronchioles proximales vers les bronchioles distales, ce qui est cohérent avec l'inoculation par aérosol (39).

Les lésions anatomo-pathologiques sont habituellement limitées au poumon. On ne retrouve pas d'anomalie dans le tissu cérébral même en cas d'anomalie neurologique (77).

II – 1.4 Examens complémentaires :

La pneumopathie à légionelle s'accompagne généralement d'une hyperleucocytose avec polynucléose neutrophile (39). Le nombre total de leucocytes dépasse 20 000 cellules par microlitre dans 10 à 20 % des cas. Une lymphopénie ou une leucopénie sont moins courantes (72).

Parmi les anomalies biologiques, la légionellose est associée à l'hyponatrémie dans environ 50 % des cas (82). Elle est plus fréquente dans la légionellose que dans les autres causes de pneumonies et est considérée par certains comme un signe d'orientation (24,77).

On peut également trouver une hypophosphatémie, une hyperazotémie, une hématurie microscopique, une protéinurie et des anomalies des fonctions hépatiques, comme une élévation des transaminases (39).

L'examen du LCR est habituellement normal, bien qu'on ait signalé une hyperprotéinorachie (24).

Enfin, l'hypoxémie témoigne du degré d'insuffisance respiratoire.

La radiographie thoracique effectuée au début de la maladie peut montrer des infiltrats diffus ou des opacités nodulaires mal limitées. Les infiltrats sont bilatéraux chez environ 50 % des patients. Les atteintes lobaires ou segmentaires sont les plus fréquentes. Un épanchement pleural peu abondant existe dans 20 à 50 % des cas (22). Les abcédations s'observent rarement, sauf chez les patients immunodéprimés.

Cependant, au cours de la pneumopathie à légionelle aucune anomalie biologique ou radiologique n'est spécifique, et pour EDELSTEIN P. (22) et ROING J. (72), ces anomalies ne sont pas significativement différentes, et ne permettent pas de distinguer la maladie des légionnaires des autres types de pneumopathies.

II – 1.5 Traitement :

L'érythromycine est considérée comme le traitement de référence de la légionellose, depuis l'analyse rétrospective de l'épidémie initiale de Philadelphie (8). En effet la cohorte de patients traités par de l'érythromycine ou la tétracycline avait un taux de mortalité deux fois plus faible que celle traitée par bêtalactamines (28).

C'est principalement la mauvaise pénétration intracellulaire des bêtalactamines qui explique leur inefficacité dans le traitement de la légionellose (8,17).

En cas d'infection sévère, il est recommandé d'administrer 4 grammes par jour d'érythromycine, en perfusion intra-veineuse. La posologie doit être réduite en cas d'insuffisance hépatique ou rénale pour éviter l'ototoxicité (17).

Chez les patients immunodéprimés et/ou atteints de formes sévères, on associe au traitement précédent de la rifampicine à la dose de 20 à 30 mg /kg/jour. Si possible, les traitements immunosuppresseurs doivent être interrompus. Une réponse au traitement survient en 24 à 48 heures, bien que la fièvre puisse persister une semaine (39).

Après l'amélioration, la posologie d'érythromycine peut être réduite à 2 grammes par jour par voie orale, pour une durée totale de 3 semaines. Des traitements plus courts exposeraient à des risques de rechutes (17).

Plusieurs études cliniques, non contrôlées, ont montré l'efficacité de l'azithromycine et de la clarithromycine dans le traitement des légionelloses communautaires ou nosocomiales. Ces macrolides entraînent également moins d'effets secondaires que l'érythromycine, et ont des propriétés pharmacocinétiques supérieures (31,74). Cependant l'inconvénient majeur de ces nouveaux macrolides réside dans l'absence de formes injectables disponibles en France. L'azithromycine est prescrite à la posologie de 500 mg par jour *per os*, la clarithromycine à la dose de 500 ou 1000 mg par jour (8,74).

Les fluoroquinolones (ofloxacin, pefloxacin, ciprofloxacine) présentent les mêmes avantages que les nouveaux macrolides par rapport à l'érythromycine. De nombreux succès avec chacune de ces fluoroquinolones ont été rapportés (77).

Des échecs avec la ciprofloxacine et l'ofloxacin ont également été constatés, mais ils peuvent être rattachés soit à une posologie inadéquate, soit à un état d'immunodépression avancé (17).

Les posologies recommandées sont les suivantes : ofloxacin 800 mg par jour par voie intraveineuse ou *per os*, ciprofloxacine 400 mg toutes les 8 heures par voie intraveineuse ou 750 mg deux fois par jour *per os* (17).

L'efficacité d'autres antibiotiques (imipénème, triméthoprime-sulfaméthoxazole, clindamycine) a parfois été décrite dans des cas isolés (77).

Dans tous les cas un traitement antibiotique adapté doit être précocement prescrit, car les échecs sont principalement imputés au retard de prise en charge adéquate de la maladie (31) .

Les antibiotiques efficaces sont ceux qui diffusent facilement dans les phagocytes. On suppose que leur rôle est d'interrompre la multiplication intracellulaire jusqu'à ce qu'une immunité cellulaire efficace se développe (8).

Les endocardites à légionelles sur prothèse valvulaire nécessitent généralement un remplacement valvulaire et une antibiothérapie prolongée, de 3 à 12 mois (78).

En complément du traitement antibiotique, un traitement symptomatique s'impose en fonction des complications observées.

Une antibioprophylaxie est parfois proposée aux patients présentant des facteurs de risque, après identification d'un premier cas de légionellose nosocomiale dans l'entourage, jusqu'à obtention de la désinfection du réseau d'eau ou de la disparition du risque d'exposition (31).

Le 16 Avril 1999, la Section des Maladies Transmissibles du Conseil d'Hygiène Publique de France a émis un avis sur la place de l'antibioprophylaxie dans la prévention des légionelloses nosocomiales : " l'antibioprophylaxie de la légionellose n'étant actuellement justifiée par aucun argument scientifique, elle ne saurait être mise en œuvre à titre systématique devant la présence de légionelles dans l'eau. Cependant, en cas d'épidémie de légionellose nosocomiale, en sus des mesures de décontamination du réseau et de protection des patients contre l'exposition, une antibioprophylaxie par un macrolide peut se concevoir chez les sujets à risque ".

II – 2. **LA FIEVRE DE PONTIAC :**

A côté de cette forme grave, on décrit la fièvre de Pontiac qui débute de la même façon (syndrome pseudo-grippal, myalgies, céphalées), mais qui ne s'accompagne pas d'atteintes pulmonaires et ne met donc pas en jeu le pronostic vital. Après une période d'incubation de 5 heures à 3 jours la guérison survient spontanément en 2 à 3 jours, sans aucun traitement (35). La fièvre de Pontiac ne concerne pas le sujet de ce travail.

III - ETIOLOGIE

Les *Legionella* appartiennent à la famille des *Legionellaceae*, comportant un seul genre *Legionella* et actuellement d'après le Centre National de Référence des Légionelles, 42 espèces et 64 séro-groupes. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aérobies, non encapsulés, mesurant 0.3 à 0.9 µm de large et 2 à 5 µm de long. Ils ne sporulent pas, et la plupart sont mobiles grâce à leur flagelle polaire ou sous-polaire. La microscopie électronique révèle de multiples pili émanant de la surface (39,75).

Les légionelles ont des besoins complexes pour leur croissance, et ne poussent pas sur les milieux de culture usuels. Toutes les espèces nécessitent un apport en L-cystéine et en sels de fer, et se développent mieux à un pH de 6,8 à 7,0. Les légionelles présentent une dépendance peu commune vis-à-vis des acides aminés (et non pas des hydrates de carbone), source d'énergie et de carbone (39,75).

Leurs acides gras contiennent une proportion inhabituelle d'acides ramifiés, ce qui permet une identification par chromatographie en phase gazeuse ou liquide (39).

III – 1. ECOLOGIE DES LEGIONELLA :

Ces bacilles à Gram négatif, ont pour habitat naturel l'eau. Ils ont été isolés de la plupart des milieux aquatiques naturels (lacs, rivières, fleuves, étangs, eaux thermales) et même dans le sol. Leur température optimale de croissance est de l'ordre de 35° à 40° C. Aux alentours de 45° C, la multiplication se ralentit, mais il faut atteindre une température avoisinant 60° C pour les détruire (75).

Inversement, lorsque la température décroît, les *Legionella* ralentissent ou stoppent leur multiplication mais ils survivent, ce qui explique qu'on puisse les retrouver dans tous milieux aquatiques. Une étude américaine portant sur les eaux des lacs et des rivières a permis de détecter des *Legionella* à des températures allant de 5,7 à 63° C et à des pH compris entre 5,5 et 8,1 (27).

Leur capacité à survivre dans une large gamme de conditions physiques explique leur vaste distribution dans l'environnement hydrique. Les légionelles y

Les différentes espèces de *Legionella* (d'après 39)

Famille	Genre	Espèces	sérogroupe	isolé chez l'homme
Legionellaceae	Legionella	<i>L. adelaidensis</i>	1	non
		<i>L. anisa</i>	1	oui
		<i>L. birminghamensis</i>	1	oui
		<i>L. bozemanii</i>	1,2	oui
		<i>L. brunensis</i>	1	non
		<i>L. cherrii</i>	1	oui
		<i>L. cincinnatiensis</i>	1	oui
		<i>L. dumofii</i>	1	oui
		<i>L. erythra</i>	1,2	oui
		<i>L. fairfieldensis</i>	1	oui
		<i>L. feeleii</i>	1,2	non
		<i>L. geestiana</i>	1	oui
		<i>L. genomospecies 1</i>		non
		<i>L. gormanii</i>	1	oui
		<i>L. gratiana</i>	1	non
		<i>L. hackeliae</i>	1,2	oui
		<i>L. israelensis</i>	1	non
		<i>L. jamestowniensis</i>	1	non
		<i>L. jordanis</i>	1	oui
		<i>L. lansingensis</i>	1	oui
		<i>L. londiniensis</i>	1	non
		<i>L. longbeachae</i>	1,2	oui
		<i>L. lytica VNC</i>		non
		<i>L. maceachernii</i>	1	oui
		<i>L. micdadei</i>	1	oui
		<i>L. moravica</i>	1	non
		<i>L. nautarum</i>	1	non
		<i>L. oakridgensis</i>	1	oui
		<i>L. parisiensis</i>	1	oui
		<i>L. pneumophila</i>	1 à 14	oui
		<i>L. quateirensis</i>	1	non
		<i>L. quinlivanii</i>	1,2	non
		<i>L. rubrilucens</i>	1	non
		<i>L. sainthelensi</i>	1,2	oui
		<i>L. santicrusis</i>	1	non
		<i>L. shakespearei</i>	1	non
<i>L. spiritensis</i>	1,2	non		
<i>L. stetgerwaltii</i>	1	non		
<i>L. tucsonensis</i>	1	oui		
<i>L. wadsworthii</i>	1	oui		
<i>L. waltersii</i>	1	non		
<i>L. worsleiensis</i>	1	non		

sont généralement détectés à de faible concentration, représentant moins de 1 % de la flore bactérienne aquatique. Ces réservoirs naturels semblent pourtant être très rarement à l'origine de la maladie, à la différence des eaux sanitaires (42).

A partir de ces réservoirs naturels, les légionelles colonisent les systèmes urbains de distribution de l'eau et y trouvent souvent des écosystèmes favorables à leur multiplication. Les réseaux d'eau chaude sanitaire constituent des milieux favorables où la température de l'eau est proche de la température idéale de prolifération de ces bactéries.

En outre, ces réseaux sont souvent extrêmement complexes. Le lieu de production de l'eau chaude est souvent éloigné des points d'usage, entraînant la stagnation de l'eau au niveau des ballons, des bras morts, et des points d'usage rarement utilisés. Cela accroît le développement des biofilms, l'accumulation de dépôts calcaires et la prolifération des protozoaires à l'intérieur de la plomberie et des robinetteries. Ces paramètres sont autant de facteurs favorisant la prolifération de *Legionella* dans les réseaux d'eau domestique (40).

L'interaction complexe entre *Legionella* et les protozoaires constitue un phénomène central dans l'écologie de ces bactéries. Trois espèces de protozoaires ciliés (*Tetrahymena*) et cinq genres d'amibes libres (*Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Hartmannella*, *Vahlkampfia*, et *Echinamoeba*) sont connues pour permettre le développement intra cellulaire des légionelles (25,26).

Habituellement, les protozoaires phagocytent les bactéries pour les consommer comme source de nutriments. A 20°C, ces protozoaires phagocytent également les légionelles, mais à partir de 35°C, *Legionella* envahit et se multiplie activement à l'intérieur des protozoaires (30,50).

Cette interaction avec les protozoaires est un facteur essentiel expliquant la présence continue de *Legionella* dans l'environnement. En effet, elle augmente largement la résistance des légionelles aux changements physico-chimiques du milieu (fluctuation de température, de pH, d'osmolarité). En outre, l'existence de *Legionella* dans les protozoaires enkystés accroît également la résistance de ces bactéries aux températures élevées et à la chloration de l'eau (61).

Les facteurs influençant l'écologie des *Legionella* doivent être parfaitement connus et ne doivent pas être négligés lors de la prise en charge d'un réseau d'eau colonisé par ces bactéries (50).

III – 2. LES EQUIPEMENTS IMPLIQUES DANS LA CONTAMINATION :

Les systèmes de traitement de l'air et les tours aéro-réfrigérantes qui leur sont associées ont été les premiers mis en cause dans la multiplication et/ou le transport de ces bactéries.

Ce sont des équipements extérieurs de refroidissement des circuits chauds. Ils sont utilisés en annexe des installations frigorifiques, en climatisation, en froid industriel ou commercial, et en refroidissement d'eau chaude. Ces systèmes rejettent d'importantes quantités d'aérosols en refroidissant l'air au contact du circuit d'eau.

Les *Legionella* peuvent coloniser les tours puis être véhiculées dans l'air extérieur par le panache qui s'en échappe. Chacun peut ainsi être exposé à un aérosol potentiellement infectieux, soit directement par voisinage, soit indirectement par l'intermédiaire d'un système de traitement d'air dont la prise d'air neuf serait proche d'une tour.

En effet, pour certaines installations mal disposées, ces aérosols contaminés sont aspirés par les ventilateurs des climatiseurs et projetés à l'intérieur des bâtiments.

Récemment, ce mode de contamination a été mis en cause lors de foyers épidémiques de légionellose survenus à Paris en Juin et Juillet 1998 pendant la coupe du monde de football, et en Août 1999 dans le 15^{ème} arrondissement de Paris (67,14).

Les bains à remous et les bains à jets utilisés dans les établissements thermaux ou les installations sportives et les saunas, les équipements médicaux pour traitements respiratoires par aérosols, les systèmes d'humidification de l'air, de climatisation, les brumisateurs pour légumes dans les magasins d'alimentation, peuvent également être en cause.

Les cabinets dentaires peuvent être également à l'origine de contamination par *Legionella* lors de l'emploi de roulettes formant des aérosols pendant les soins.

Cependant, peu d'infections ont été décrites, probablement pour plusieurs raisons : faible virulence des souches, épisode infectieux non rattaché à la source de la contamination ou se limitant à un cas de fièvre de Pontiac (4).

Les prélèvements effectués dans les systèmes de production et de distribution d'eau chaude sanitaire, notamment au niveau de chauffe-eaux, siphons, robinets, mélangeurs et pommeaux de douche, montrent la présence fréquente des *Legionella* dans l'environnement hydrique artificiel.

Une enquête concernant les équipements de production et de distribution d'eau chaude, de type collectif, en région parisienne, montre une prévalence écologique des *Legionella* de respectivement 75 % et 64 % (18).

Il semble que les plus fortes concentrations en *Legionella* soient retrouvées lorsqu'il existe des tuyauteries avec eau stagnante et/ou un circuit d'eau chaude en boucle, ce qui est surtout le cas pour les installations collectives.

Les facteurs favorisant la survie et la multiplication des *Legionella* sont donc la température de l'eau (35° à 40°C), la présence de dépôts organiques (biofilm) et de micro-organismes (amibes), la nature des matériaux favorables à leur croissance (fer, zinc, aluminium) et enfin tout circuit responsable d'une stagnation de l'eau.

Les mêmes dispositifs que ceux cités précédemment ont été mis en cause en milieu hospitalier, avec quelques particularités différentes des équipements communautaires.

L'architecture hospitalière fait que les réseaux de distribution de l'eau sanitaire sont extrêmement complexes. Ainsi, sources de production d'eau chaude éloignées des points d'usage, bras morts et points d'usage rarement utilisés entraînent des stagnations d'eau (40,61).

L'hôpital est donc le point d'émergence idéal des légionelloses, puisqu'il met en contact des patients présentant souvent des facteurs de risque cliniques et les

légionelles qui trouvent dans les circuits de distribution de l'eau un milieu propice pour se développer (45).

Plus précisément, plusieurs épidémies ont mis en cause des humidificateurs d'air, des nébuliseurs, mais également les humidificateurs des systèmes de ventilation assistée. Les bains bouillonnants, utilisés en rééducation fonctionnelle et les fontaines décoratives, parfois présentes dans les hôpitaux, ont également été impliqués (32).

Mais la source de contamination peut aussi paraître tout à fait insignifiante et nécessiter une enquête épidémiologique approfondie pour l'identifier. C'est par exemple le cas des machines fabriquant de la glace, responsables de cas de légionellose nosocomiale dans des unités de transplantation où les réseaux d'eau chaude sanitaire subissaient des mesures préventives adaptées (29).

IV - TRANSMISSION

La transmission des *Legionella* se fait par inhalation d'eau contaminée diffusée en aérosol. La présence d'aérosols infectants permet la transmission aux voies respiratoires de l'homme et constitue un facteur de dissémination (22,44).

Legionella pneumophila peut survivre plus de 2 heures dans un aérosol et a été retrouvée, portée par le vent, à plus d'un kilomètre et demi des tours de refroidissement (1). Les particules, pour être infectieuses en aérosol, doivent avoir moins de 5 µm de diamètre de sorte que l'inhalation puisse les conduire directement dans les alvéoles (39).

La seconde voie de contamination est l'instillation directe d'eau souillée dans la trachée ou les bronches. On parle alors de contamination par aspiration (80).

La contamination par ingestion d'eau n'a pas été démontrée.

Les réservoirs naturels sont très rarement à l'origine de la maladie, à la différence des eaux sanitaires qui constituent des sites de prolifération et de dissémination (27).

Les *Legionellaceae* n'ont pas de réservoir humain ou animal et il n'y a pas de transmission inter-humaine rapportée (33).

V - EVALUATION DU RISQUE

Le fait de retrouver des *Legionella* dans une eau, n'est pas une condition suffisante pour qu'il y ait systématiquement contamination humaine. Il faut que la concentration bactérienne atteigne un certain niveau, concentration qui n'est pas connue de façon précise et qui peut varier en fonction de la susceptibilité des personnes exposées et du dispositif impliqué, qu'il s'agisse du réservoir d'eau ou de la production d'aérosols.

Une contamination même faible (au niveau du seuil de détection par exemple) par des légionelles aux points d'usage peut constituer un danger sanitaire, particulièrement pour les sujets présentant des facteurs de risque en rapport avec une affection de l'appareil respiratoire ou avec la baisse de leurs fonctions immunitaires (13).

VI - DEFINITION DES CAS

Il est important de définir des critères précis confirmant le diagnostic d'un cas de légionellose. En effet, pour effectuer une surveillance épidémiologique efficace il est alors impératif de posséder des définitions consensuelles.

La circulaire DGS n° 97/311 répond à cette exigence et fournit un certain nombre de critères permettant de définir les cas déclarés de légionellose en fonction des méthodes diagnostiques utilisées (12,35).

Il est à noter que les techniques de diagnostic par amplification génique ne sont pas abordées par la circulaire du fait de l'absence de tests commerciaux actuellement disponibles sur le marché.

VI – 1. CAS ISOLES DE LEGIONELLOSE :

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

- **CAS CONFIRME :**

- ⇒ identification de *Legionella* par culture dans un prélèvement clinique ;

- ⇒ identification de *Legionella* par immuno-fluorescence directe dans un prélèvement clinique ;

- ⇒ présence d'antigène soluble de *Legionella* dans les urines ;

- ⇒ augmentation significative (x 4) des titres d'anticorps mesurés par immuno-fluorescence indirecte dans 2 sérums (2 à 5 ml sur tube sec) prélevés, le premier dès les premiers jours de la maladie, le second après 3 à 6 semaines d'évolution (35).

- **CAS POSSIBLE :**

- ⇒ titre unique élevé d'anticorps mesuré par immuno-fluorescence indirecte, ≥ 256 , quelque soit l'espèce (35).

VI – 2. CAS GROUPES DE LEGIONELLOSE :

On parle de **cas groupé** lorsqu'il y a au moins deux cas survenus dans un intervalle de temps **inférieur à 6 mois**, chez des personnes ayant fréquenté un même lieu ; au moins un de ces cas doit être confirmé. Si un intervalle de temps entre les cas est **supérieur à 6 mois**, on parlera de **cas liés**, qui ont une importance épidémiologique moindre que les cas groupés (35).

VI– 3. LEGIONELLOSE NOSOCOMIALE :

L'origine nosocomiale peut être considérée comme **certaine**, si le malade a séjourné dans un établissement pendant les **10 jours** précédant le début des signes.

L'origine nosocomiale peut être considérée comme **probable**, si le malade a séjourné dans un établissement pendant **au moins 1 jour** dans les 10 jours précédant le début des signes cliniques (35).

VII - EPIDEMIOLOGIE

VII – 1. PREVALENCE DES LEGIONELLA :

La prévalence des *Legionella* dans les installations individuelles de production et de distribution d'eau chaude sanitaire varie selon les études de 6 à 32% (2, 3, 52). Cette contamination est toujours corrélée à la température de l'eau.

Une enquête écologique française concernant essentiellement les réseaux de distribution publique et les installations collectives en région parisienne (18), a permis de montrer que **les équipements de production et de distribution d'eau chaude de type collectif et à usage sanitaire sont fréquemment contaminés par les *Legionella* (respectivement 75 % et 64 %).**

VII – 2. FREQUENCE :

Selon les travaux effectués en France ou à l'étranger, les *Legionella* sont impliquées dans **0.5 à 5 % des pneumopathies acquises dans la communauté et hospitalisées** (53, 22, 56).

En revanche, **leur incidence dans les infections nosocomiales** reste encore assez mal évaluée du fait de conditions de surveillance épidémiologiques très différentes d'un pays à l'autre et d'un hôpital à l'autre. **Les chiffres varient selon les travaux de moins de 1 % à plus de 30 %** (33 ,44).

L'espèce *Legionella pneumophila* est responsable d'environ 90 % des cas de légionellose et parmi ces cas, 80 % sont liés au séro-groupe 1, suivi du séro-groupe 6 (environ 10 %) (39,57, 73, 63).

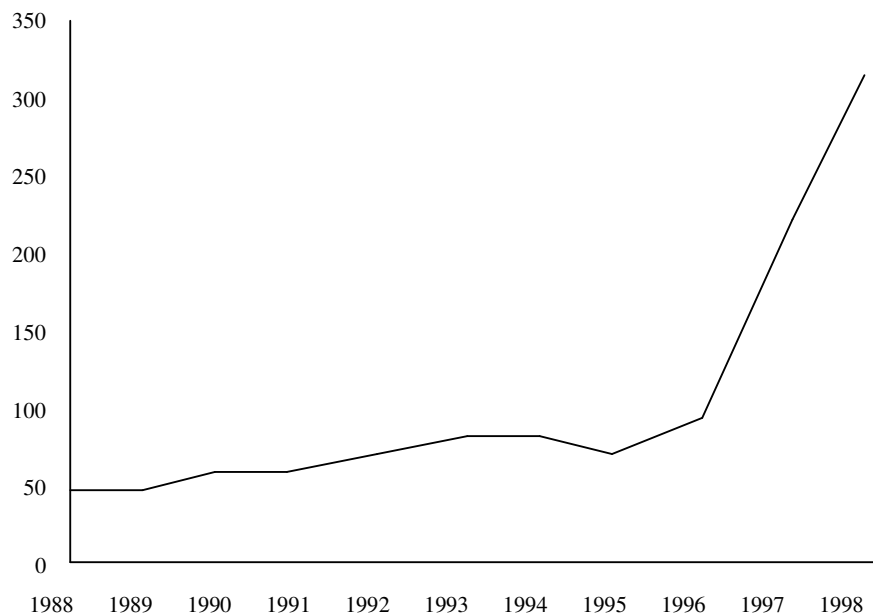
Les infections causées par les espèces autre que *Legionella pneumophila* sont rares.

Les espèces les plus fréquentes , *Legionella micdadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella longbeachae* et *Legionella dumoffii*, provoquent une pneumopathie qui ne

se distingue pas de celle due à l'espèce principale et ont été isolées principalement chez des sujets immunodéprimés (43).

VII – 3. EVOLUTION DE L'INCIDENCE :

L'incidence des cas déclarés a été de 0.55 cas pour 100 000 habitants en France en 1998 (316 cas répondant aux critères de déclaration) (10). Le nombre de cas a été multiplié par 1.53 par rapport à 1997 (206 cas, incidence : 0.35 cas pour 100 000 habitants), ceci étant possible grâce au renforcement du système de surveillance (15). Le nombre réel de cas de légionellose est estimé à 2000 à 3000 par an (35).



Evolution du nombre de cas déclarés de légionellose, France, 1988-1997(d'après 10)

L'incidence des légionelloses est plus élevée au cours de l'été, probablement à cause de la température de l'eau et de l'utilisation accrue des systèmes de refroidissement par l'eau qui transmettent le germe. Ainsi, en 1998, 58 % des cas ont été déclarés entre juin et octobre.

En dehors des différences climatiques et de l'impact des stratégies de prévention, il est probable que les grandes variations dans les incidences rapportées

dans les pays européens - de 0.01 à 3 cas pour 100 000 habitants (43) - reflètent aussi les différences importantes à la fois dans les caractéristiques de la surveillance et dans l'utilisation des techniques diagnostiques.

VII – 4. METHODES DE DIAGNOSTIC :

Le fait que les tests de détection de l'antigène dans les urines n'étaient pas disponibles en France jusqu'en 1996, alors qu'ils représentaient 20 % à 30 % des cas déclarés en 1995 dans les autres pays européens, illustre les différences de pratiques diagnostiques (43). Ces tests ont été autorisés sur le marché français et ajoutés comme critère de confirmation dans la déclaration de la légionellose en 1997.

Un isolement de *Legionella* a été obtenu chez 26 % des cas en 1998. Ce pourcentage est en baisse depuis 1996 où l'isolement représentait 36 % des méthodes diagnostiques. Pour les autres cas, en 1998, le diagnostic a été confirmé soit par séroconversion (30 %), soit par immunofluorescence directe positive (3 %) soit par détection de l'antigène urinaire (27 %), ce dernier test étant de plus en plus utilisé en France. Par comparaison, il ne représentait que 17 % des cas diagnostiqués en 1997 (10).

Répartition des cas de légionellose par type de diagnostic, en France, 1988-1998
(d'après 10,15)

Diagnostic	1988-95 (%)	1996 (%)	1997 (%)	1998 (%)
Isolement	33	36	29	26
Séroconversion*	50	53	41	30
Antigène urinaire	/	/	17	27
Immunofluorescence directe	/	/	5	3
Titre unique > 256	/	/	8	14
Non précisés	17	10	/	/
Total (nombre de cas)	406	80	206	316

* de 1988 à 1996, séroconversion et titre unique élevé n'étaient pas différenciés

VII – 5. **REPARTITION PAR AGE ET SEXE :**

L'âge médian des cas est de 55 ans (extrême 4 – 93 ans). L'incidence augmente avec l'âge et est maximale dans le groupe d'âge des 70 – 79 ans. Le rapport d'incidence homme / femme a été de 3.4 en 1998 (également 3,4 sur la période 88 à 96) (10). La maladie est peu fréquente chez l'enfant (2 cas de 4 et 7 ans) (10).

VII – 6. **FACTEURS PRE-DISPOSANTS :**

La présence d'un ou plusieurs facteurs favorisants est retrouvée chez 67 % des malades : 12 % présentent un cancer ou une hémopathie, 13 % prennent des corticoïdes ou d'autres traitements immunosuppresseurs, 7 % sont diabétiques, 37 % sont des fumeurs. 25 % des patients ont le tabagisme comme seul facteur favorisant et dans 8 % des cas l'alcoolisme a été notifié comme facteur isolé ou associé (10).

Bien que la légionellose ait été initialement considérée comme étant une importante cause d'infections respiratoires chez le patient sidéen, il a été montré à plusieurs reprises que l'incidence de celle-ci était faible dans cette population (5, 7,21)

VII – 7. **EXPOSITION A RISQUE :**

Outre les facteurs de risque individuels, l'exposition plus ou moins prolongée à des sources de contamination est recensée comme une situation à risque.

Ainsi, une exposition à risque est rapportée pour 50 % des malades. 11 % des patients rapportent un séjour dans un hôtel ou un camping dans les 10 jours précédant le début de la maladie, 21 % dans un hôpital, 2 % dans un établissement thermal. Dans 10 % des cas , on note un séjour dans une maison de retraite, une exposition sur le lieu de travail ou lors des loisirs. Pour 5 % des cas, il a été rapporté un séjour dans un pays étranger sans précision sur le lieu d'hébergement (10).

VII – 8. PRONOSTIC DE LA MALADIE :

La létalité a été de 23 % en 1998. Près de la moitié des décès sont survenus dans les 2 semaines après les premiers signes (10). En 1996 la létalité était de 16 % et de 20 % en 1997 (15).

Le principal facteur de risque de décès semble être la mise en place différée d'une antibiothérapie efficace.

Incidence sur la mortalité du délai écoulé avant l'hospitalisation ou la mise en place d'une antibiothérapie active sur Legionella (d'après 31)

Délai entre l'apparition des 1 ^{ers} symptômes et :	Patients survivants n=29	Patients décédés n=10	p
L'hospitalisation	5 jours	7 jours	<0,02
Le début du traitement antibiotique adapté	1 jour	5 jours	<0,001

Les patients qui survivent n'ont le plus souvent aucune séquelle. La récupération complète de la fonction respiratoire est habituelle, bien que des cas de fibrose pulmonaire avec insuffisance respiratoire chronique aient été signalés (31).

VII – 9. CAS GROUPES :

En juin 1998, une épidémie est survenue à Paris. Vingt cas furent identifiés. L'origine de la contamination était le panache d'une tour aéro-réfrigérante (67).

Au cours de l'année 1998, cinq cas nosocomiaux sont survenus dans un même hôpital parisien. Ces cas groupés ont été investigués par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'hôpital qui a mis en évidence comme source de contamination le réseau d'eau chaude sanitaire. Des mesures appropriées ont alors été prises (10).

En mars 1998, trois cas ont été signalés chez des personnes ayant séjourné dans un hôtel à Istanbul. A la demande de l'agence de voyage, une enquête environnementale a été réalisée par le Centre National de Référence des *Legionella* de Lyon dans différents hôtels d'Istanbul ; les analyses des prélèvements de l'hôtel en cause étaient négatives (10).

VIII – DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic de certitude de légionellose repose, à l'heure actuelle, essentiellement sur les données microbiologiques recueillies à l'aide de plusieurs techniques différentes : sérologie, culture, immunofluorescence directe, amplification génique, antigène soluble urinaire.

VIII – 1. ECHANTILLONS BIOLOGIQUES :

Cliniquement les légionelloses se présentent essentiellement comme des infections pulmonaires aiguës.

Divers prélèvements respiratoires peuvent être effectués : expectoration, ponction trans-trachéale, lavage broncho-alvéolaire, brossage bronchique protégé, aspiration distale, liquide pleural, biopsie pulmonaire.

Pour certains échantillons riches en *Legionella* (biopsie pulmonaire, brossage bronchique), l'examen est réalisé directement. Dans d'autres cas, il est nécessaire de concentrer l'échantillon en raison du petit nombre de bactéries présentes (lavage broncho-alvéolaire, aspiration trans-trachéale ou distale, drainage thoracique, liquide

pleural). L'échantillon est centrifugé à 2 000 tours / min pendant 15 minutes. Il n'est pas recommandé de centrifuger les expectorations (75).

VIII – 2. DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE :

Les malades souffrant de légionellose produisent habituellement des anticorps vis-à-vis de multiples antigènes de *Legionella*. Les anticorps apparaissent le plus souvent une semaine après le début de l'infection, et la séroconversion survient 3 à 6 semaines après l'apparition des premiers symptômes. De ce fait le diagnostic sérologique reste très souvent un diagnostic rétrospectif (22,77).

La technique de l'immunofluorescence indirecte, mise au point par Mac Dade lors de l'épidémie de Philadelphie, est la méthode de référence (75).

Les anticorps sont détectés en mettant en contact le sérum du patient avec des bactéries tuées, puis en révélant les anticorps fixés par un immuno-sérum anti-immunoglobuline humaine, marqué à l'isothiocyanate de fluorescéine. Deux types de préparations antigéniques sont disponibles :

- un antigène préparé selon la méthode de Wilkinson au C.D.C. (Centers for Disease Control) à partir de culture sur milieu BCYE et thermo-inactivé (75).

- un antigène préparé selon la méthode de Taylor (Public Health Laboratory), à partir de cultures sur sacs vitellins d'œufs de poules embryonnés et formolés (75). Le CNR de Lyon utilise ce dernier type de préparation antigénique(39).

En raison de la prévalence élevée des anticorps dans la population et de la persistance des anticorps durant des mois, même des années, après une infection, les critères d'interprétation du sérodiagnostic sont très stricts.

L'étude de la réponse immunologique ne permet pas de préciser le stade d'évolution de la maladie, car les IgM et les IgG apparaissent en même temps, et les IgM persistent très tardivement chez les malades (39).

La sensibilité de la sérologie avec augmentation des titres d'anticorps de 4 fois, est de 75 % (22) et la spécificité de 95 % à 99 % (22).

Pour un titre unique élevé précoce (≥ 256), la sensibilité est très faible, inférieure à 10 % et la spécificité de 94 % avec une VPP (valeur prédictive positive) de 15 % et une VPN (valeur prédictive négative) de 91 % (39,68). Pour un titre unique élevé tardif la sensibilité est de 65 % et la spécificité est de 94 % avec une VPP de 54 % et une VPN de 96 % (39,68).

D'autres techniques de sérodiagnostic ont été évaluées, comme les méthodes immuno-enzymatique (ELISA) ou la micro-agglutination; cependant elles ne sont pas encore standardisées (39).

VIII – 2.1 Intérêts et limites de la méthode

La sérologie permet des diagnostics rétrospectifs lors de la recherche de cas groupés. Elle est aussi précieuse pour l'investigation d'épidémies ou pour l'étude de la séroprévalence dans une population (77).

En l'absence d'épidémie, la prévalence des anticorps anti- *Legionella pneumophila* dans la population saine ne dépasse pas 2,5% (22).

La montée du titre des anticorps est indispensable pour confirmer le diagnostic. Celle-ci peut être tardive, 2 à 10 semaines après l'infection. En cas de légionellose de faible gravité, il n'est pas rare que le patient ait quitté l'hôpital avant la sérologie de contrôle.

Des réactions croisées nombreuses ont été décrites avec les mycobactéries, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Citro-bacter*, *Campylobacter* et *Coxiella burnetti* (22,39).

VIII – 3. CULTURE :

C'est la méthode de référence pour le diagnostic direct de légionellose.

En 1995, plus de 1 cas sur 5 en Europe ont été diagnostiqués par cette méthode (43).

Les prélèvements, en quantité suffisante – 3 à 5 ml – pour pouvoir être concentrés, doivent être portés au laboratoire le plus rapidement possible. Le milieu de base recommandé pour la culture des *Legionella* est la gélose BCYE- α (Buffer Charcoal Yeast Extract). Il contient comme élément spécifique du charbon qui agit comme détoxifiant et un tampon acide permettant de stabiliser le pH du milieu à 6.9, nécessaire à une croissance optimale. Les facteurs de croissance indispensables, comme le pyrophosphate de fer, le chlorhydrate de L.cystéine et l'alpha céto-glutarate sont apportés sous forme de supplément (45).

Pour les échantillons polymicrobiens, la sélectivité du milieu peut être assurée par l'incorporation d'un mélange inhibiteur comprenant 3 antibactériens (vancomycine, colimycine, céfalotine) et un antifongique (cyclohexamide) (75).

L'incubation se fait à 35° C, en présence de CO₂ (2.5%). Les colonies apparaissent en général en 3 à 4 jours et ont un aspect de verre fritté ; puis elles grossissent, deviennent polymorphes, grisâtres et visqueuses. A la coloration de Gram, les *Legionella* présentent un polymorphisme important, avec des formes bacillaires courtes et des longs filaments (45,75).

L'identification des *Legionella* se fait ensuite sur un **ensemble de critères** (75):

- **morphologiques** : bacille à Gram négatif pléomorphe,
- **cultureaux** : croissance sur milieu BCYE- α mais non sur BCYE- α privé de cystéine .
- **biochimiques** : les souches types des espèces de *Legionella* produisent une catalase mais n'ont pas d'uréase ou de nitrate-réductase et ne sont pas fermentatives (glucose). L'hydrolyse de l'hippurate permet de distinguer *Legionella pneumophila* de la majorité des autres espèces de *Legionella* .

La majorité des espèces sont mobiles, liquéfient la gélatine, produisent une bêta-lactamase et brunissent une gélose à l'extrait de levure supplémentée en

tyrosine. Quelques espèces produisent un pigment caractéristique, fluorescent sous lumière ultraviolette (39).

- **immunologiques** : des anti sérums de lapin spécifique d'espèces ou de séro-groupes de *Legionella* sont marqués par l'isothiocyanate de fluorescéine, afin de pratiquer un test d'immunofluorescence directe.

En pratique, l'identification définitive du genre et des espèces de *Legionella* s'effectue grâce aux méthodes antigéniques, soit par immunofluorescence directe, soit par agglutination sur particules de latex en utilisant des réactifs dirigés contre *Legionella pneumophila*, ses principaux sérogroupes et les espèces les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine.

L'identification de toutes les espèces peut nécessiter l'emploi d'anticorps spécifiques dirigés contre 42 espèces et 64 sérogroupes et ne se conçoit alors que dans un centre de référence (39).

Du fait de l'existence de réactions croisées obtenues avec les méthodes antigéniques, l'identification précise de l'espèce requiert parfois l'utilisation de techniques de biologie moléculaire.

Plusieurs méthodes ont été utilisées avec succès : amplification aléatoire de l'ADN, amplification des espaces intergéniques 16S-23S, ou encore séquençage nucléotidique de gènes ou de régions intergéniques connues (39).

Enfin, deux méthodes, réservées aux laboratoires spécialisés, permettent de classer les *Legionella* en groupes d'espèces : l'étude de la composition de la membrane cytoplasmique en ubiquinones par chromatographie liquide à haute performance en gradient d'acétonitrile et de propanol et l'étude de la composition en acides gras de la paroi analysée par chromatographie gaz-liquide (39).

VIII – 3.1 Types de prélèvements :

Plusieurs types de prélèvements peuvent être utilisés pour la mise en culture :

1 – Expectoration :

La mise en culture d'échantillons d'expectoration présente une sensibilité évaluée entre 44 % (83) et 56 % (24) avec une spécificité de 100 % (83, 24).

2 – Aspiration trans-trachéale

La sensibilité de la culture d'un échantillon d'aspiration trans-trachéale est estimée entre 40 % (73) et 83 % (83) avec une spécificité de 100 % (73, 83).

3 – Lavage broncho-alvéolaire

Ce type de prélèvement effectué lors d'une fibroscopie bronchique présente une sensibilité autour de 78 % et une spécificité de 100 % (22).

4 – Sang

La sensibilité de ce type d'examen est de 10 à 30 %, avec une spécificité de 100 % (22).

5 – Biopsie pulmonaire

La sensibilité d'un échantillon de biopsie pulmonaire est de 90 à 99 % et la spécificité est de 100 % (22).

VIII – 3.2 Intérêts et limites :

Une culture positive apporte une preuve diagnostique, puisqu'il n'existe pas de porteurs sains. La spécificité est donc dans tous les cas de 100 %, mais la sensibilité est variable (entre 30 % et 99 %) (22).

Malgré cela , la culture est un important outil pour établir le diagnostic de légionellose. Pour les études épidémiologiques, la mise en culture systématique de prélèvements cliniques est primordiale lors de la suspicion d'un cas de légionellose (45). En effet, les outils d'épidémiologie moléculaire nécessitent l'obtention de souches viables de *Legionella* (45,39).

La culture reste lente et difficile et l'identification des souches n'est possible que pour des laboratoires d'analyses spécialisés. Le meilleur rendement est obtenu avant la mise en route d'une antibiothérapie.

VIII – 4. **IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE :**

L'immunofluorescence directe se pratique à l'aide d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux qui reconnaissent *Legionella pneumophila*. La bactérie peut être détectée directement sur le produit pathologique par immunofluorescence directe. Le test se fait sur une suspension au 1/10 de tissu pulmonaire, sur le culot de centrifugation des sécrétions respiratoires ou directement sur une goutte d'expectoration (75).

Les immuno-sérums de lapin utilisés sont spécifiques de chaque séro groupe de *Legionella pneumophila* et des autres espèces de *Legionella*.

Il existe un réactif commercialisé, le Monofluo Kit (Sanofi, Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, France).

VIII – 4.1 **Types de prélèvements :**

1 – Biopsie pulmonaire

La sensibilité pour ce type de prélèvement est de 80 à 90 % (22), la spécificité étant de 99 % (22).

2 – Sécrétions bronchiques ou lavage broncho-alvéolaire

La sensibilité varie entre 25 % et 75 % (22), en fonction du type de prélèvement : expectoration 25 à 33 % (83), aspiration trans-trachéale 33 % (83) à 40% (73) et lavage broncho-alvéolaire 75 % (47). La spécificité est de 95 à 99 % (22).

VIII – 4.2 Intérêts et limites :

Bien qu'ayant une sensibilité assez faible pour les prélèvements non invasifs, et la nécessité d'avoir un technicien expérimenté, l'immunofluorescence directe permet une détection rapide des *Legionella* au microscope à fluorescence, soit deux à quatre heures après l'arrivée du prélèvement au laboratoire (22). Cependant, son seuil de détection est assez élevé à 10^4 Unités Formant Colonies par millilitre.

L'immunofluorescence directe peut être moins sensible si le patient a déjà reçu une antibiothérapie adaptée.

VIII – 5. DETECTION PAR AMPLIFICATION GENIQUE (PCR) :

La détection par amplification génique ou polymérase chain reaction (PCR) a été décrite pour la première fois en 1992, et a permis de détecter 50 UFC/ml (Unités Formant Colonies) de *Legionella* dans des lavages broncho-alvéolaires en amplifiant le gène « mip » (*macrophage infectivity potentiator*), gène de virulence présent chez la majorité des espèces de *Legionella* (41).

Depuis, cette technique a été employée sur de nombreux prélèvements cliniques (aspirations bronchiques, expectorations, biopsies, urine, sérum).

Un réactif commercialisé par Perkin Elmer Cetus pour la détection de *Legionella* dans l'environnement a été utilisé avec succès sur des prélèvements cliniques.

Les prélèvements peuvent être congelés à -20°C si le délai avant amplification est supérieur à 3 jours.

La sensibilité de cette technique est de 50 % à 70 % et sa spécificité de 95 % à 99 % (22). Cette sensibilité peut être optimisée en préparant les échantillons par la technique d'extraction au Chelex® (41).

VIII – 5.1 Intérêts et limites :

Les limites de cette méthode de diagnostic sont celles de la PCR, c'est à dire de l'existence des inhibiteurs de la Taq polymérase dans les échantillons biologiques (39,77).

Cependant, la recherche de *Legionella* par PCR de façon systématique pourrait être un outil de diagnostic rapide (délai de réponse de 48 heures), d'autant que le résultat peut être positif plusieurs jours après le début d'une antibiothérapie (41).

VIII – 6. RECHERCHE D'ANTIGÈNE SOLUBLE URINAIRE :

Approximativement 80% des patients avec une légionellose ont des antigènes solubles de *Legionella* séro-groupe 1 dans les urines dès le début (3 à 4 jours) de leur infection (46). Ces antigènes sont détectables par différentes techniques radio-immunologiques , immuno-enzymologiques (ELISA) et immuno-chromatographique sur membrane.

VIII – 6.1 Technique radio-immunologique :

Ce procédé consiste à mettre en présence, dans des proportions données, les urines contenant l'antigène et un complexe immun soluble formé de ce même antigène marqué par un isotope radioactif (Iode 125) et de l'anticorps correspondant.

L'antigène à doser va se lier à l'anticorps en déplaçant une quantité d'antigène marqué d'autant plus grande qu'il est lui-même plus abondant. Le comptage des portions respectives de l'antigène radioactif fixées et libérées (séparées par différents procédés : électrophorèse, fixation sur des résines échangeuses d'ions), comparé à des courbes - témoins établies avec des doses connues du même antigène-étalon, donnera la quantité d'antigène contenue dans les urines étudiées.

Le stockage et l'utilisation de produits radioactifs limitent l'emploi de cette technique en routine (22).

VIII – 6.2 Technique immuno-enzymologique (ELISA) :

Ce procédé de dosage de l'antigène urinaire est inspiré de la méthode radio-immunologique dans lequel le marqueur radioactif est remplacé par une enzyme.

Deux tests sont utilisés en routine : **Binax®** (OXOID, Dardilly, France), spécifique de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 et **Biotest®** (Biotest, Buc, France) spécifique de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 et autres sérogroupes.

Ils permettent d'obtenir un résultat en 4 heures et présentent des performances similaires (20).

VIII – 6.3 Technique immuno-chromatographique :

Le test le mieux validé est le test unitaire **Now® Legionella Binax** distribué par OXOID France, qui permet la détection qualitative de l'antigène de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 dans les urines de patients présentant des symptômes de pneumonie (77).

Principes du test NOW Legionella BINAX (65)

Des anticorps de lapin anti-*Legionella pneumophila* séro-groupe 1 sont absorbés sur la membrane au niveau d'une ligne que l'on appelle "ligne patient".

Une deuxième ligne d'anticorps est fixée sur la membrane au niveau de la "ligne de contrôle": IgG de chèvre anti-lapin. Des anticorps de lapin anti-*Legionella pneumophila* séro-groupe 1 marqués par de particules permettant de visualiser le résultat sont présents sous forme deshydratée sur un support inerte.

La bande-test et l'emplacement destiné à l'écouvillon sont montés sur deux plaquettes cartonnées différentes, reliées par une charnière.

Pour effectuer le test, l'écouvillon doit être plongé dans l'urine à tester, retiré, puis inséré dans la carte test. On ajoute ensuite le réactif contenu dans le flacon compte-gouttes, puis l'on ferme la carte test pour mettre en contact l'échantillon puis la bande-test.

Les antigènes de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 présents dans l'urine se lient avec les anticorps marqués et sont capturés par les anticorps anti-*Legionella pneumophila* fixés au niveau de la "ligne patient". Les IgG de chèvre anti-lapin immobilisés se lient avec les anticorps marqués pour former une "ligne de contrôle".

Un test positif est lu en 15 minutes ou moins selon la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon d'urine. Un test négatif en 15 minutes indique l'absence d'antigène de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 dans l'urine.

Interprétation de résultats

Un échantillon négatif donne une bande colorée au niveau de la "ligne de contrôle". L'apparition de cette bande indique le bon fonctionnement du test. L'absence de bande sur la "ligne patient" montre un résultat négatif, aucun antigène de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 n'a été détecté.

Un échantillon positif donne deux bandes colorées, ce qui signifie que l'antigène de *Legionella pneumophila* séro-groupe 1 a été détecté. Les échantillons contenant un faible taux d'antigène donnent une bande de faible intensité. Toute bande visible est considérée comme un résultat positif.

Si aucune ligne n'apparaît, ou si seule la "ligne patient" est visible, le test est ininterprétable et doit alors être refait.

Recueil de l'échantillon

Les urines doivent être prélevées dans des pots à prélèvement standard, conservées à 15 – 30° C et testées dans les 24 heures. Sinon, il faut les conserver à 2 – 8° C pendant 14 jours ou les congeler à – 20° C pour de plus longues périodes. L'acide borique peut être utilisé comme conservateur à une concentration de 1 %.

Si nécessaire, les urines peuvent être transportées dans des récipients hermétiques à 2 – 8° C ou congelées. Il faut les laisser revenir à une température ambiante avant de les tester.

Intérêts et limites

Les avantages de ce mode de diagnostic sont nombreux : précocité de la positivité de la réaction (dès le troisième jour de l'infection), rapidité de la technique (15 minutes) et simplicité de mise en œuvre (recueil facile des urines), détection possible des antigènes malgré la mise en route d'une antibiothérapie et prix peu élevé (1560 francs hors taxes le lot de 12 tests, soit 130 francs hors taxes le test).

La contamination des urines par d'autres bactéries n'induit pas de fausses réaction positives.

Les performances de ce test sont identiques à celles des techniques immuno-enzymatiques (19).

L'augmentation des cas déclarés de légionellose depuis l'utilisation de ce test au sein des hôpitaux atteste de son intérêt dans la stratégie de dépistage des cas de légionellose (54).

Cependant, le relargage de l'antigène de *Legionella* dans les urines varie selon les patients. L'excrétion antigénique peut débuter dès le troisième jour après

l'apparition des symptômes et persister pendant plus d'un an, avec une moyenne de 2 mois (46). Cela empêche la datation précise de l'infection.

Un résultat positif avec le test peut donc résulter d'une infection en cours ou d'une rechute ou récurrence.

Un autre inconvénient majeur de ce test et des techniques radio-immunologiques et immuno-enzymologiques (ELISA), est leur spécificité pour *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 uniquement (22,77).

La méthode immuno-chromatographique sur membrane est rapide pour le diagnostic, mais ne doit pas limiter la recherche de la bactérie. En effet, comme nous l'avons vu plus haut, la proportion de cas pour lesquels on dispose d'une culture est en baisse depuis 1996 (10).

L'envoi des souches au Centre National de Référence pour typage permet d'améliorer la connaissance des souches en circulation et vient compléter de manière déterminante les investigations épidémiologiques en cas d'épidémie (40).

La sensibilité des différentes techniques de détection de l'antigène soluble urinaire (immuno-enzymologique, immuno-chromatographique ou radio-immunologique) est estimée entre 80 % et 99 % (22) avec une spécificité de 99 % (22).

Sensibilité et spécificité des méthodes diagnostiques de la légionellose (d'après 22 et 39)

Méthodes	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Culture (sur milieu BCYE- α)		
Sécrétions bronchiques/lavage broncho-alvéolaire	80-90	100
Biopsie pulmonaire	90-99	100
Sang	10-30	100
Détection d'antigène urinaire	80-99	99
Immunofluorescence directe		
Biopsie pulmonaire	80-90	99
Sécrétions bronchiques/lavage broncho-alvéolaire	25-75	95-99
Sérologie		
Augmentation du titre	75	95-99
Titre unique élevé précoce	10	94
Titre unique élevé tardif	65	94

IX – MODALITES DU SYSTEME DE SURVEILLANCE DE LA LEGIONELLOSE EN FRANCE

IX – 1. DECLARATION OBLIGATOIRE :

La surveillance est principalement basée sur le système de la déclaration obligatoire.

Au niveau local, la déclaration permet à la DDASS de réaliser une enquête afin d'identifier les expositions à risque, de rechercher d'autres cas liés à des expositions et de prendre les mesures environnementales de contrôle appropriées.

Au niveau national, la déclaration a pour objectif de connaître la fréquence, les tendances et les principales caractéristiques épidémiologiques de la maladie, de détecter des épisodes épidémiques et d'orienter les mesures de prévention.

Depuis sa mise en place en 1987, le nombre de cas déclarés est très faible. D'après le Centre National de Référence, le nombre de cas diagnostiqués annuellement s'établit entre 400 et 500 (9), alors que le nombre de cas faisant l'objet d'une déclaration est de moins de 100 par an en moyenne (66). Il est très vraisemblable que ces chiffres (400 à 500 cas par an) se situent bien en dessous de la réalité.

En 1995, une évaluation du système français de surveillance des maladies infectieuses a été réalisée et la révision de la surveillance de la légionellose a été considérée comme une priorité (34).

Pour déterminer le niveau de sous-déclaration et évaluer la faisabilité d'un système de déclaration basé sur les laboratoires, une enquête dans les laboratoires des hôpitaux publics a été menée en avril 1996 (37).

Les cas identifiés à travers cette enquête ont été appariés aux cas identifiés grâce au système de déclaration et au Centre National de Référence des *Legionella*, pour estimer le nombre de cas diagnostiqués en France en 1995. Les résultats montrent que 51 cas avait été rapportés au système de déclaration obligatoire, l'estimation totale étant de 292 cas diagnostiqués. Une analyse incluant les cas avec un titre unique d'anticorps supérieur ou égal à 256 (définition d'un cas probable), aboutissait à une estimation totale de 528 cas diagnostiqués. Le taux d'exhaustivité de la déclaration obligatoire a été évalué en 1995 à 10 % (37).

En conclusion, cette enquête révèle qu'un cas de légionellose confirmé par laboratoire sur huit seulement était déclaré au système national de surveillance, la sous-déclaration pour la légionellose étant bien plus élevée que pour le SIDA, les infections à méningocoques et la tuberculose (23).

Avec de tels niveaux de sous-déclaration, il est très probable qu'une proportion importante de cas groupés ne puissent pas être identifiée par le biais du

système de déclaration, celui-ci ne remplissant donc pas son objectif de contrôler rapidement les sources d'infection (37).

Pour remédier à cette situation plusieurs mesures ont été prises en Avril 1997 (12):

→ une nouvelle fiche de déclaration des cas de légionellose, intégrant une nouvelle définition des cas a été adressé aux médecins, en priorité aux pneumologues, réanimateurs et dans les services de médecine interne, ainsi qu'aux médecins assurant le suivi des patients en cure thermale.

→ Afin d'améliorer le signalement des cas, il est nécessaire d'en justifier l'intérêt :

- à l'occasion de la diffusion de la nouvelle fiche de déclaration, il a été jugé primordial de sensibiliser les cliniciens et les Comités de Lutte contre les Infections Nosocomiales sur l'intérêt de la déclaration en insistant sur les mesures de prévention qui en découlent.

- les cas confirmés par le Centre National de Référence devront être systématiquement signalés aux DDASS des départements concernés.

- toute intervention ou mesure de prévention prises à la suite de la déclaration d'un cas devra faire l'objet d'une synthèse pour le médecin déclarant.

- les médecins-inspecteurs de Santé Publique devront s'assurer de la complétude et de la qualité des informations sur les fiches de déclaration, notamment en ce qui concerne les méthodes diagnostiques et les lieux précis d'exposition.

Toutes ces mesures commencent à porter leurs fruits : le taux d'exhaustivité de la déclaration passe de 10 % en 1995, à 30 % d'après les résultats du même type d'étude renouvelée en 1998 (62).

IX – 2. ORGANISATION DU SYSTEME DE SURVEILLANCE :

Les cas sont déclarés par les cliniciens aux médecins inspecteurs de Santé Publique des DDASS, qui les notifient à leur tour aux autorités de l'**Institut de Veille Sanitaire** (InVS).

Ce dernier est un établissement public de l'Etat, créé par la loi en 1998 afin de renforcer le dispositif de sécurité et de veille sanitaire en France. L' **Institut de Veille Sanitaire** –qui succède au **Réseau National de Santé Publique**(RNSP) en reprenant et consolidant ses missions – est placé sous la tutelle du Ministère chargé de la Santé.

Il est chargé, en particulier, de :

- détecter toute menace pour la santé publique et d'en alerter les pouvoirs publics.

- rassembler, analyser et valoriser les connaissances sur les risques sanitaires, leurs causes et leurs évolutions.

- participer au recueil et au traitement des données sur l'état de santé de la population.

- réaliser ou appuyer toute action (enquête, étude, expertise ...) nécessaire à l'exercice de ses missions.

- contribuer à la formation des professionnels de santé aux méthodes de la surveillance épidémiologique.

Le Centre National de Référence (CNR) des *Legionella*, nommé par le ministre chargé de la Santé en 1980, est situé à Lyon (Pr. J. Etienne, Laboratoire Central de Microbiologie, Hôpital Edouard Herriot). Il a des missions d'expertise biologique, d'entretien d'une collection bactérienne et d'une sérothèque, de fourniture d'antigènes de référence et de contribution à la surveillance

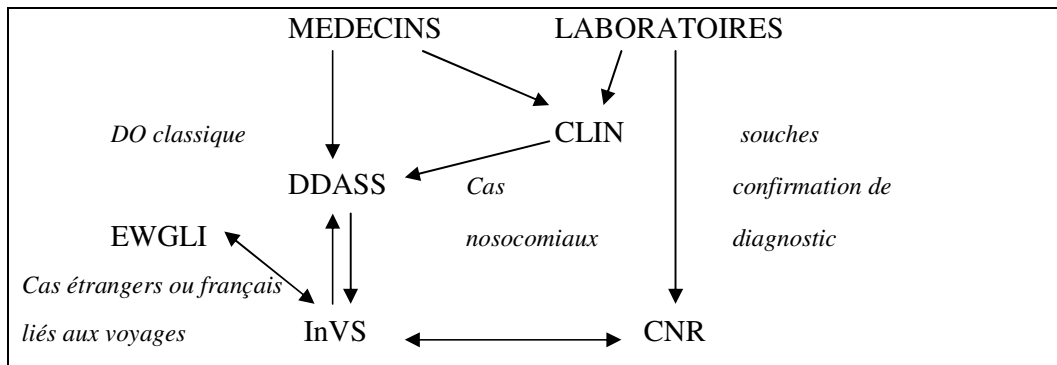
épidémiologique. A ce titre, il reçoit des souches et des sérums accompagnés d'informations sur les cas ayant eu un diagnostic de laboratoire.

Le CNR assure également une expertise pour les souches isolées dans l'environnement. Ainsi, dans le cadre d'investigation de cas groupés, le CNR peut comparer, par des méthodes de typage moléculaire, les souches isolées chez les malades et dans l'environnement.

Ce typage moléculaire systématique obtenu par électrophorèse en champ pulsé, a pour but de rechercher les souches ayant un profil identique et donc probablement issues de la même source de contamination et à l'origine d'épidémies.

Les Comités de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) sont chargés dans chaque établissement hospitalier de la surveillance et de la prévention des infections nosocomiales. Lors de l'investigation de phénomènes épidémiques, les CLIN peuvent demander l'aide méthodologique des centres de coordination inter-régionaux.

L'organisation repose sur plusieurs éléments complémentaires représentés sur le schéma suivant (d'après 35):



La France participe également depuis 1997 au **Réseau Européen de Surveillance des Légionelloses Acquisées lors des Voyages (EWGLI)**, qui est coordonné par le centre anglais de surveillance des maladies transmissibles. Ce réseau regroupe 31 pays qui signalent tout cas de légionellose ayant voyagé pendant les 10 jours précédant le début de la maladie en précisant les lieux fréquentés.

Ces informations sont retransmises aux membres du réseau et aux autorités sanitaires du pays où le cas a séjourné.

L'objectif principal est d'identifier des cas groupés pouvant être rattachés à une source commune d'exposition, afin de prendre les mesures de prévention appropriées.

Ainsi en 1997, la France a notifié au réseau EWGLI, 20 cas de légionellose liés aux voyages (15) chez des résidents français. Vingt-cinq cas chez des européens, ayant résidé dans des hôtels français ont été notifiés à la France la même année (15).

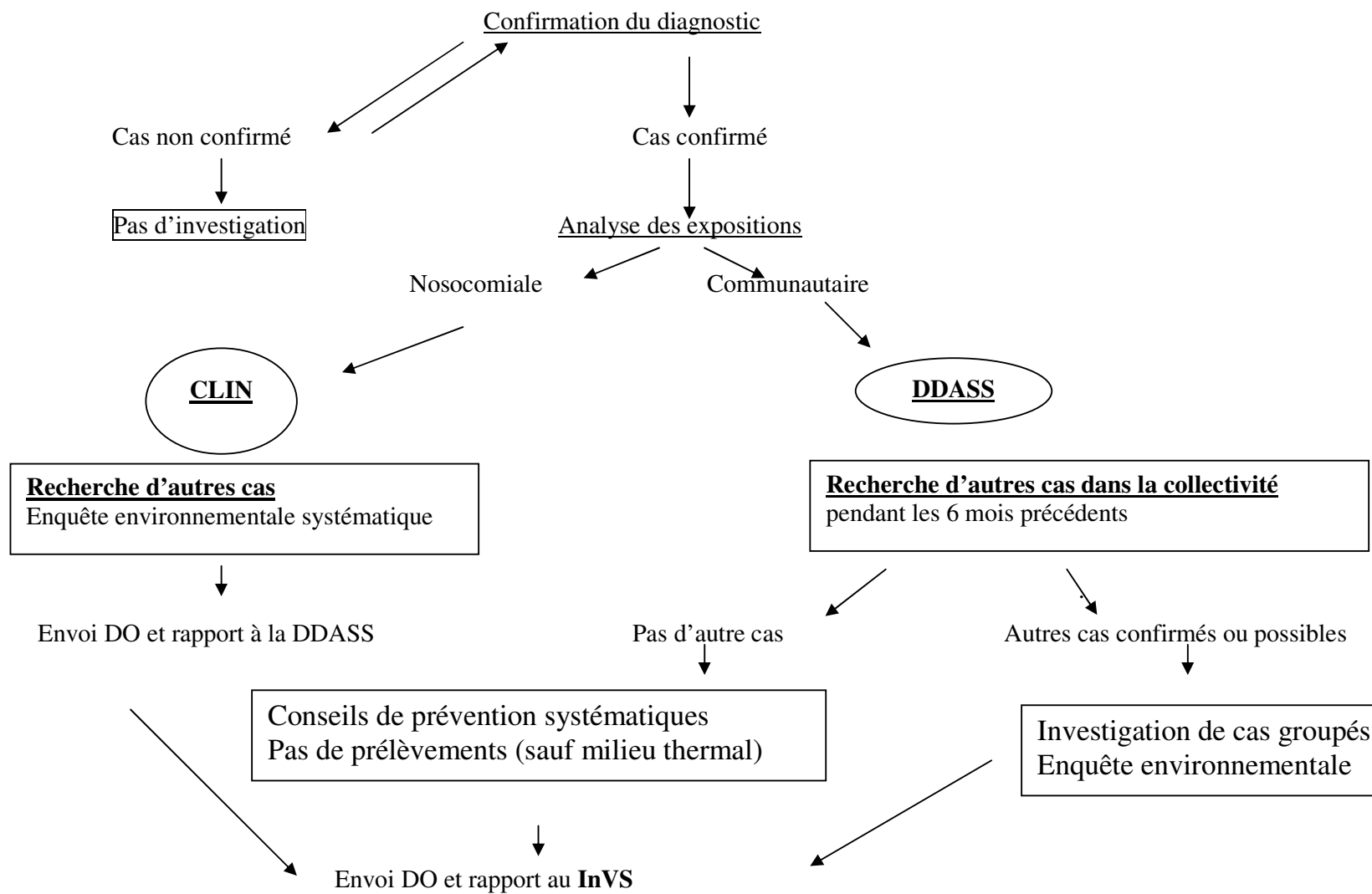
En 1998, le réseau européen a notifié 297 cas de légionellose associés aux voyages, dont 33 cas ayant résidé dans des hôtels français parmi lesquels 9 cas survenus à Paris en juin 1998 et 2 foyers de 2 cas liés (43).

X – INVESTIGATION DES CAS DE LEGIONELLOSE

Les objectifs de cette investigation sont de confirmer le diagnostic, d'identifier les lieux fréquentés par le malade qui constituent une source potentielle d'infection, de rechercher d'autres cas dans l'entourage et de prendre des mesures systématiques de prévention (voir tableau page 52).

Il est nécessaire d'obtenir une description précise des lieux et dates de séjour du malade pendant les 10 jours précédant le début des signes cliniques. Cette étape permettra de déterminer si la légionellose est d'origine nosocomiale ou communautaire. Dans ce dernier cas, il est important de rechercher la fréquentation de lieux "à risque" (autre établissement de soin, station thermale, hôtel, piscine) et la notion de voyage récent en France ou à l'étranger.

Démarches d'investigation d'un cas isolé de légionellose (35) :



En dehors du cas particulier des légionelloses d'origine nosocomiale ou survenues lors d'une cure thermale, l'enquête autour d'un cas isolé ne devrait pas donner lieu à des prélèvements environnementaux systématiques en raison du médiocre rapport coût / efficacité de cette démarche (35).

X – 1. **LEGIONELLOSE NOSOCOMIALE :**

Les légionelloses d'origine nosocomiale doivent faire l'objet d'une enquête par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) en collaboration avec le Laboratoire de Microbiologie de l'établissement (s'il existe) ou d'un établissement voisin. . **Une étude environnementale est indispensable même si le cas est isolé** (35) :

- rechercher une exposition à des soins "à risque" (humidificateur d'oxygénothérapie, aérosol...) ;
- vérifier la maintenance des réseaux d'eau chaude sanitaire et des éventuelles tours aéro-réfrigérantes ;
- surveiller la contamination microbiologique du circuit d'eau chaude sanitaire desservant le service concerné ;
- comparer les souches isolées chez le malade et dans l'environnement.

X – 2. **LEGIONELLOSE COMMUNAUTAIRE :**

Il faut rechercher d'autres cas de légionellose confirmés ou possibles parmi les personnes ayant fréquenté les mêmes lieux.

En fonction du contexte la réponse sera adaptée (35) :

- Cure thermale : enquête dans l'environnement systématique avec contrôle des eaux thermales de la station fréquentée. Il est également nécessaire de

s'assurer que la source d'infection n'est pas extérieure à l'établissement (hôtel par exemple) ;

- Milieu de travail : vérification de la maintenance des installations d'eau chaude sanitaire et des éventuelles tours aéro-réfrigérantes et des systèmes de climatisation ;
- Hôtels, campings : il est fréquent de constater que les patients ont séjourné dans plusieurs hôtels au cours de leurs voyages, ce qui multiplie les sources potentielles d'infection ; il est donc important de se limiter aux établissements fréquentés dans les 2 à 10 jours précédant le début des signes cliniques

XI – ENQUETE ENVIRONNEMENTALE

La surveillance de la contamination des réseaux d'eau par les légionelles doit se faire par une étroite collaboration entre les responsables de la maintenance des réseaux, le CLIN de l'établissement, et le Laboratoire de Microbiologie (13). L'enquête doit comprendre une visite approfondie de l'établissement au cours de laquelle des recherches de *Legionella* peuvent être réalisées.

XI – 1. EXPERTISE DES SOURCES POTENTIELLES DE CONTAMINATION :

Les éléments minimum à recueillir pour procéder à un diagnostic du contexte environnemental sont les suivants :

- Description de l'établissement et de son voisinage ;
- Description du réseau d'eau chaude sanitaire et vérification du réseau d'eau froide afin d'éliminer une éventuelle élévation de la température lors du passage des canalisations dans des locaux surchauffés ;
- Description des installations de conditionnement d'air ;

- Localisation des tours aéro-réfrigérantes du bâtiment et du voisinage ;
- Divers éléments : description des dispositifs d'humidification, origine de l'approvisionnement en eau des équipements médicaux, machines à glace, fontaines décoratives

Ceci permet de procéder à un diagnostic du contexte environnemental et à une analyse des points sensibles pouvant constituer un risque de multiplication ou de diffusion de *Legionella* (35).

XI – 2. RECHERCHE DE LEGIONELLA DANS L'ENVIRONNEMENT :

Les analyses de prélèvements dans l'environnement étant onéreuses, il est important d'orienter ces prélèvements en fonction des arguments épidémiologiques, de la structure des réseaux d'eau et de l'identification des points sensibles.

La périodicité et le choix des sites de prélèvement ne peuvent être définis une fois pour toutes. Ils dépendent en effet des résultats observés, de l'usage qui est fait des installations, de la manière dont les patients risquent d'être exposés et des facteurs de risque de ces patients, ainsi que des difficultés rencontrées pour traiter les épisodes de contamination.

Le Laboratoire de Microbiologie réalise les analyses d'eau dans le cadre de l'autosurveillance de l'établissement.

XI – 2.1 Lieux de prélèvement :

⇒ Réseau d'eau chaude sanitaire

* points de puisage d'eau chaude

* partie basse des ballons de stockage.

⇒ Réseau d'eau froide : si la température est anormalement élevée (> 25°C)

- ⇒ Installations de conditionnement d'air
 - * condensats de batteries froides
 - * fluides d'humidification
 - * eau des siphons
- ⇒ Tours aéro-réfrigérantes : eau de ruissellement
- ⇒ Tout site susceptible de contenir de l'eau réchauffée ou des dépôts humides

Ces prélèvements doivent être effectués au moins une fois par an dans tous les réservoirs, ballons d'eau et installations à risque, ainsi qu'au niveau de 2 points d'usage par tranche de 100 lits (et au minimum 10 points d'usage pour les établissements de moins de 500 lits) (13).

XI – 2.2 Modalités de prélèvement :

Plusieurs techniques de prélèvement peuvent être réalisées aux points d'usage (13):

⇒ si la contamination **au point d'usage dans des conditions normales d'utilisation** est recherchée, le prélèvement sera fait sans flambage et en prenant le premier jet de l'eau à température d'utilisation. Si la situation la plus défavorable en terme de contamination est recherchée, un prélèvement peut être fait après stagnation d'une nuit.

⇒ si la contamination du réseau **en amont du point d'usage** est recherchée, les points de prélèvement doivent être flambés et le prélèvement effectué après écoulement prolongé.

⇒ l'incorporation au prélèvement des **produits d'écouvillonnage** permet d'étudier l'écologie du point de prélèvement et est à recommander dans le cadre de la surveillance de l'installation et l'évaluation des mesures de lutte et de prévention. L'écouvillon doit être introduit le plus profondément possible à l'intérieur du robinet ou du

pommeau de la douche et le prélèvement doit être effectué par un geste circulaire répété. L'écouvillon est ensuite cassé dans le prélèvement d'eau correspondant.

Quelle que soit la technique adoptée, il est important d'en rechercher la reproductibilité pour les prélèvements destinés à comparer des contaminations dans l'espace ou dans le temps. Pour cette raison il est important d'établir des protocoles détaillés pour les personnes chargées des prélèvements et de remplir très soigneusement la fiche de prélèvement pour chaque échantillon (13).

Sur les fiches de prélèvements doivent être indiqués :

- * la nature de l'eau analysée (eau chaude sanitaire, condensats,...)
- * les opérations subies (traitements, mélanges,...)
- * l'identification du point de prélèvement
- * la date, l'heure et les conditions de prélèvement

XI – 2.3 Modalités de transport :

Les échantillons prélevés doivent être transportés en glacière. Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire en moins de 48 heures, avec un emballage réfrigéré en période d'été. En cas d'attente, les conserver à + 4°C avant l'envoi, et surtout ne pas les congeler (13).

XI – 2.4 Recherche et numération des *Legionella* dans l'eau(64)

La recherche et la numération sont effectuées selon la norme AFNOR NT90-431 de Novembre 1993 (64). Cette méthode normalisée permet l'obtention de résultats homogènes avec une sensibilité (50 UFC/litre, UFC = Unités Formant Colonie) suffisante au regard du risque sanitaire.

Des prélèvements d'un litre d'eau sont régulièrement réalisés au niveau de l'ensemble des systèmes de production de l'eau chaude sanitaire ainsi que de nombreux points d'usage dispersés dans les services de soins, notamment au niveau des bains et douches utilisés par les patients.

Une partie de l'eau à analyser (0,2 ml) estensemencée directement sur milieu gélosé BCYE contenant du charbon activé et de l'extrait de levure, supplémenté en L-cystéine et rendu sélectif par l'adjonction d'antibiotiques (polymyxine B, vancomycine et cycloheximide). Une dilution au dixième de 0,2 ml d'eau à analyser dans du tampon phosphaté salé (PBS) est égalementensemencée sur milieu BCYE.

Le litre d'eau prélevé est filtré sur une membrane en polycarbonate Nucléopore® dont les pores ont un diamètre moyen de 0,22 µm. Le filtre est ensuite immergé dans 5 ml de cette même eau à analyser et placé dans la cuve à ultrasons pendant cinq minutes. 0,1 ml du concentré obtenu estensemencé sur milieu BCYE.

Sur une autre fraction du concentré, un traitement thermique est réalisé : 2 ml sont chauffés pendant 30 minutes au bain marie thermostaté à 50°C. Une gélose BCYE est ensuiteensemencée avec 0,1 de ce concentré chauffé.

Enfin, une troisième fraction du concentré reçoit un traitement chimique : 2 ml sont centrifugés à $60\,000\text{ m.s}^{-2}$ pendant 10 minutes. Un millilitre de surnageant est éliminé et le millilitre restant est remis en suspension. Un millilitre de tampon acide à pH 2 est alors mis en contact cinq minutes avec cette suspension. Une gélose BCYE est ensuiteensemencée avec 0,1 ml de ce concentré.

L'ensemble des géloses BCYEensemencées est incubé pendant 10 jours avec une lecture intermédiaire à trois à quatre jours.

⇒ **identification des *Legionella* :**

Les colonies gris bleu de bacilles à coloration de Gram négative, mises en évidence sur une gélose BCYE supplémentée en L-cystéine sont systématiquement repiquées sur trois milieux différents : une gélose BCYE supplémentée en L-cystéine, une gélose BCYE non supplémentée en L-cystéine, une gélose au sang de mouton. Les colonies qui ne croissent ni sur la gélose au sang, ni sur la gélose BCYE sans adjonction de L-cystéine mais uniquement sur la gélose BCYE suplémentée en L-cystéine sont alors identifiées comme appartenant au genre *Legionella*.

⇒ **identification de *Legionella pneumophila* par immunofluorescence directe :**

L'identification spécifique de *Legionella pneumophila* est effectuée à l'aide du test commercialisé Kit MONOFLUO™ IFA *Legionella pneumophila* (Sanofi Pasteur). Le test repose sur le marquage spécifique des bactéries à l'aide d'un anticorps monoclonal couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine. Ce test est spécifique pour *Legionella pneumophila* quelque soit le sérotype. Il est employé ici dans le but de différencier cette espèce au sein du genre *Legionella*.

Les bactéries d'une colonie de la souche à tester sont mises en suspension homogène dans une solution de formol à 1%, puis déposées sur une lame. Le tapis bactérien obtenu est recouvert pendant 30 minutes à 37°C d'une solution d'anticorps monoclonaux marqués.

La lame est ensuite rincée avec de l'eau déminéralisée, puis recouverte d'une solution de montage stabilisant la fluorescence et observée dans un bref délai au microscope à fluorescence. *Legionella pneumophila* apparaît sous forme de bacilles ou coco-bacilles vert-pomme fluorescents. Les autres espèces bactériennes peuvent être visibles, et apparaissent alors de couleur rouge foncé ou or mat.

⇒ **dénombrement de *Legionella* et de *Legionella pneumophila* :**

Après identification, le résultat des prélèvements est exprimé en nombre de *Legionella* par litre et en nombre de *Legionella pneumophila* par litre en fonction du nombre de colonies confirmées pour le volumeensemencé d'eau à analyser.

⇒ **sérotypage simplifié de *Legionella pneumophila* :**

Le sérotypage simplifié permet d'individualiser le sérotype 1 au sein de l'espèce *Legionella pneumophila* à l'aide du kit *Legionella* Latex Test Oxoid®. Ce test commercial utilise des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps qui agglutinent en présence des antigènes de paroi de *Legionella*, formant des agrégats visibles. Il permet de distinguer *Legionella pneumophila* de sérotype 1, des sérotypes compris entre 2 et 14 et les principales autres espèces de *Legionella* retrouvées en pathologie humaine.

Les bactéries sont mises en suspension homogène dans un tube à hémolyse avec une solution de tampon PBS. Les réactifs latex et les suspensions bactériennes sont mis en contact sur un support cartonné et mélangés à l'aide d'un bâtonnet.

Un résultat positif est mis en évidence par agglutination des particules de latex bleu apparaissant en une minute et l'absence d'agglutination dans le cercle de contrôle. Si aucune agglutination n'apparaît en une minute, le résultat est négatif. Un test est ininterprétable si le réactif de contrôle agglutine, indiquant que la souche testée entraîne une auto agglutination.

Une réaction croisée peut se produire entre *Legionella pneumophila* séro groupe 1 et séro groupe 9.

Il existe également une norme ISO 11-731 (*International Standardization Organisation*) qui décrit les conditions de prélèvement et la technique de recherche de légionelles dans l'eau. Cette norme implique la numération et l'identification de toutes les espèces de légionelles (38).

XI – 2.5 Seuils admissibles :

Pour les réseaux de distribution d'eau chaude sanitaire, il n'existe aucun texte réglementaire fixant une densité maximale admissible de *Legionella*. Il est reconnu qu'en dessous d'une densité de 10^3 UFC/litre, le risque d'apparition de cas de légionellose est très faible (35). Cependant, ce risque varie en fonction de l'état immunitaire des personnes exposées, de la densité et de la durée d'exposition aux aérosols contaminés (35).

XI – 2.6 Conclusion :

L'enquête environnementale devra toujours faire l'objet d'un rapport écrit indiquant les principaux résultats de l'enquête et les mesures envisagées de réduction du risque (fermeture, restrictions d'activités ou d'usage d'eau, mise hors service de locaux ou d'équipements, nettoyage, désinfection, protocoles d'entretien et de surveillance) (35).

Une contamination même faible de l'eau par des légionelles aux points d'usages peut constituer un danger sanitaire particulièrement pour des sujets présentant des facteurs de risque en rapport avec une affection de l'appareil respiratoire ou avec la baisse de leurs fonctions immunitaires (13).

XII – MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION AU NIVEAU DES CIRCUITS D'EAU CHAUDE SANITAIRE

Dans les établissements hospitaliers l'exposition à des aérosols d'eau chaude sanitaire est la principale source de contamination par *Legionella pneumophila*. Par conséquent, ce réseau doit faire l'objet d'une surveillance et d'un entretien particulier.

In vitro, de nombreux procédés chimiques et physiques sont actifs sur les légionelles. Une température supérieure à 60°C, le rayonnement ultraviolet, permettent de tuer rapidement les *Legionella*. De nombreux produits sont également actifs comme le chlore, les chloramines, le formol, les composés ammoniums quaternaires, l'éthanol, le peroxyde d'hydrogène et l'ozone (40).

La principale difficulté est de pouvoir utiliser efficacement tous ces procédés physico-chimiques dans l'environnement, en fonction de la structure du réseau de distribution d'eau et du principe de non dangerosité pour l'homme.

XII – 1. MESURES DE LUTTE A COURT TERME (35) :

Eléments de robinetterie (pommes de douches, brise-jet de robinet)

- Il doit être prévu le remplacement de tous les joints, filtres de robinet et pommes de douches, voire flexibles de douche dont l'état d'usure le nécessite.

- Les éléments de robinetterie doivent faire l'objet d'un entretien au minimum tous les 6 mois :
 - ⇒ déposés
 - ⇒ détartrés dans une solution à pH acide telle que : acide sulfamique, vinaigre blanc, ...
 - ⇒ puis désinfectés dans une solution contenant au moins 50 mg de chlore libre par litre d'eau froide pendant au moins 30 minutes.
- Tout élément neuf doit faire l'objet d'une désinfection préalable à sa pose sur le circuit selon le même protocole que ci-dessus.

Réservoirs ou ballons de stockage et circuits de distribution

- Vidange complète, nettoyage et détartrage des réservoirs avec rejet à l'égout des fluides obtenus et rinçage des canalisations.
- puis, **désinfection** selon l'une des méthodes suivantes :
 - ⇒ " **choc chloré** " : ce sont des mesures de chloration du réseau avec hyperchloration de ces réservoirs pendant 24 heures avec du chlore à la concentration de 15 mg/litre de chlore libre dans de l'eau froide, suivie d'une vidange, ou bien à la concentration de 30 à 50 mg/litre de chlore libre pendant 2 à 3 heures, également suivie d'une vidange. La solution mère désinfectante, préparée dans un bac, est introduite dans le réseau à l'aide d'une pompe à injection. Le point d'injection doit être situé en aval d'un dispositif de protection du réseau public. La teneur désirée en chlore doit être atteinte dans l'ensemble du circuit incriminé. Il y a donc lieu de la contrôler en périphérie (point d'usage). Cette opération doit être suivie d'un rinçage soigneux des canalisations.

Le traitement doit être répété régulièrement et la décontamination totale n'est pas toujours possible. Cependant, cette méthode permet de réduire rapidement une colonisation importante (35,40).

⇒ **“choc thermique”** : ce sont des mesures d'élévation de la température du réseau d'eau chaude avec obtention d'une eau chaude à 70°C en sortie de tous les robinets (en laissant couler environ 30 minutes l'eau chaude portée à cette température dans tout le réseau) et d'un contrôle permettant de s'assurer du retour à une situation adaptée à l'utilisation normale des installations. La multiplication des légionelles est optimale à 37°C, lente à 20-25°C et inexistante en dessous de 20°C; au-dessus de 46°C débute la lyse des bactéries. Cette méthode permet également de réduire rapidement une colonisation importante (35,40).

⇒ une autre technique est basée sur la mise en place d'une unité d'**ionisation de l'eau avec des ions cuivre et argent** (système Tarn-pure®). Le système génère par électrolyse des ions cuivre et argent qui se fixent à la paroi bactérienne en induisant une lyse de cette paroi. L'élévation de la température dans un réseau de distribution d'eau permet de diminuer les concentrations nécessaires en ions cuivre et argent. Des concentrations faibles en ion argent (inférieur à 10 µg /l) sont efficaces, sans altérer la potabilité de l'eau (71).

Cependant, pour des hôpitaux avec des réseaux complexes et anciens, il est difficile d'obtenir un débit suffisant pour avoir une concentration homogène des ions sur tout le circuit. En outre, cette méthode semble insuffisante pour éradiquer à long terme la colonisation par *Legionella* des réseaux d'eau (71). Il est possible que les légionelles développent une résistance aux ions argent après une longue période d'exposition à de faibles concentrations (71).

⇒ un système basé sur l'**utilisation du peroxyde d'hydrogène couplé avec de l'argent** est commercialisé en France (réactif HBIOT®). Il a été utilisé avec succès en « choc » sur des réseaux de petite taille ; sur des réseaux plus importants, l'utilisation en continu permet d'obtenir une décolonisation (40).

⇒ les **rayonnements ultraviolets** peuvent être utilisés comme moyen de désinfection unique seulement dans un réseau de petit volume. Ce moyen trouve essentiellement sa place dans une portion du réseau de distribution d'eau où la prévention doit être impérativement renforcée, comme les unités de transplantation ou de réanimation. Le système est d'autant plus efficace qu'il y a circulation en boucle de l'eau sur laquelle est appliqué le rayonnement ultraviolet. La maintenance du système doit être effectuée rigoureusement afin d'éviter une perte de puissance des lampes à ultraviolet qui doivent être changées régulièrement. Des capteurs de rayonnement permettent de s'assurer de l'efficacité du système, notamment de la transparence des parois des lampes à ultraviolet qui peuvent être encrassées par la formation de biofilms (40).

⇒ Certaines équipes ont utilisé avec succès des **systèmes électriques chauffant instantanément l'eau** au niveau de la pomme de douche dans les unités de transplantation, permettant ainsi de déconnecter le réseau d'eau chaude qui n'avait pu être décontaminé efficacement (55).

XII – 2. MESURES DE PREVENTION A LONG TERME :

Les mesures de désinfection vues ci-dessus ont un effet limité dans le temps. Il est donc nécessaire de mettre en place des mesures permanentes (35):

- Certaines mesures sont des **mesures de maintenance et d'entretien courants** qui doivent s'appliquer dans tous les bâtiments collectifs qu'ils aient été ou non confrontés à des problèmes de contamination par les légionelles :

⇒ une bonne connaissance du réseau supposant l'existence de plans à jour,

⇒ un entretien régulier et efficace, dont les consignes doivent être adaptées à la qualité de la ressource en eau et doivent notamment combattre la formation de biofilm ; elles prévoient :

* Au moins une fois par an, la vidange, le curage, le nettoyage et la désinfection des réservoirs, chauffe-eaux et canalisations. Les produits chimiques utilisés doivent être agréés, les utilisateurs doivent être protégés et la désinfection pratiquée après le nettoyage et le rinçage, selon le même protocole que le choc chloré. Un rinçage prolongé, suivi éventuellement d'une désinfection est nécessaire après la pose de canalisations neuves et après travaux.

* Au moins une fois par an, le détartrage des périphériques de douche (robinets, pommes,...).

⇒ des contrôles de routine doivent permettre de surveiller l'évolution des installations et de l'eau y circulant ; ils portent sur la température dans les réservoirs et aux points d'usage (une fois par mois), et sur l'inspection visuelle des réservoirs, chauffe-eaux et canalisations accessibles (une fois par an).

- D'autres **mesures plus drastiques** peuvent être conseillées aux établissements dont on connaît la **sensibilité des réseaux aux contaminations et/ou qui accueillent des personnes immuno-déprimées** (hôpitaux , centres de cure ou de rééducation). La mise en œuvre de ces mesures suppose de bien connaître la structure et l'état du réseau et de porter un diagnostic sur son aptitude à supporter en continu les mesures prescrites. Elles supposent aussi de mettre en œuvre des protocoles de maintenance complémentaires, notamment pour la surveillance de la qualité de l'eau.

On peut ainsi recourir :

⇒ en cas de difficulté de décontamination du réseau d'eau d'un hôpital, l'installation de filtres totaux aux points d'usages peut être envisagée dans les unités de soins recevant des patients immunodéprimés, ou en réanimation par exemple. Cependant, la maintenance est lourde (changement régulier des filtres), et le coût élevé pour un débit d'eau faible (40).

⇒ soit, au maintien en permanence de chlore dans le réseau (installation de pompes à chlore) de façon à obtenir en sortie de robinet, une concentration comprise entre 1 et 2 mg/litre de chlore libre. Cette méthode permet souvent l'éradication de *Legionella* avec des concentrations en chlore élevées (48). Elle possède deux inconvénients majeurs : une corrosion importante des tuyaux, d'autant plus importante que les canalisations sont en fer, ou en matériau galvanisé, et une concentration en permanence de chlore libre de 1 à 2 ppm de l'eau chaude bien supérieure à la norme de potabilité de l'eau (0,1 à 0,2 ppm) (16).

⇒ une alternative intéressante à la chloration continue est l'utilisation de la monochloramine comme moyen de désinfection résiduelle. La monochloramine est obtenue en mélangeant ammonium et chlore libre. L'action désinfectante de ce produit est plus lente que celle du chlore libre, mais elle est plus stable. Il pénètre mieux à l'intérieur du biofilm et serait plus efficace *in vitro* sur les *Legionella*.

Il est à noter aussi que la monochloramine n'entraîne pas la production de produits de dégradation toxiques et semble comporter un risque moindre de survenue de cancer que le chlore libre quand il est utilisé en tant que désinfectant résiduel (49).

Une étude cas-témoin récente a montré que l'utilisation de monochloramine comme moyen de désinfection résiduelle de l'eau, est associée à un plus faible taux de survenue d'épidémies de légionellose dans les hôpitaux, que l'utilisation de chlore libre (49).

⇒ soit, au maintien d'une élévation permanente de température dans les réservoirs et ballons de telle sorte que la température de l'eau chaude ne soit pas inférieure à 60°C à la sortie des réservoirs de stockage, avec une température au point d'usage à 45-50°C pour limiter les risque de brûlure pour les usagers. La limite de cette méthode est la longueur des canalisations. En présence d'un réseau trop important, une température suffisante au point d'usage et le long de tout le réseau n'est pas toujours atteinte (35,39).

- L'efficacité des mesures de lutte à long terme décrites précédemment est liée à **la bonne conception du réseau**. C'est pourquoi des mesures complémentaires visant à supprimer les défauts de conception et à améliorer la sécurité intrinsèque des installations peuvent être également recommandées :

⇒ il faut profiter des travaux de plomberie pour demander la suppression des bras morts et tuyaux borgnes.

⇒ préférer la production d'eau chaude instantanée aux ballons de stockage.

⇒ pour des bâtiments neufs, des résistances chauffantes peuvent être installées sur les tuyaux du réseau lors de la construction, de façon à atteindre une température élevée sur tout le réseau.

- Lorsque les chambres d'un établissement de soins restent inoccupées pendant plusieurs jours, il convient de soutirer l'eau régulièrement aux points d'usage et tout particulièrement avant la mise à disposition à un nouvel occupant, ceci afin de réduire l'exposition à des *Legionella* qui auraient pu se développer dans les canalisations (35).

XIII – MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION AU NIVEAU DES TOURS AERO-REFRIGERANTES ET DES SYSTEMES DE CLIMATISATION

XIII – 1. LES TOURS AERO-REFRIGERANTES :

Ce sont des équipements extérieurs de refroidissement des circuits chauds. Dans les dispositifs à circuit ouvert, l'eau à refroidir est pulvérisée sur un support qui favorise les échanges thermiques par évaporation avec de l'air circulant à contre-courant ; le " panache " émis par la tour est constitué de gouttelettes, véhicules des légionelles si le mauvais entretien et/ou la stagnation d'eau en a favorisé la prolifération.

Une tour aéro-réfrigérante peut être à l'origine de contamination à l'intérieur de l'établissement qui en est équipé ou à l'intérieur d'autres établissements situés à proximité (par " pollution " des prises d'air ou des ventilations) ou même de lieux de rassemblement de personnes à l'extérieur (installations de sport ou de loisirs, quai, arrêt de bus...)

XIII – 1.1 Mesures de lutte à court terme (35) :

⇒ un nettoyage complet des surfaces et des composants pour enlever tous dépôts ou boues.

⇒ une désinfection par " choc chloré " (30 à 50 mg/litre de chlore libre pendant 2 à 3 heures de circulation dans l'équipement suivie d'une vidange et d'un remplissage).

XIII – 1.2 Mesures de prévention à long terme (35) :

⇒ une maintenance régulière de préférence par une entreprise spécialisée :

- * contrôler l'intégrité des dispositifs d'arrêt des gouttelettes et si nécessaire procéder à leur remplacement.

- * vérifier l'évacuation correcte des eaux de rejet à l'égout.

- * nettoyer périodiquement les circuits : faire circuler un dispersant, évacuer les boues au fond des cuves et frotter les surfaces pour éliminer les dépôts.

- * protéger le personnel par le port d'un masque.

- * tenir un carnet d'exploitation.

⇒ une mesure de chloration permanente est souhaitable (2 à 3 mg./litre de chlore libre). Si elle n'est pas techniquement possible, il peut être procédé régulièrement à des chocs chlorés.

Des mesures complémentaires sont à prendre pour modifier les installations si le débouché de la tour n'est pas suffisamment éloigné des prises d'air et ventilations des bâtiments ou des lieux publics.

Si des travaux de remplacement sont programmés, un équipement à batterie sèche qui élimine le contact entre le fluide contaminé et l'air sera préféré.

XIII– 2. LES SYSTEMES DE CLIMATISATION A BATTERIES :

L'enquête d'environnement doit conduire à une expertise de l'ensemble du système de climatisation à la recherche d'endroits où l'eau peut stagner. Une attention particulière est portée (35) :

- sur les échangeurs thermiques à batteries froides qui assurent le rafraîchissement et la déshumidification de l'air. Les condensats sont recueillis dans un bac de récupération et évacués à l'égout. Un entretien défectueux (siphon obstrué ou désamorcé) et/ou une mauvaise conception (pente du bac) y favorisent la stagnation de l'eau.
- sur les humidificateurs et en particulier sur les humidificateurs à ruissellement et à pulvérisation d'eau sous pression.

XIII – 2.1 Mesures de lutte à court terme :

- ⇒ un nettoyage complet des surfaces et des composants pour enlever tous dépôts ou boues.
- ⇒ une désinfection par brossage avec des produits chlorés, qu'il conviendra d'éliminer avant la mise en service de l'installation.

XIII – 2.2 Mesures de prévention à long terme :

- ⇒ la qualité de l'eau introduite dans les humidificateurs doit être soigneusement contrôlée.
- ⇒ la qualité de la maintenance est essentielle :
 - * les batteries froides et les caissons d'humidification doivent faire l'objet d'une inspection visuelle, au minimum tous les 3 mois pour contrôler le bon écoulement de l'eau et l'absence de dépôts sur les parois.
 - * les équipements doivent être nettoyer et désinfectés périodiquement avec les produits préconisés dans les consignes d'entretien.

* en cas d'arrêt de l'humidificateur pendant une période prolongée, il faut vidanger le bac, déposer le système de ruissellement et maintenir le siphon rempli.

Des mesures complémentaires peuvent être prises. Il est conseillé d'installer un filtre de porosité microbiologique (0.4 micron) sur le circuit d'eau d'humidification. Si des travaux sont programmés, il faut veiller (35) :

* à l'implantation des prises d'air neuf (elles ne doivent pas être situées sous le vent ou à proximité de sources productrices de "panache" de gouttelettes) .

* au choix d'un système d'humidification par injection de vapeur ou tout dispositif ne permettant pas la stagnation d'eau ou son recyclage.

XIV – MESURES DE LUTTE ET DE PREVENTION AU NIVEAU DU SERVICE HOSPITALIER

XIV – 1. MESURES CONCERNANT L'OXYGENOTHERAPIE NASALE, LA VENTILATION ARTIFICIELLE, L' AEROSOL ET LA NEBULISATION

Au niveau d'un service hospitalier la prévention de la légionellose liée à une contamination lors de l'**oxygénothérapie nasale**, des **aérosols**, de la **nébulisation** et de la **ventilation artificielle**, repose sur les mesures suivantes (36) :

Il est recommandé d'utiliser de l'eau stérile pour les réservoirs. Les solutions utilisées pour l'aérosolisation et la nébulisation doivent, de préférence, être conditionnées en monodoses, et utilisés et stockées dans de strictes conditions d'asepsie pour éviter toute contamination. Lorsque les réservoirs sont presque vides,

il ne faut pas compléter le niveau, mais jeter le liquide restant avant de procéder à un nouveau remplissage.

Il faut respecter les procédures d'entretien ; les réservoirs sont nettoyés, désinfectés, rincés et séchés tous les jours.

Une oxygénothérapie à un débit inférieur à 3 litres /minute nécessite rarement une humidification. Les réservoirs jetables pré-remplis d'eau stérile (système clos) apportent une meilleure sécurité. On évite ainsi le risque lié à la contamination de l'eau stagnante d'un barboteur et l'envoi de particules contaminées (36).

Lors de l'administration d'aérosols, il est établi que plus les particules sont petites (cas de l'**appareil ultrasonique**), plus le risque infectieux augmente. Il est donc préférable d'employer des **appareils non ultrasoniques** avec utilisation d'un masque, d'un raccord et d'un récipient par patient, qui seront nettoyés, rincés et séchés, entre chaque usage. En cas d'utilisation d'**appareils ultrasoniques**, l'ensemble des circuits et des produits doivent être stériles lors de chaque utilisation.

Lorsqu'un **humidificateur chauffant** est utilisé, celui-ci est rempli avec de l'eau stérile. Le liquide stagnant dans les tuyaux et le piège à eau, est éliminé et ne doit jamais refluer vers le patient ou l'humidificateur.

Les **circuits des respirateurs** sont classiquement changés de façon périodique chez un même patient. La fréquence idéale de changement n'est pas connue et il semble possible de ne changer les circuits qu'entre chaque patient (sauf en cas de souillure visible).

Les **blocs expiratoires** sont stérilisés entre chaque patient.

Les **trappes à eau** sont maintenues en position déclive et leur contenu doit être éliminé plusieurs fois par jour.

Un carnet de bord indiquant les dates de changement des circuits, ainsi que les cycles de stérilisation ou de désinfection est mis en place pour chaque ventilateur.

Lorsqu'un **filtre anti-bactérien et anti-viral** ou un **échangeur de chaleur et d'humidité ayant un pouvoir de filtration anti-bactérien et anti-viral (ECH-F)** est utilisé, il n'est utile de changer les tuyaux que pour chaque nouveau patient .

En revanche, le filtre ou l'ECH-F et le système de connexion avec la sonde d'intubation sont changés régulièrement. La plupart des équipes utilise un délai de 24 heures à 48 heures ; l'allongement à 48 heures du rythme de changement n'a pas semblé délétère jusqu'à présent (36).

Il n'y a pas d'argument en terme de prévention de pneumopathies nosocomiales pour préférer les ECH-F aux humidificateurs, mais la charge en soins est nettement réduite par l'utilisation d' ECH-F (36).

L' **aspiration trachéo-bronchique** se pratique avec une sonde souple, non blessante, stérile pour chaque aspiration et manipulée aseptiquement. L'hygiène des mains doit être absolue avant et après le soin.

La séquence d'aspiration est la suivante : zone broncho-trachéale, - rhino-pharynx, - bouche.

Après le soin le circuit est rincé au moyen d'eau stérile, avec ou sans antiseptique. Le bocal récepteur est individuel, nettoyé et désinfecté toutes les 24 heures. Pour usage entre deux patients, les bouches, raccords et tuyaux sont désinfectés (36).

XIV – 2. MESURES CONCERNANT LES APPAREILS D'ENDOSCOPIE :

L'entretien des **appareils d'endoscopie** doit se faire immédiatement après usage. Tout endoscope, rigide ou souple, doit faire l'objet d'un essuyage et d'un rinçage, suivis d'un lavage minutieux au moyen d'eau additionnée d'un détergent. Selon le type d'endoscope et l'usage qui en sera fait, l'appareil doit être soit désinfecté, soit stérilisé.

La désinfection est effectuée par immersion dans une solution alcaline de glutaraldéhyde activé à 2% pendant 20 minutes. Cette immersion est suivie d'un abondant rinçage à l'eau stérile et éventuellement d'un séchage (11).

La stérilisation est effectuée soit par traitement à l'autoclave pour le matériel invasif comme les pinces de l'endoscope, suivi d'une désorption, soit par immersion dans une solution alcaline de glutaraldéhyde activé à 2% pendant 2 à 3 heures, suivi d'un abondant rinçage à l'eau stérile et, le cas échéant, d'un séchage (11).

La description d'un cas de pseudo-épidémie à *Legionella pneumophila* séro groupe 6 contaminant les prélèvements de liquides broncho-alvéolaires montre l'importance de ces mesures. Dans cet exemple, la source de contamination était l'eau du robinet utilisée pour rincer les bronchoscopes désinfectés (60).

XIV – 3. MESURES CONCERNANT LES PATIENTS ET LE PERSONNEL HOSPITALIER :

Comme il a été décrit précédemment , la transmission de la légionellose se fait par inhalation d'aérosols d'eau contenant la bactérie, ou plus rarement par instillation directe d'eau contaminée dans la trachée ou les bronches, particulièrement chez des sujets présentant des facteurs de risque.

Etant donné qu'il n'y a pas de transmission inter-humaine démontrée, le diagnostic d'un cas de légionellose ne doit pas entraîner l'isolement du patient par rapport aux autres patients du service. De même, il n'y a pas de mesures particulières à prendre vis-à-vis du personnel soignant.

Lorsqu'il s'agit d'une infection dont l'origine est nosocomiale le protocole établi par le CLIN de l'établissement est appliqué. Il précise, comme il a été vu plus haut, les mesures de protection des patients exposés, en cas de résultat positif au niveau des analyses d'eau.

Ceci montre en plus des mesures concernant le réseau de distribution d'eau et de climatisation, l'importance de la formalisation des procédures d'utilisation de l'eau pour les soins et pour la désinfection des dispositifs médicaux. Ces procédures doivent être disponibles dans les services de soins et aisément consultables. La formation du personnel à ces procédures doit être assurée (13).

XV – DISCUSSION

Comme il a été décrit, la légionellose est une infection pulmonaire aiguë dont le mode de contamination résulte de l'inhalation d'aérosols contenant des légionelles.

La maladie peut survenir soit sous forme d'épidémies, soit plus souvent sous forme de cas sporadiques.

Ces bactéries ont été isolées de la plupart des milieux aquatiques naturels, et elles colonisent respectivement 75% et 64% des équipements de production et de distribution d'eau chaude de type collectif et à usage sanitaire (18). Le nombre de cas de légionellose acquis en milieu hospitalier représente environ 20% de l'ensemble des légionelloses (40) et cette bactérie serait responsable de 1% à 30% des pneumopathies nosocomiales (33,44).

Ces informations permettent d'affirmer que l'hôpital, du fait de son architecture comportant très souvent des réseaux de distribution de l'eau extrêmement complexes, est un endroit idéal d'émergence de la légionellose ; il met en contact des patients hospitalisés présentant les facteurs favorisant l'acquisition de la maladie, et les *Legionella* qui trouvent dans ces réseaux de distribution d'eau et éventuellement de climatisation, un milieu souvent favorable à leur multiplication.

XV – 1. STRATEGIES GENERALES DE PREVENTION ET DE TRAITEMENT :

Ainsi, depuis la circulaire DGS 98/771 du 31 Décembre 1998 (13), la prévention des légionelloses est obligatoire, même en absence de cas, dans les hôpitaux et les établissements de soins, les gestionnaires de ces établissements ayant la responsabilité de vérifier et de garantir la qualité de l'eau au point d'usage.

Le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) de l'établissement doit ainsi élaborer un dossier complet comprenant quatre volets (40).

Le premier volet comporte l'élaboration d'un plan détaillé du réseau de distribution de l'eau, que ce soit pour le réseau primaire (canalisation entre l'arrivée d'eau extérieure et les vannes propres à chaque unité), le réseau secondaire (constitué par les colonnes montantes depuis les vannes de chaque pavillon, unité ou étage) ou le réseau capillaire (canalisation depuis les colonnes montantes jusqu'aux lieux de puisage). D'autres éléments doivent compléter ce plan : la localisation des bras morts favorisant l'accumulation de biofilm, le type de production d'eau chaude (instantanée ou par accumulation), la qualité des matériaux de canalisation, et la température de l'eau des ballons d'eau chaude.

Ce volet peut être pris en charge par les services techniques de l'établissement.

Le deuxième volet comporte les protocoles de maintenance indispensables pour l'efficacité des traitements de désinfection ultérieurs. Ces protocoles comprennent l'entretien des éléments de robinetterie, des ballons d'eau chaude et des systèmes de climatisation.

Ce volet peut également être pris en charge par les services techniques de l'établissement et nécessite l'élaboration d'un cahier de charges bien précis.

Le troisième volet comporte l'analyse de l'eau en vue de la surveillance de sa contamination, par l'étude de deux points d'usage par tranche de cent lits. Cette analyse de l'eau, réalisée selon la norme AFNOR T90-431 de Novembre 1993, sera annuelle, trimestrielle ou mensuelle en fonction des résultats.

Ce volet peut être confié au laboratoire de microbiologie ou d'hygiène de l'établissement, dès lors qu'il possède les moyens financiers et techniques pour réaliser l'analyse selon une technique normalisée.

Le quatrième volet concerne la décolonisation du réseau, si cela s'avère nécessaire, ce qui est le cas la plupart du temps.

Pour cela, il n'existe aucune méthode de désinfection idéale et adaptée à tous les établissements de santé. Chaque réseau d'eau constitue un écosystème stable dans le temps, et le choix de la méthode de désinfection doit être fait en fonction de la

structure du réseau et de son applicabilité (bâtiment pavillonnaire ou en tour, nombre de lits, matériau des canalisations, etc.).

XV – 2. EFFICACITE DES MOYENS MIS EN ŒUVRE :

L'absence de méthode de désinfection idéale met en évidence l'importance de la bonne connaissance du réseau et sa maintenance régulière.

Bien souvent, malgré l'utilisation d'un moyen de désinfection réputé efficace, des cas de légionellose surviennent. Il y a probablement à cela plusieurs raisons.

Toutes les méthodes sont sujettes à des erreurs humaines ou des défaillances mécaniques. La complexité des réseaux de distribution de l'eau peut entraîner des difficultés à assurer un traitement efficace de l'ensemble du système.

Enfin, l'exposition à une faible concentration de *Legionella* peut être suffisante à déclencher la maladie chez des patients à risque (13).

La stratégie la plus efficace semble être l'utilisation combinée de plusieurs moyens de désinfection.

Certaines équipes ont employé avec succès, conjointement, la décontamination par rayonnement ultraviolet, les chocs chlorés mensuels, la filtration, et l'élévation de la température des ballons d'eau chaude (59). D'autres utilisent l'ionisation cuivre - argent et la chloration continue (6).

En effet, la multiplication des systèmes de décontamination permet d'augmenter les chances de succès notamment lorsqu'un des systèmes de désinfection s'avère défaillant (81). De plus, les différents moyens de désinfection ont un effet synergique. En effet, les études *in vitro* montrent une synergie entre le chlore et les ultraviolets ou entre le chlore et l'ionisation cuivre – argent (81).

L'élévation de la température du réseau d'eau a également un effet synergique avec le chlore et l'ionisation cuivre – argent (51,76).

Au niveau du service hospitalier, l'efficacité des moyens mis en œuvre passe également par la codification et le respect des procédures d'utilisation de l'eau pour les soins et pour la désinfection des dispositifs médicaux.

Une question peut se poser sur le plan pratique : que faire dans un service lorsqu'une mesure de décontamination est mise en œuvre ?

Afin de perturber le moins possible le fonctionnement du service, il est conseillé d'intervenir de préférence la nuit, lorsque l'activité hospitalière est moins intense. Pendant la mise en route du choc chloré qui nécessite 2 à 3 heures, ou du choc thermique d'une durée de 30 minutes environ, il est possible d'utiliser de l'eau que l'on aura pris le soin de fournir au service avant le début de la décontamination du réseau.

XV – 3. INTERET DE LA SURVEILLANCE REGULIERE DES RESEAUX DE DISTRIBUTION D'EAU :

Depuis la circulaire DGS n° 98/771 du 31 Décembre 1998, il est recommandé de rechercher systématiquement une légionellose lors de la survenue d'une pneumopathie chez un patient hospitalisé (13). Même si la recherche d'antigène soluble urinaire constitue la méthode la plus simple et la plus rentable, il faut souligner l'intérêt de l'isolement d'une souche par les techniques microbiologiques (13,40).

En effet, la mise en culture systématique de prélèvements cliniques est primordiale lors de la suspicion d'un cas de légionellose. Cela permet par des techniques de typage moléculaire comme l'électrophorèse en champ pulsé, d'établir des liens de clonalité entre des souches isolées de malades et des souches isolées de l'environnement et ainsi de confirmer la source de contamination (40).

L'intérêt d'un suivi régulier de la colonisation des réseaux d'eau par des techniques de typage moléculaire est donc de recenser les différents clones présents.

Il est possible par conséquent d'obtenir une cartographie précise de la colonisation d'un établissement par *Legionella pneumophila*.

Ainsi, des études réalisées sur plusieurs années ont montré une modification de l'écologie des réseaux de distribution d'eau avec apparition ou disparition de populations clonales (69).

Couplée aux résultats des dénombrements bactériens, cette cartographie permet de suivre l'évolution de l'écologie d'un réseau de distribution d'eau et d'optimiser les mesures de désinfection (40).

XVI – CONCLUSION

Pour établir des stratégies efficaces de lutte et de prévention contre la transmission de la légionellose en milieu hospitalier, il est important de comprendre comment se fait le circuit de ces bactéries, à partir des réservoirs naturels jusqu'aux sources d'amplification et de dissémination faites par l'homme.

L'incidence rapportée de légionellose nosocomiale dépend essentiellement de deux facteurs : les moyens diagnostiques mis en œuvre au sein de l'établissement et la présence de *Legionella* dans les réseaux de distribution d'eau chaude sanitaire et de climatisation de l'hôpital (77).

Les cas peuvent survenir sur le mode épidémique, sporadique, ou endémique. Bien souvent, les cas sporadiques cachent en fait un état endémique au sein de l'établissement de soins, par défaut de mesures de contrôle des réseaux d'eau ou par défaut de moyens diagnostiques.

Lors de cas de légionellose, la recherche des sources de contamination est indispensable afin de mettre en évidence les réservoirs bactériens à l'origine de la colonisation du réseau d'eau et d'éviter, par des moyens de décontamination efficaces la transmission à d'autres patients.

Etant donné l'absence de méthode de désinfection idéale et adaptée à tous les types d'établissement de santé, la bonne connaissance du réseau et sa maintenance régulière conditionnent la réussite de la méthode de désinfection choisie.

Ceci met en évidence le rôle essentiel du CLIN de l'établissement dans l'élaboration des protocoles de surveillance du réseau hydrique et la formalisation des procédures d'utilisation de l'eau pour les dispositifs médicaux de traitement respiratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Addiss DG, Davis JP, La Venture M, Wand PJ, Hutchinson MA, McKinney RM. Community-acquired Legionnaires' disease associated with a cooling tower : evidence for longer-distance transport of *Legionella pneumophila*. Am J Epidemiol 1989 ; 130 :557-68
2. Alary M. Risk factors for contamination of domestic hot water systems by *Legionellae*. Appl Environ Microbiol. 1991 ;57 :2360-7
3. Arnow PM, Weil D, Para MF. Prevalence and significance of *Legionella pneumophila* contamination of residential hot-tap water system. J Infect Dis. 1985 ; 152 :145-51
4. Atlas RM, Willians JF, Huntington MK. *Legionella* contamination of dental-unit waters. Appl Environ Microbiol 1995 ;61 :1208-13
5. Bangsberg JM, Jensen BN, Friis-Moller A, Bruun B. Legionellosis in patients with HIV infection. Infection 1990 ; 18 :342-6
6. Biurrun A, Caballero L, Pelaz C, Leon E, Gago A. Treatment of a *Legionella pneumophila* colonized water distribution system using copper-silver ionization and continuous chlorination. Infect Control Hosp Epidemiol 1999 ;20 :426-8
7. Blatt SP, Dolan MJ, Hendrix CW, Melcher GP. Legionnaires' disease in human immunodeficiency virus-infected patients : eight cases and review. Clin Infect Dis 1994 ;18 :227-32
8. Bornstein N. Activité comparée des antibiotiques sur les *Legionella*. La lettre de l'Infectiologue 1995 ;10 :321-6
9. Bornstein N, Surgot M, Fleurette J. Bilan d'activité du Centre National de Référence pour les légionelloses depuis 11 ans. Bull Epidemiol Hebd. 1992 ;3 :9-10
10. Campese C, Decludt B. Les légionelloses déclarées en France en 1998. BEH 2000 ;12 :49-51

11. Circulaire DGS n° 96/236 du 2 Avril 1996 relative aux modalités de désinfection des endoscopes dans les lieux de soins
12. Circulaire DGS n° 97/311 du 24 Avril 1997 relative à la surveillance et à la prévention de la légionellose.
13. Circulaire DGS n° 98/771 du 31 Décembre 1998 relative à la mise en œuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux légionelles dans les installations à risques et dans celles des bâtiments recevant du public.
14. Decludt B, Capek I, Guillotin L, Van Gastel B, Cosson C, Guillemin MA et al. Cas groupés de légionelloses dans le 15^{ème} arrondissement de Paris, Août 1999. BEH 1999 ;(41) :173
15. Decludt B, Perrocheau A, Cerase-Feurra V. Les légionelloses déclarées en France en 1997. In : Bulletin épidémiologique annuel. Epidémiologie des maladies infectieuses en France. Situation en 1997 et tendances évolutives récentes. Réseau National de Santé Publique, Saint-Maurice, France, Avril 1999 :131-3
16. Décret n° 89-3 du 3 Janvier 1989 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles. JO du 4 Janvier 1989 ; modifié par le décret n° 95-363 du 5 Avril 1995. JO du 7 Avril 1995
17. Dediccoat M, Venkatesan P. The treatment of Legionnaires' disease. J Antimicrob Chemother 1999 ;43 :747-52
18. Desplaces N, Nahapetian K, Dournon E. Inventaire des *Legionella* dans l'environnement parisien. Presse Med. 1984 ;13 :1875-9
19. Dominguez JA, Gali N, Matas L, Pedreso P, Hernandez A, Padilla E et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic assay for the detection of *Legionella* antigen in urine samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999 ;18 :896-8
20. Dominguez JA, Gali N, Pedreso P, Fargas A, Padilla E, Manterola JM, et al. Comparison of the Binax *Legionella* urinary antigen enzyme immunoassay (EIA) with the Biotest *Legionella* urinary antigen EIA for detection of *Legionella* antigen in both concentrated and nonconcentrated urine samples. J Clin Microbiol 1998 ;36 :2718-22

21. Duse AG. Nosocomial infections in HIV-infected AIDS patients. *J Hosp Infect* 1999 ;43 Suppl :S191-201
22. Edelstein PH. Legionnaires' disease. *Clin Infect Dis* 1993 ;16 :741-9
23. Epidémiologie des maladies à déclaration obligatoire en France. *Bull Epidémiol Hebd.* 1997 February, special issue
24. Falco V, Fernandez de Sevilla T, Alegre J, Ferrer A, Martinez Vazquez JM. *Legionella pneumophila* : a cause of severe community-acquired pneumonia. *Chest* 1991 ;100 :1007-11
25. Fields BS. The molecular ecology of *Legionellae*. *Trends Microbiol* 1996 ;4 :286-90
26. Fields BS. *Legionella* and protozoa : interaction of a pathogen and its natural host. In : Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, eds. *Legionella* :current status and emerging prospectives. Washington D.C. : ASM, 1993 :129-36
27. Fliersmans CB, Cherry WB, Orrison LH, Smith SJ, Tison DL, Pope DH. Ecological distribution of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 1981 ;41 :9-1
28. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham J, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS and the Field Investigation Team – Legionnaires' disease. Description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med.* 1977 ;297 :1189-97
29. Graman PS, Quinlan GA, Rank JA. Nosocomial legionellosis traced to a contaminated ice machine. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ;18 :637-40
30. Harf C, Monteil H. Interactions between free-living amoebae and *Legionella* in the environment. *Wat Sci Tech* 1988 ;20 :235-9
31. Heath CH, Grove DI, Looke DFM. Delay in appropriate therapy of *Legionella* pneumonia associated with increased mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996 ;15 :286-90

32. Hlady WG, Muller RC, Mintz CS, Shelton BG, Hopkins RS, Daikos GL. Outbreak of Legionnaires' disease linked to a decorative fountain by molecular epidemiology. *Am J Epidemiol* 1993 ;138 :555-62
33. Hoge CW, Breiman RF ; Advances in the epidemiology and control of *Legionella* infections. *Epidemiol Rev* 1991 ; 13 :329-40
34. Hubert B, Haury B. (rapporteurs) Orientation pour la révision des modalités de surveillance des maladies transmissibles en France. *Bull Epidémiol Hebd.* 1996 ;26 :115-7
35. Hubert B, Infuso A, Ledrans M. Guide d'investigations d'un ou plusieurs cas de légionellose. *BEH* 1997 ;20 :83-101
36. Hygis N. Hygiène hospitalière. Lyon : Presses Universitaires de Lyon,1998 ;26-9
37. Infuso A, Hubert B, Etienne J. La sous-déclaration de la légionellose en France : pour une surveillance plus active. *BEH* 1998 ;38 :165-7
38. ISO 11731. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des légionelles. 1^{er} Mai 1998
39. Jarraud S, Reyrolle M, Etienne J. *Legionella* et légionellose. In : Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C, eds. Précis de bactériologie clinique. Paris : ESKA, 2000 :1389-405
40. Jarraud S, Reyrolle M, Malmeret M, Lina G, Vandenesch F, Etienne J. Légionelles : modalités d'applications de la circulaire DGS n° 98/771 du 31 Décembre 1998 concernant la présence de *Legionella* dans l'eau. *Lettre de l'Infectiologue* 2000 ;15 :62-5
41. 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 :475-80
42. Joly JR. Monitoring for the presence of Legionella : where, when, and how ? In : Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, eds. *Legionella* : current status and emerging perspectives. Washington D.C. : ASM, 1993 :211-6

43. Joseph C, Hutchinson E. Legionnaires' disease in Europe :1-9-1995. In : Proceedings of the 11th meeting of the European Working Group on *Legionella* Infections. Oslo, Hcl Defense Command Norway(2-4 Juin 1996) :1-9
44. Kirby BA, Synder KM, Meyer RD, Finegold SM. Legionnaires' disease : report of sixty-five nosocomially acquired cases and review of the literature. *Medicine* 1980 ;59 :188-205
45. Köhler JR, Maiwald M, Lück PC, Helbig JH, Hingst V, Sonntag HG. Detecting legionellosis by unselected culture of respiratory tract secretions and developing links to hospital water strains. *J Hosp Infect* 1999, 41 :301-11
46. Kohler RB, Winn WC, Wheat LJ. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 1984 ;20 :605-7
47. Kohorst WR, Schonfeld SA, Macklin JE, Whitcomb ME. Rapid diagnosis of legionnaires' disease by bronchoalveolar lavage. *Chest* 1983 ;84 :186-90
48. Kool JL, Bergmire-Sweat D, Butler JC, Brown EW, PEABODY DJ, Massi DS et al. Hospital characteristics asociated whith colonisation of water systems by *Legionella* and risk of nosocomial Legionnaires' disease : a cohort study of 15 hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999 ;20 :798-805
49. Kool JL, Carpenter JC, Fields BS. Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' disease. *Lancet* 1999 ;353 :272-7
50. Kwaik YA, Gao LY, Stone BJ, Venkataraman C, Harb OS. Invasion of protozoa by *Legionella pneumophila* and its role in bacterial ecology and pathogenesis. *App Environ Microbiol* 1998 ;64 :3127-33
51. Landeen LK, Yahya MT, Gerba CP. Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol* 1989 ;55 :3045-50
52. Lee TC, Stout JE, Yu VL. Factors predisposing to *Legionella pneumophila* colonization in residential water system. *Arch Environ Health*. 1988 ;43 :59-62

53. Leophonte P, Larios-Ramos L, Rouquet RM. Pneumonies extra - hospitalières. Rev Prat. 1989 ;39 :1570-5
54. Lepine LA, Jernigan DB, Butler JC, Pruckler JM, Benson RF, Kim G et al. A recurrent outbreak of nosocomial Legionnaires' disease detected by urinary antigen testing : evidence for long-term colonization of a hospital plumbing system. Infect Control Hosp Epidemiol 1998 ;19 :905-10
55. Levine ASS, Gobara S, Scarpitta CM, Warschauer CL, Sinto SI et al. Electric showers as a control measure for *Legionella spp.* In a renal transplant unit in Sao Paulo Brazil. J Hosp Infect 1995 ;30 :133-7
56. Levy M, Dromer F, Brion N, Leturdu F, Carbon C. Community – acquired pneumonia. Importance of initial non invasive bacteriologic and radiographic investigations. Chest 1988 ;92 :43-8
57. Marston BJ, Lipman HB, Brieman RF. Surveillance for Legionnaires' disease : risk factors for morbidity and mortality. Arch Intern Med 1994 ;154 :2417-22
58. Mastro TD, Fields BS, Breiman RF, CampbellJ, Plikaytis BD, Spika JS. Nosocomial Legionnaires' disease and use of medication nebulizers. J Infect Dis 1991 ;163 :667-71
59. Matulonis U, Rsenfeld CS, Shaddock RK. Prevention of *Legionella* infections in a bone marrow transplant unit : multifaceted approach to decontamination of a water system. Infect Control Hosp Epidemiol 1993 ;14 :571-5
60. Mitchell DH, Hicks LJ, Chiew R, Montanaro JC, Chen SC. Pseudoepidemic of *Legionella pneumophila* serogroup 6 associated with contaminated bronchoscopes. J Hosp Infect 1997 ;37 :19-23
61. Nahapetian K, Challemel O, Beurtin D, Dubrou S, Gounon P, Squinazi F. The intracellular multiplication of *Legionella pneumophila* in protozoa from hospital plumbing systems. Res Microbiol. 1991 ;142 :677-85
62. Nardone A, Decludt B, Jarraud S, Reyrolle M, Laurent E, Desenclos JC, et les chefs de service des laboratoires de bactériologie. Evaluation épidémiologique du renforcement de la surveillance de la légionellose en France. Communication aux journées scientifiques de l'Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France, 2-3 Décembre 1999

63. Nauciel C, Guilhin P, Matsiota-Bernard P, Ronco E. Légionellose en région parisienne : épidémiologie et mortalité ; à propos d'une série de 81 cas à culture positive. *Presse Med* 1996 ;25 :1786-8
64. Normalisation française. Essais des eaux. Recherche et dénombrement de *Legionella* et *Legionella pneumophila* Norme T 90-431. AFNOR. Novembre 1993
65. Now *Legionella* Test. Binax Vital Information. Distribué par Oxoid 6, route de Paisy BP 13 – 69571 Dardilly Cedex
66. Pelletier A, Hubert B. Les légionelloses déclarées en France de 1988 à 1990. *Bull Epidemiol Hebd.* 1991 ;38 :163-5
67. Perrocheau A, Guillotin L, Etienne J, Carlier D, Decludt B. Foyer épidémique de légionelloses à Paris en Juin et Juillet 1998. Le point de la situation au 14/08/98. *BEH* 1998 ;35 :149-50
68. Plouffe JP, File TM, Breiman RF, Hackman BA, Salstrom SJ, Marston BJ, Fields BS and the Coounty Based Pneumonia Incidence Study Group. Reevaluation of the definition of Legionnaires' disease : use of the urinary antigen assay. *Clin Infect Dis* 1995 ;20 :1286-91
69. Rangel- Frausto MS, Rhomerg P, Hollis RJ, Pfaller MA, Wenzel RP, Helms CM et al. Persistence of *Legionella pneumophila* in a hospital's water system, a 13 year survey. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999 ;20 :793-7
70. Rihs JD, Yu VL, Zuravleff JJ, Goetz A, Muder RR. Isolation of *Legionella pneumophila* from blood using the BACTEC : a prospective study yielding positive results. *J Clin Microbiol* 1985 ;22 : 422-4
71. Rohr U, Senger M, Selenka F, Tuley R, Wihelm M. Four years of experience with silver-copper ionization for control of *Legionella* in a german university hospital hot water plumbing system. *Clin Infect Dis* 1999 ;29 :1507-11
72. Roing J, Aguilar X, Ruiz J, Domingo C, Mesalles E, Manterola J, Morera J. Comparative sudy of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest* 1991 ;99 :344-50

73. Ruf B, Schürmann D, Horbach I, Fehrenbach FJ, Pohle HD. Prevalence and diagnosis of *Legionella* pneumonia : a 3-year prospective study with emphasis on application of urinary antigen detection. J Infect Dis 1990 ;162 :1341-8
74. Sirodot M, Dorez D, Santre C. Diagnostic et traitement des légionelloses. Rev Fr Lab 1999 ;312 :125-8
75. Squinazi F, Nahapetian K. *Legionella pneumophila* :méthodes de recherche chez l'homme et dans l'environnement. Rev Fr Lab 1988 ;172 :33-41
76. Stout JE, Lin YSE, Goetz AM, Muder RR. Controlling *Legionella* in hospital water systems : experience with the superheat-and-flush method and copper-silver ionization. Infect Control Hosp Epidemiol 1998 ;19 :911-4
77. Stout JE, Yu VL. Legionellosis. N Engl J Med 1997 ;337 :682-7
78. Tompkins LS, Roessler BJ, Redd SC, Markowitz LE, Cohen ML. *Legionella* prosthetic-valve endocarditis. N Engl J Med 1988 ;318 :530-5
79. Woo AH, Goetz A, Yu VL. Transmission of *Legionella* by respiratory equipment and aerosol generating devices. Chest 1992 ;102 :1586-90
80. Yu VL. Could aspiration be the major mode of transmission for *Legionella* ? Am J Med 1993 ;95 :13-5
81. Yu VL. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella* : a modest proposal. Infect Control Hosp Epidemiol 1998 ;19 :893-7
82. Yu VL, Kroboth FJ, Shonnard J, Brown A, McDearman S, Magnussen M. Legionnaires' disease : new clinical perspective from a prospective pneumonia study. Am J Med 1982 ;73 :357-61
83. Zuravleff JJ, Yu VL, Shonnard JW, Davis BK, Rihs JD. Diagnosis of Legionnaires' disease. An update of laboratory methods with new emphasis on isolation by culture. JAMA 1983 ;250 :1981-5

RESUME

La légionellose est une pneumopathie sévère dont le mode de contamination résulte de l'inhalation d'aérosols contenant des légionelles, et dont le pronostic est lié au terrain et à la précocité du traitement.

En milieu hospitalier, les réseaux d'eau chaude sanitaire constituent des milieux favorables pour la multiplication des légionelles, car ils sont le plus souvent extrêmement complexes, facilitant l'accumulation de tartre et de biofilm. Les douches, les systèmes de climatisation et d'humidification de l'air, les tours aéro-réfrigérentes sont ainsi incriminés.

Les protocoles de surveillance et de prévention sont élaborés par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) de l'établissement. Ce comité est chargé d'obtenir la description du réseau d'eau, d'élaborer des protocoles d'entretien, de surveiller la contamination de l'eau par la recherche régulière de légionelles et d'élaborer un programme d'amélioration du réseau et de décolonisation si nécessaire.

En l'absence de méthode idéale, le choix de la méthode de désinfection sera fonction des possibilités d'application dans l'établissement.