

Légionellose et pratiques diagnostiques des laboratoires de biologie médicale de la région **Poitou-Charentes** en **2002**

Réalisation de l'étude

Cellule interrégionale d'épidémiologie Centre-Ouest, Orléans :

Cyril GILLES

Catherine CHUBILLEAU

A contribué à cette étude :

Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice :

Bénédicte DECLUDT



DRASS DU CENTRE
CIRE CENTRE-OUEST



Laboratoires ayant participé à l'enquête

Laboratoire du Château	16 000	ANGOULEME
Laboratoire Saint-Roch	16 000	ANGOULEME
LABM ABDER-HALDEN	16 000	ANGOULEME
LABM BEAUCHET - LANDREAU - BOUTAREAUD	16 000	ANGOULEME
LABM LAGRANGE	16 000	ANGOULEME
LABM EURIEULT	16 000	ANGOULEME
Laboratoire du Centre d'examens de santé de la CPAM	16 000	ANGOULEME
LABM LAVIELLE - DUPUY	16 300	BARBEZIEUX SAINT HILAIRE
Laboratoire du Centre hospitalier	16 300	BARBEZIEUX SAINT HILAIRE
Laboratoire d'analyses médicales	16 210	CHALAIS
Laboratoire Beaulieu	16 100	COGNAC
CJ BIO MEHL, OLIVIE, DUPUIS	16 104	COGNAC cedex
LABM HUTEN - MAILLOCHON	16 500	CONFOLENS
LABM NORMAND DE LA TRANCHADE	16 200	JARNAC
LABM MARNAS - VIZQUEL	16 110	LA ROCHEFOUCAULD
LABM FANAUD	16 700	RUFFEC
LABM BRUGIER - RATAUD	17 440	AYTRE
LABM METAYER	17 340	CHATELAILLON
LABM COUPRIE - BOYER	17 500	JONZAC
Laboratoire du Centre hospitalier	17 500	JONZAC
CYLAB	17 000	LA ROCHELLE
LABM FERRU-CLERC-PRZYROWSKI-FILLIOL-MOREAU	17 000	LA ROCHELLE
LABM RENESME - POIRIER - JAILLAIS	17 000	LA ROCHELLE
Laboratoire du Champ de Mars	17 000	LA ROCHELLE
Laboratoire du Centre hospitalier	17 000	LA ROCHELLE
SEUDRE BIOLOGIE	17 390	LA TREMBLADE
LABM LOUSTAU	17 390	LA TREMBLADE
LABM MOVASSAGHI	17 230	MARANS
LABM GUITON	17 320	MARENNES
LABM JUNQUA-KERCKHOVE-PAUCHET	17 130	MONTENDRE
LABM GRUEL	17 130	MONTENDRE
LABM LAVIELLE - DUPUY	17 270	MONTGUYON
LABM COINDREAU	17 800	PONS
LABM CHAVIGNY	17 300	ROCHEFORT
Laboratoire du Centre hospitalier	17 300	ROCHEFORT
LABM GRABOT	17 200	ROYAN

Laboratoire d'analyses de biologie médicale Aunis Saintonge	17 211	ROYAN cedex
Laboratoire du Centre hospitalier	17 205	ROYAN cedex
Laboratoire du Centre hospitalier	17 400	SAINT JEAN D'ANGELY
Laboratoire de Saintonge	17 100	SAINTE
SAINTE BIOLOGIE	17 100	SAINTE
LABM ANGIBEAU	17 100	SAINTE
Laboratoire Saujonais d'analyses	17 600	SAUJON
RE-BIO-OCEAN	17 410	ST MARTIN DE RE
LABM FROUGIER - LANDAIS	17 310	ST PIERRE D'OLERON
LABM MACHEFERT - GRILLARD	17 430	TONNAY CHARENTE
LABM CHAPSAL	79 300	BRESSUIRE
LABM BONNETTE - NEUVILLE - GUILLOT	79 303	BRESSUIRE cedex
LABM GUIRRIEC	79 260	LA CRECHE
LABM THIBAUT	79 800	LA MOTHE ST HERAY
Laboratoire SAINT HILAIRE	79 700	MAULEON
LABM CHEVALIER	79 500	MELLE
LABM BOTTOS - MICHAUD - LELONG	79 000	NIORT
LABM MIGNON	79 000	NIORT
LABM FOURNIER	79 000	NIORT
LABM BOIZARD - CHAABAN	79 000	NIORT
Laboratoire du Centre hospitalier	79 000	NIORT
LABM NAULLEAU - BAILLARGEAU - YOU - FLEURY	79 200	PARTHENAY
LABM GUILLOT - BENETEAU	79 400	ST MAIXENT L'ECOLE
Laboratoire du Centre hospitalier Nord Deux-Sèvres	79 103	THOUARS cedex
LABM PAUTE - PEYRE	86 100	CHATELLERAULT
Laboratoire du Centre hospitalier Camille Guérin	86 100	CHATELLERAULT
LABM BRIOT	86 300	CHAUVIGNY
LABM KOWAL - AUBERT	86 400	CIVRAY
LABM RIES-GREJON	86 130	JAUNAY CLAN
LABM ANTONIOTTI - AUMOND	86 200	LOUDUN
LABM CAHON	86 110	MIREBEAU
LABM JACQUET - BERNARD	86 500	MONTMORILLON
Laboratoire du CENTRE HOSPITALIER	86 500	MONTMORILLON
Laboratoire du PARC	86 000	POITIERS
LABM HABRIOUX	86 000	POITIERS
LABM LAVERGNE-PANNETIER	86 000	POITIERS
LABM PAYARD - GRAU	86 000	POITIERS
LABM MURAINÉ - BLANCHON - LHOMME	86 000	POITIERS
LABM LARTIGUE - MICHAUDET	86 004	POITIERS
Laboratoire du Centre d'examen de santé de la C.P.A.M.	86 000	POITIERS
LABM NIVET-SOUCHAUD	86 006	POITIERS cedex
Laboratoire de Microbiologie A du CHU de Poitiers	86 021	POITIERS cedex

Sommaire

1. Contexte de l'étude	7
1.1. Introduction	7
1.2. Données de surveillance de la légionellose en France	7
1.3. Rappel sur la maladie	7
2. Objectifs de l'étude	11
3. Matériels et méthodes	13
3.1. Enquête auprès des laboratoires	13
3.2. Comparaison avec l'évaluation épidémiologique du système de surveillance de la légionellose en France de 1998	13
3.3. Déclaration obligatoire	13
3.4. Analyse statistique	13
4. Résultats	15
4.1. Enquête auprès des laboratoires	15
4.2. Activités diagnostiques de la légionellose en 2002	16
4.3. Analyses effectuées en 2001	17
4.4. Evolution des pratiques diagnostiques	19
4.5. Circuits de signalement	19
5. Données de surveillance de la déclaration obligatoire	21
5.1. Données de surveillance en France	21
5.2. Données de surveillance dans la région Poitou-Charentes	22
6. Discussion	25
7. Conclusion	27
8. Références	29
9. Sigles utilisés	31
10. Annexes	33

1. Contexte de l'étude

1.1. Introduction

Depuis 1987, la légionellose est une maladie à déclaration obligatoire. Ce système de surveillance a pour objectif de suivre l'évolution de l'incidence, de détecter les cas groupés et d'orienter les mesures de prévention. Afin de disposer d'un système de surveillance performant, il est important que les laboratoires puissent effectuer le diagnostic et signalent à la Ddass tout résultat positif. Le décret n° 99-362 du 6 mai 1999 précise que tout cas de légionellose doit être signalé par le médecin ou le responsable du service de biologie ou du laboratoire d'analyses de biologie médicale, public ou privé, au médecin inspecteur de santé publique de la Ddass (fiche de DO disponible à la Ddass ou sur le site de l'InVS, téléchargeable sur www.invs.sante.fr/surveillance/mdo).

1.2. Données de surveillance de la légionellose en France

De 1988 à 1996, moins de 100 cas annuels ont été déclarés. Les critères de définition incluaient une culture de *Legionella* positive ou une augmentation du titre d'anticorps anti-*Legionella* (multiplié par 4) avec un deuxième titre minimum de 128.

En 1995, une évaluation des systèmes français de surveillance des maladies infectieuses a considéré la révision de la surveillance de la légionellose comme une priorité (9). Afin de déterminer le niveau de sous-déclaration et évaluer la faisabilité d'un système de déclaration basé sur les laboratoires, une enquête a été réalisée auprès des laboratoires des hôpitaux publics en avril 1996. Cette enquête a montré une sous-déclaration importante. En effet, un cas de légionellose confirmé par laboratoire sur huit seulement était déclaré en 1995.

De nouveaux critères de déclaration ont été introduits en 1997, ajoutant comme critère de cas confirmé la détection de l'antigène urinaire et comme critère de cas possible la présence d'un titre d'anticorps élevé (≥ 256). En outre, depuis mai 1997, les médecins inspecteurs de santé publique sont informés de chaque cas confirmé de légionellose diagnostiqué au Centre national de référence. Le nombre de cas déclarés est passé progressivement de 206 cas en 1997 à 1 021 cas en 2002.

En 1999, une enquête par voie postale a été réalisée auprès des 413 laboratoires publics hospitaliers afin de connaître les pratiques de diagnostic de la légionellose et le nombre de cas diagnostiqués en 1998 (10). Cette enquête a révélé que sur les 288 laboratoires répondants (70 %), 121 (42 %) pratiquaient au moins une méthode diagnostique de la légionellose. Parmi ces méthodes, seuls 105 laboratoires (36 %) avaient utilisé le test de détection de l'antigène urinaire depuis 1997 ou en avaient prévu l'introduction en 1999. Cette enquête avait estimé l'exhaustivité de la déclaration obligatoire à 33 %.

Dans ce contexte, la Cire Centre-Ouest a souhaité réaliser une enquête en 2002 auprès des laboratoires de la région Poitou-Charentes afin de connaître l'évolution des pratiques diagnostiques tant au niveau des laboratoires publics que des laboratoires privés.

1.3. Rappel sur la maladie

La légionellose est une infection respiratoire provoquée par une bactérie du genre *Legionella* constituée de 48 espèces. Cette bactérie est un bacille à Gram négatif, aérobic stricte, mobile, oxydase -, gélatinase +. Le réservoir de la bactérie est essentiellement hydrique.

Les infections humaines sont le plus souvent dues à *L. pneumophila* (*L. pneumophila* séro groupe 1 dans plus de 80 % des cas, suivi du séro groupe 6), les autres espèces sont plus rarement en cause (*L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. longbeachae*...) et sont essentiellement isolées chez des patients immunodéprimés.

1.3.1. Transmission

La légionellose est transmise par inhalation d'aérosols d'eau contaminée. Les sources de contamination incriminées au cours des épidémies sont le plus souvent des installations provoquant une multiplication de *Legionella* dans l'eau (température optimale : 37°C) et leur aérosolisation. Suite à l'inhalation, les *Legionella* sont phagocytées par les macrophages intra-alvéolaires. La fusion entre les lysosomes et la vacuole de phagocytose est inhibée permettant aux *Legionella* de se multiplier aux dépens des macrophages.

1.3.2. Diagnostic clinique

Les légionelles peuvent déclencher deux formes cliniques : la maladie des légionnaires (ou légionellose) et la fièvre de Pontiac. L'incubation de la maladie des légionnaires dure de 2 à 10 jours. Elle se caractérise par un syndrome infectieux intense et une atteinte respiratoire (pneumonie extensive mal systématisée), souvent associée à des signes extra-respiratoires : troubles neurologiques sans signe de focalisation (céphalées, confusion, coma, troubles neuropsychiques), signes digestifs (diarrhée, douleurs abdominales). La fièvre de Pontiac est une atteinte bénigne des voies aériennes supérieures. Après une incubation courte (36 heures), apparaît un syndrome infectieux sous la forme d'une fièvre isolée ou d'un syndrome pseudo-grippal, qui guérit spontanément. Cette infection est exceptionnellement diagnostiquée. [1, 2, 3, 4]

1.3.3. Diagnostic biologique

Le diagnostic de légionellose repose actuellement sur 5 méthodes diagnostiques (Tableau 1). La culture reste l'examen de référence. Les légionelles peuvent être obtenues en culture sur des milieux supplémentés en L-cystéine et en sel ferrique ajustés à pH 6,9 (milieu charcoal-yeast agar ou CYE ou milieu CYE tamponnée ou BCYE). Ces milieux sont incubés à une température de 37°C en aérobiose sous 2,5 % de CO₂ ou sans CO₂. Les colonies apparaissent en 2 à 10 jours. Elles sont grises, brillantes et ont à la loupe binoculaire un aspect de verre fritté.

Tableau 1. Diagnostic microbiologique des légionelles [5, 6, 7, 8]

Méthode diagnostique	Nature des prélèvements	Sensibilité	Spécificité	Délai de diagnostic	Avantages	Inconvénients
1 Isolement de <i>Legionella</i> spp. dans un prélèvement clinique	Culture de sécrétions bronchiques (expectorations, aspirations) ou lavage broncho-alvéolaire sur milieu spécifique BCYE Hémoculture sur milieu BCYE Biopsie pulmonaire	30-90 % 10-30 % 90-99 %	100 %	résultat disponible en 3 à 10 jours	<ul style="list-style-type: none"> diagnostic de certitude = examen de référence permet d'identifier toutes les espèces de légionelles comparaison de la souche du malade avec une souche environnementale 	<ul style="list-style-type: none"> analyse non effectuée en routine (doit être demandée explicitement, les légionelles ne poussant pas sur les milieux usuels) culture difficile et lente
2 Immunofluorescence directe positive	Sécrétions bronchiques (lavage broncho-alvéolaire, brosse) Biopsie pulmonaire	25-75 % 80-90 %	95-99 % 99 %	résultat obtenu en 4 heures	<ul style="list-style-type: none"> détection rapide de l'antigène dans les prélèvements respiratoires 	<ul style="list-style-type: none"> spécifique de <i>L. pneumophila</i> (Lp1 ou Lp1-14, suivant le kit utilisé) réactions croisées avec d'autres bactéries (<i>Pseudomonas</i>, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>, <i>Bordetella pertussis</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Bacteroides fragilis</i>...)
3 7^e titre d'anticorps (X4) et 2^eme titre ≥ 128	Immunofluorescence indirecte dans 2 sérums (2 à 5 ml sur tube sec)	75 %	95-99 %	1 ^{er} sérum : premiers jours de la maladie 2 ^e me sérum : après 3 à 6 semaines d'évolution		<ul style="list-style-type: none"> diagnostic tardif nombreuses réactions croisées interprétation dépendante de l'antigène utilisé
4 Titre d'anticorps élevé ≥ 256	Sérum	inconnue	50-70 %			<ul style="list-style-type: none"> mauvaise valeur prédictive positive
5 Présence d'antigène soluble urinaire	Détection de l'Ag soluble dans les urines par ELISA ou immunochromatographie sur membrane	80-99 %	99 %	résultat en quelques jours	<ul style="list-style-type: none"> diagnostic précoce dès le début des signes diagnostic tardif (jusqu'à 2 mois) même après traitement antibiotique non invasif 	<ul style="list-style-type: none"> détection limitée à certains sérogroupes selon le kit utilisé
6 PCR	Amplification génique à partir de prélèvements : - d'urines, - de liquide broncho-alvéolaire (LBA) - de sérum	84 % (LBA)			<ul style="list-style-type: none"> détection de toutes les espèces de <i>Legionella</i>, y compris les légionelles difficilement ou non cultivables comme les LLAP (<i>Legionella</i>-like amoebal pathogens) méthode rapide intérêt si les autres examens sont négatifs 	<ul style="list-style-type: none"> non inclus dans les critères de définition nécessité de standardisation

2. Objectifs de l'étude

Objectif général :	<ul style="list-style-type: none">• Evaluation des pratiques diagnostiques de la légionellose des laboratoires publics et privés de la région Poitou-Charentes en 2001.
Objectifs spécifiques :	<ul style="list-style-type: none">• Evaluer les pratiques diagnostiques de la légionellose des laboratoires de microbiologie publics et privés de la région Poitou-Charentes, et plus particulièrement l'utilisation des tests de détection de l'antigène urinaire.• Comparer les pratiques diagnostiques de la légionellose des laboratoires publics et des laboratoires privés en 2001 dans la région Poitou-Charentes.• Evaluer l'évolution des pratiques diagnostiques des laboratoires de microbiologie publics de la région Poitou-Charentes ayant participé à l'enquête de 1998, entre 1998 et 2001.• Améliorer le diagnostic de la légionellose dans la région Poitou-Charentes• Renforcer les liens entre les laboratoires de microbiologie et le Centre national de référence des légionelles

3. Matériels et méthodes

3.1. Enquête auprès des laboratoires

Une enquête postale a été réalisée par la Cire Centre-Ouest auprès des laboratoires de biologie médicale publics et privés de la région Poitou-Charentes, dans le but de connaître les méthodes diagnostiques utilisées pour la détection des légionelles dans les prélèvements humains, ainsi que le nombre d'analyses effectuées au cours de l'année 2001.

Un premier courrier accompagné d'un questionnaire standardisé a été envoyé aux laboratoires mi-octobre 2002. Une relance par courrier a été effectuée début décembre 2002 aux laboratoires non-répondants.

Les informations recueillies étaient les suivantes :

Activités diagnostiques à ce jour : méthodes employées pour le diagnostic de légionellose, date d'introduction du test de détection de l'antigène urinaire et kit utilisé ;

Circuits de déclaration : signalement des cas diagnostiqués à la Ddass, envoi de la souche isolée au CNR ;

Biologie : Nombre d'analyses effectuées en 2001 par type de diagnostic (culture, sérologie, IF directe, Ag urinaire, PCR) et nombre de résultats positifs par type de diagnostic, nombre d'analyses adressées en 2001 à un autre laboratoire et nombre de résultats positifs par type de diagnostic.

3.2. Comparaison avec l'évaluation épidémiologique du système de surveillance de la légionellose en France de 1998

Une enquête postale a été menée par l'InVS en 1999 auprès des 413 laboratoires publics hospitaliers afin de connaître les pratiques diagnostiques de la légionellose et le nombre de cas diagnostiqués en 1998.

Une extraction des données recueillies sur les pratiques diagnostiques et le nombre total d'analyses réalisées en 1998 par type de diagnostic (culture, sérologie, IF directe, Ag urinaire, PCR) a été effectuée pour les laboratoires de la région Poitou-Charentes ayant participé à cette enquête de 1998.

3.3. Déclaration obligatoire

A partir des données fournies par la fiche de notification, les informations suivantes ont été extraites pour tous les cas domiciliés dans la région Poitou-Charentes, avec une date des premiers signes en 2002 :

- Patient : code postal du domicile,
- Biologie : type de diagnostic (culture, sérologie, IF directe, Ag urinaire) : résultat positif, négatif, analyse non effectuée.

3.4. Analyse statistique

Les questionnaires ont été saisis de façon anonymisée à l'aide du logiciel Epidata version 2.1. Un contrôle a été effectué par double saisie informatique.

L'analyse a été réalisée à l'aide du logiciel Epi Info version 6.04dfr.

4. Résultats

4.1. Enquête auprès des laboratoires

Taux de réponse

Parmi les 91 laboratoires contactés, 14 étaient des laboratoires publics (15 %) et 77 étaient des laboratoires privés (85 %). Au total, 78 laboratoires (86 %) ont répondu à l'enquête. La participation des laboratoires publics a été légèrement supérieure (93 %) à celle des laboratoires privés (84 %).

Tableau 2. Taux de réponse par département

Département	Laboratoires contactés		Réponses des laboratoires			
	Publics	Privés	Publics		Privés	
			Nombre	(%)	Nombre	(%)
CHARENTE (16)	3	14	2	(67 %)	14	(100 %)
CHARENTE-MARITIME (17)	5	31	5	(100 %)	25	(81 %)
DEUX-SEVRES (79)	2	15	2	(100 %)	12	(80 %)
VIENNE (86)	4	17	4	(100 %)	14	(82 %)
Total	14	77	13	(93 %)	65	(84 %)

Tous les laboratoires publics hospitaliers de la région ont répondu (sauf un laboratoire public qui n'effectue pas de recherche de légionelle), comprenant un centre hospitalier universitaire et 10 centres hospitaliers. La participation des laboratoires privés a varié de 80 % à 100 % selon les départements.

Tableau 3. Taux de réponse par type de laboratoire

Type de laboratoire	Laboratoires contactés	Réponses	
		Nombre	(%)
CHU	1	1	(100 %)
CENTRE HOSPITALIER	10	10	(100 %)
LABORATOIRE PRIVE	77	65	(84 %)
LABORATOIRE DE LA CPAM	2	2	(100 %)
LABORATOIRE DU CDTS*	1	0	(0 %)

* Centre départemental de transfusion sanguine

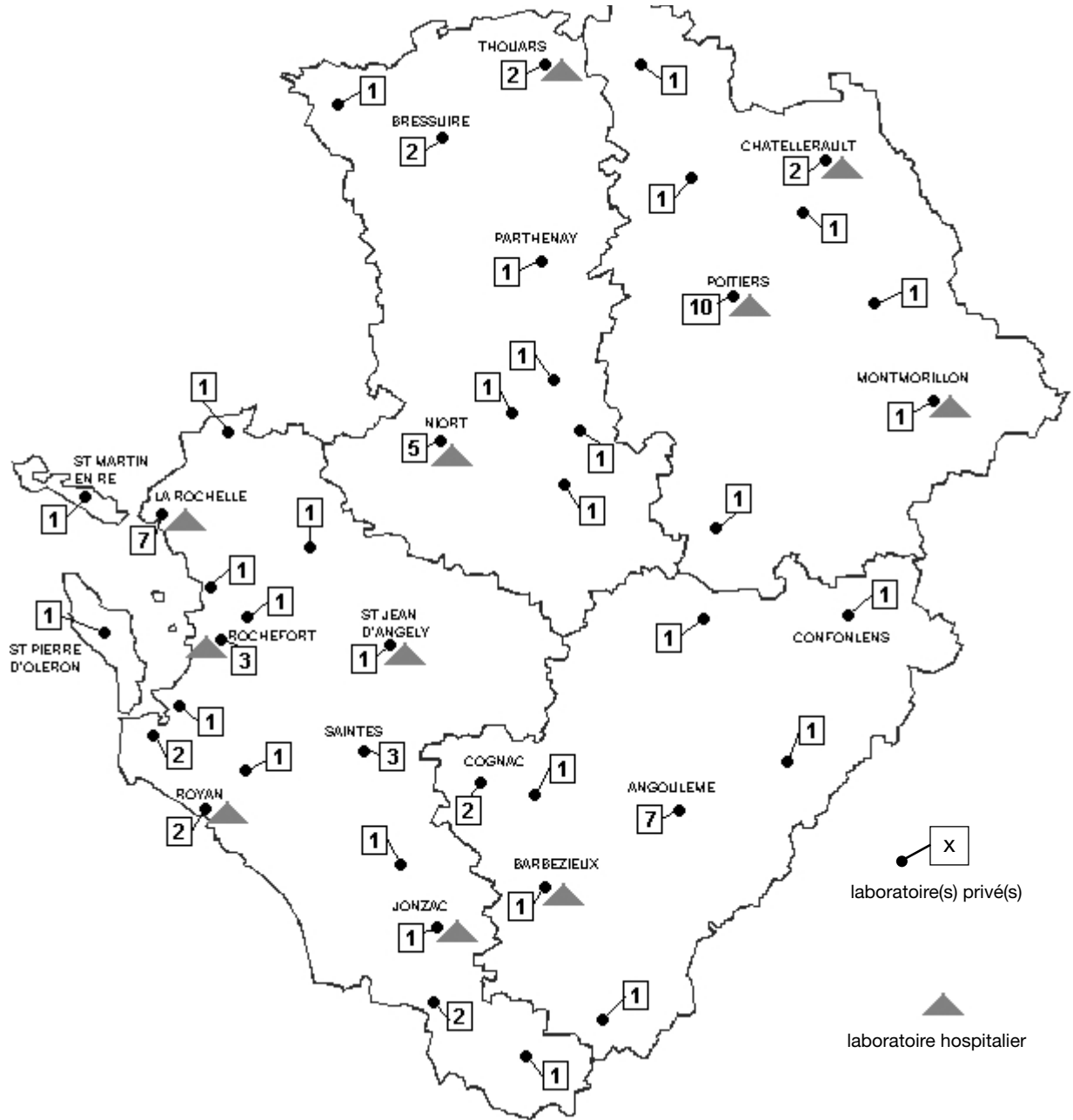
La recherche de légionelles n'était pas prévue dans le référentiel d'activité des laboratoires de la CPAM. Les 2 laboratoires destinataires du questionnaire n'effectuaient aucune recherche de légionelles et n'en transmettaient aucune à un autre laboratoire.

Le laboratoire du CDTS ne recevait pas habituellement de prélèvements pour la recherche de légionelles ; le laboratoire concerné n'a pas retourné le questionnaire.

Dans la suite de l'analyse, les deux laboratoires de la CPAM ainsi que le laboratoire du CDTS dont l'activité très spécifique excluait de leur nomenclature la recherche de légionelles n'ont pas été pris en compte.

Les 10 laboratoires publics participants à l'enquête nationale de 1998, incluant neuf centres hospitaliers (CH) et un centre hospitalier universitaire (CHU), ont aussi répondu à l'enquête de 2002. Pour cette dernière enquête, un laboratoire supplémentaire d'un centre hospitalier du département de la Charente (16) a répondu au questionnaire.

Figure 1. Répartition des laboratoires hospitaliers (11) et des laboratoires privés (77) dans la région Poitou-Charentes



4.2. Activités diagnostiques de la légionellose en 2002

Parmi les laboratoires participants, 20 utilisaient au moins une méthode diagnostique (culture ou IF directe ou sérologie ou Ag urinaire ou PCR), dont 10 laboratoires hospitaliers publics (91 %) et 10 laboratoires privés (15 %).

Tableau 4. Laboratoires utilisant au moins une méthode diagnostique en 2002 – répartition par département

Département	Laboratoires publics		Laboratoires privés	
	au moins une méthode	% du total des laboratoires	au moins une méthode	% du total des laboratoires
CHARENTE (16)	1	(100 %)	4	(28 %)
CHARENTE-MARITIME (17)	5	(100 %)	1	(4 %)
DEUX-SEVRES (79)	2	(100 %)	3	(25 %)
VIENNE (86)	2	(67 %)	2	(14 %)
Total	10	(91 %)	10	(15 %)

Il est à noter qu'un laboratoire privé qui effectuait la sérologie en 2001 ne l'effectue plus à ce jour.

Huit laboratoires publics hospitaliers (73 %) et 5 laboratoires privés (8 %) utilisaient le test de détection de l'antigène soluble urinaire.

Tableau 5. Pratiques diagnostiques par type d'examen en 2002

Type d'examen	Laboratoires publics – CHU/CH		Laboratoires privés		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Culture (C)	7	(64 %)	7	(11 %)	14	(18 %)
Immunofluorescence directe (IFD)	2	(18 %)	1	(2 %)	3	(4 %)
Sérologie (S)	3	(27 %)	0	–	3	(4 %)
Antigène soluble urinaire (AgU)	8	(73 %)	5	(8 %)	13	(17 %)
Amplification génomique (PCR)	1	(9 %)	0	–	1	(1 %)
Au moins une méthode	10	(91 %)	10	(15 %)	20	(26 %)
Total des laboratoires	11		65		76	

Parmi les laboratoires utilisant deux ou trois techniques, 7 laboratoires utilisaient au moins la culture et l'antigène soluble urinaire, dont 5 laboratoires publics (50 %) et 2 laboratoires privés (20 %).

Tableau 6. Nombre de laboratoires utilisant au moins deux ou trois techniques combinées de recherche de légionelles

	AgU + Culture	AgU + Sérologie	AgU + IFD	Culture + Sérologie	AgU + Culture + Sérologie
Nombre de laboratoires publics (n=10)*	5	3	0	3	3
Nombre de laboratoires privés (n=10)*	2	0	0	0	0

* correspond au nombre de laboratoires qui utilisent au moins les deux ou trois méthodes indiquées

Les 13 laboratoires qui recherchaient l'antigène soluble urinaire utilisaient tous la technique par immunochromatographie. Aucun n'utilisait la méthode Elisa. Parmi les autres laboratoires qui ne réalisaient pas cette recherche, 14 laboratoires (22 %) ont prévu de l'utiliser à l'avenir, dont les trois laboratoires publics qui ne l'effectuaient pas jusqu'à présent.

4.3. Analyses effectuées en 2001

Parmi les laboratoires disposant d'au moins une technique, 8 des 10 laboratoires publics hospitaliers (80 %) et 5 des 10 laboratoires privés (50 %) l'ont utilisée au cours de l'année 2001.

Tableau 7. Nombre de laboratoires ayant effectué des analyses en 2001

Type d'examen	Laboratoires publics CHU et CH		Laboratoires privés	
	technique disponible	technique utilisée	technique disponible	technique utilisée
Culture (C)	7	6	7	3
Immunofluorescence directe (IFD)	2	1	1	1
Sérologie (S)	3	2	0*	1*
Antigène soluble urinaire (AgU)	8	7	5	2
Amplification génomique (PCR)	1	0	0	0
Au moins une méthode	10	8	10	5

* laboratoire ne réalisant plus à ce jour de sérologie, mais technique disponible et utilisée en 2001

Au cours de l'année 2001, parmi les laboratoires répondants, 714 analyses ont été effectuées par culture, réparties dans 9 laboratoires de la région Poitou-Charentes. Sur les 971 demandes de sérologie, 670 (69 %) ont été faites sur place, 161 (16,5 %) ont été envoyées dans un autre laboratoire d'une autre région et 140 (14 %) ont été adressées au CNR. Sur les 653 demandes de recherche d'antigène soluble urinaire, 631 (97 %) ont été effectuées sur place et 20 (3 %) dans un autre laboratoire en dehors de la région.

Tableau 8. Demandes d'analyses effectuées en 2001

Demandes d'analyses effectuées en 2001*		C	IFD	S	AgU	PCR	Total
analyses effectuées sur place	Nombre	714	218	670	631	0	2 233
	(%)	(99,6 %)	(95,2 %)	(68,8 %)	(96,6 %)	–	
prélèvements envoyés dans un autre laboratoire de la région	Nombre	3**	0	3**	0	0	6**
	(%)	(0,4 %)	–	(0,3 %)	–	–	
prélèvements envoyés dans un autre laboratoire hors région (sauf CNR)	Nombre	0	11	161	20	1	193
	(%)	–	(4,8 %)	(16,5 %)	(3,1 %)	(100 %)	
prélèvements envoyés au CNR	Nombre	0	0	140	2	0	142
	(%)	–	–	(14,4 %)	(0,3 %)	–	
Total	Nombre	716	229	971	653	1	2 570
	(%)	(100 %)	(100 %)	(100 %)	(100 %)	(100 %)	

* Non mutuellement exclusives

** Une des 3 cultures et les 3 sérologies ont été adressées à un laboratoire de la région participant à l'enquête (analyses déjà décomptées parmi celles effectuées sur place)

Parmi les examens biologiques pratiqués sur place, 678 (95 %) analyses par culture ont été réalisées dans des laboratoires publics hospitaliers, versus 36 (5 %) dans des laboratoires privés. Parmi les demandes de sérologie, 658 (98 %) analyses ont été effectuées dans des laboratoires publics hospitaliers, versus 12 (2 %) dans des laboratoires privés. La recherche d'antigène soluble urinaire a été réalisée pour 612 tests (97 %) dans des laboratoires publics hospitaliers versus 19 (3 %) dans des laboratoires privés. Cependant le faible pourcentage d'examens réalisés dans les laboratoires privés était lié au fait qu'ils ne disposaient pas de la technique.

Le CHU a pratiqué environ deux fois plus d'analyses par culture, sensiblement autant de sérologies, et deux fois moins d'analyses par recherche d'antigène soluble urinaire que l'ensemble des autres laboratoires publics hospitaliers (CH) de la région.

Tableau 9. Analyses effectuées sur place en 2001 – comparaison entre laboratoires publics et privés

Type d'examen	Laboratoires publics CHU		Laboratoires publics CH		Laboratoires privés	
	sur place	autre laboratoire	sur place	autre laboratoire	sur place	autre laboratoire
Culture (C)	464	–	214	–	36	3
Immunofluorescence directe (IFD)	0	–	188	11	30	–
Sérologie (S)	332	–	326	138	12	166
Antigène soluble urinaire (AgU)	204	–	408	11	19	11
Amplification génomique (PCR)	0	–	0	1	0	–

Parmi les examens biologiques réalisés sur place, tous les résultats positifs ont été observés dans des laboratoires publics hospitaliers, répartis en 4 centres hospitaliers et un centre hospitalier universitaire. Deux analyses étaient positives par culture (0,3 %), 12 par test de détection de l'antigène soluble urinaire (4 %) et 48 par sérologie (7 %).

Tableau 10. Résultats des analyses effectuées sur place en 2001

Type d'examen*	Laboratoires publics CHU et CH			Laboratoires privés		
	Nombre d'examens	Nombre d'examens positifs	(%)	Nombre d'examens	Nombre d'examens positifs	(%)
Culture (C)	678	2	(0,3 %)	36	0	–
Immunofluorescence directe (IFD)	188	0	–	30	0	–
Sérologie (S)	658	48	(7,3 %)	12	0	–
Antigène soluble urinaire (AgU)	312	12	(3,8 %)	19	0	–
Amplification génomique (PCR)	0	0	–	0	0	–

* Non mutuellement exclusif

4.4. Evolution des pratiques diagnostiques

Elle concerne les 10 laboratoires publics hospitaliers sur un total de 12 laboratoires interrogés, qui ont participé aux deux enquêtes de 1998 et 2002. Ils comprennent 9 centres hospitaliers et un centre hospitalier universitaire, répartis sur 3 départements : Charente-Maritime, Deux-Sèvres et Vienne.

En 2002, 9 des 10 laboratoires publics hospitaliers utilisaient au moins une méthode diagnostique (90 %), versus 3 laboratoires en 1998 (30 %). Un seul laboratoire public hospitalier utilisait le test de détection de l'antigène soluble urinaire en 1998, alors que 7 laboratoires l'utilisaient en 2002.

Tableau 11. Evolution des pratiques diagnostiques entre 1998 et 2002

Type d'examen	Enquête nationale 1998 région Poitou-Charentes		Enquête régionale 2002	
	N	(%)	N	(%)
Culture (C)	3	(30 %)	7	(70 %)
Immunofluorescence directe (IFD)	2	(20 %)	2	(20 %)
Sérologie (S)	2	(20 %)	3	(30 %)
Antigène soluble urinaire (AgU)	1	(10 %)	7	(70 %)
Amplification génomique (PCR)	0	–	1	(10 %)
Au moins une méthode	3	(30 %)	9	(90 %)
Total laboratoires publics	10		10	

Parmi ces 7 laboratoires qui utilisaient comme méthode diagnostique l'antigène soluble urinaire en 2002, 2 n'utilisaient que cette méthode, 2 effectuaient aussi la culture et 3 réalisaient également la culture et la sérologie.

4.5. Circuits de signalement

Parmi les 5 laboratoires publics hospitaliers ayant eu en 2001 au moins un résultat positif d'analyse répondant à la définition de cas (culture ou IFD ou sérologie ou Ag urinaire), 2 laboratoires (40 %) ont indiqué effectuer un signalement à la Ddass.

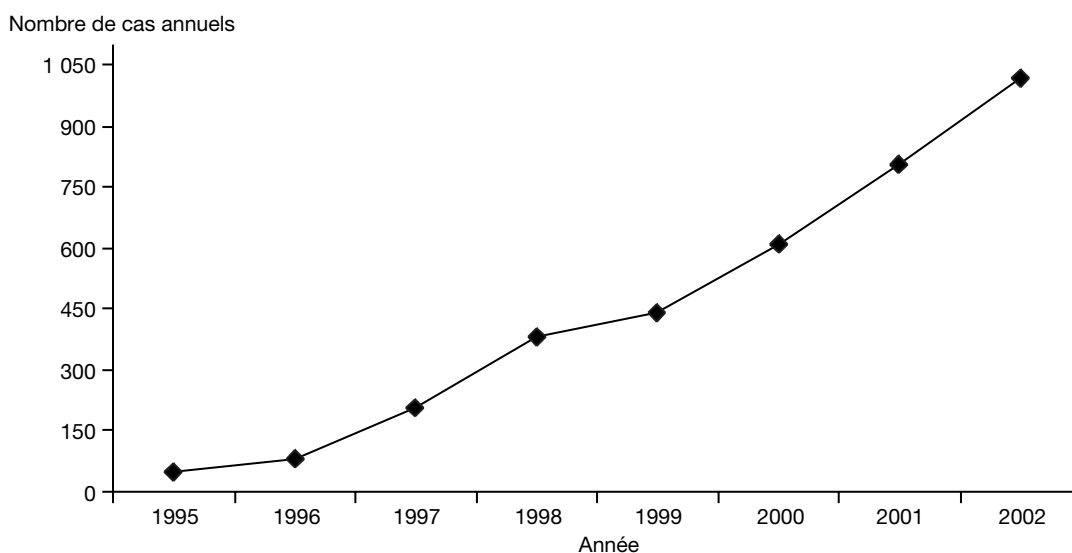
Ces 2 laboratoires qui ont eu en 2001 au moins une culture positive ont transmis la souche au Centre national de référence des légionelles.

5. Données de surveillance de la déclaration obligatoire

5.1. Données de surveillance en France

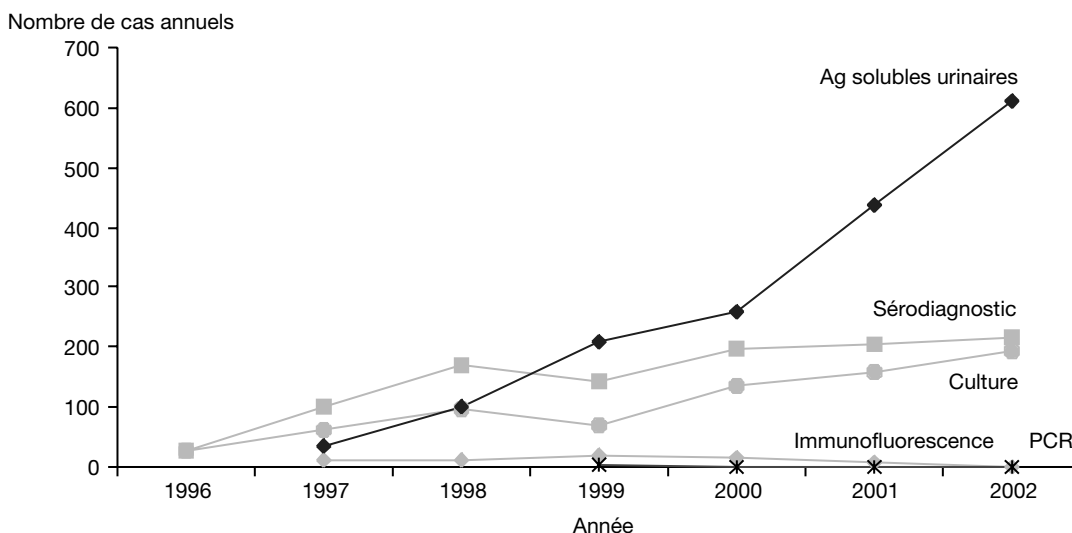
Le nombre total de cas déclarés de légionellose en France est passé de 50 en moyenne entre 1995 à 1 021 cas déclarés en 2002.

Figure 2. Evolution des cas déclarés de légionellose - France, 1995-2002

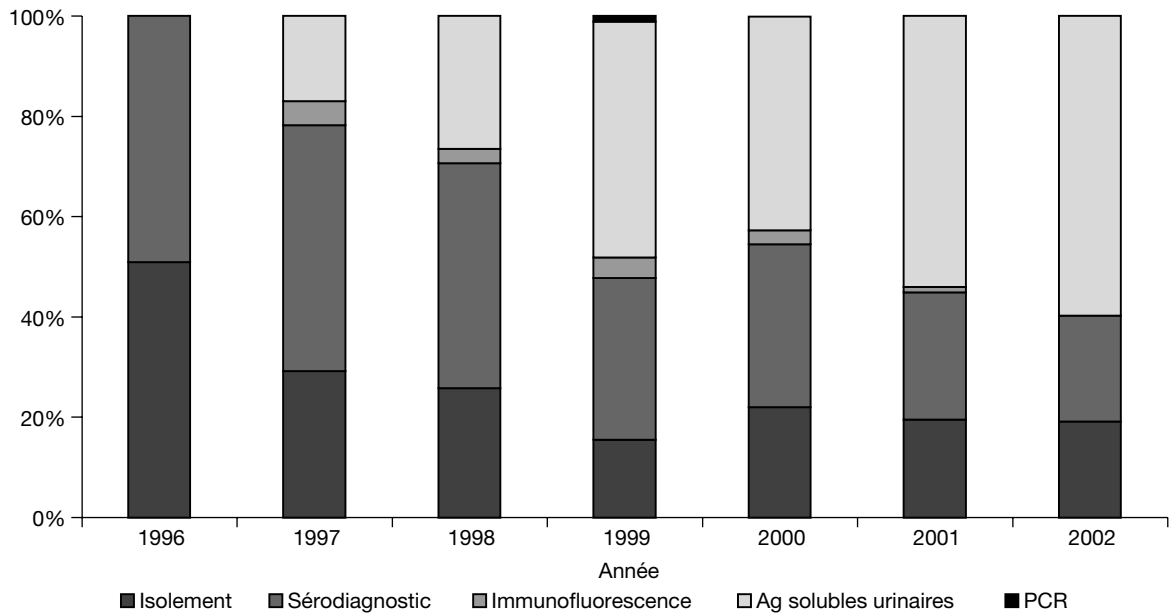


Depuis l'introduction de l'antigénurie en 1997 dans les critères de déclaration, le nombre de cas de légionellose diagnostiqués par recherche d'Ag solubles urinaires est passé de 35 cas en 1997 à 610 cas en 2002.

Figure 3. Cas déclarés de légionellose par type de diagnostic - France, 1996-2002

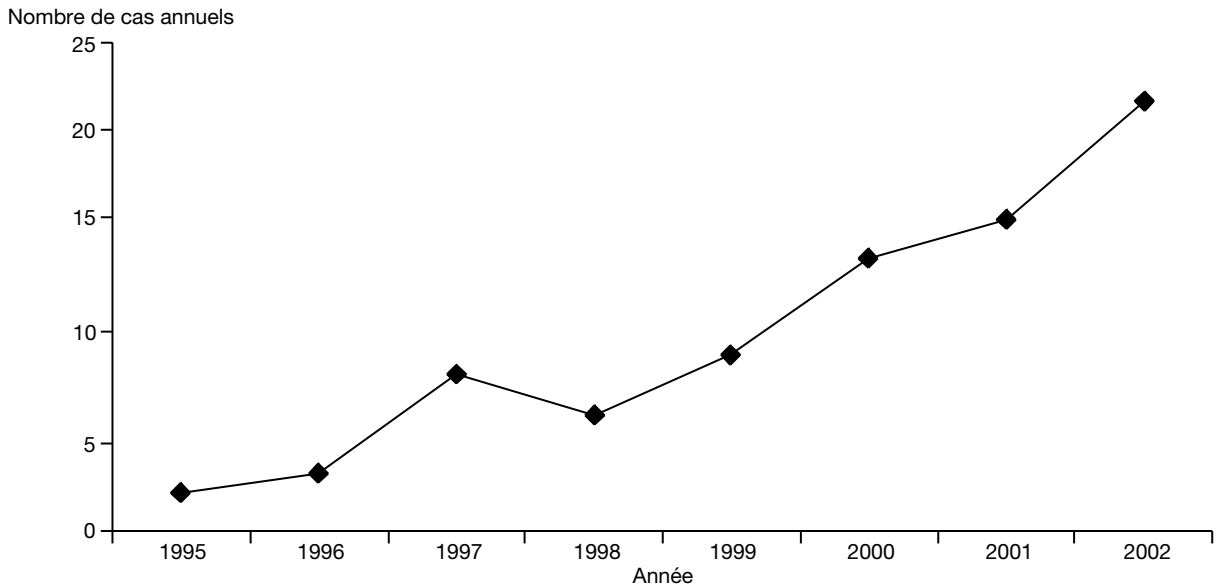


Ainsi, sa part relative s'est-elle accrue pour représenter plus de la moitié des diagnostics posés par cette méthode en 2001.

Figure 4. Evolution de la part relative de chaque méthode diagnostique - France, 1996-2002

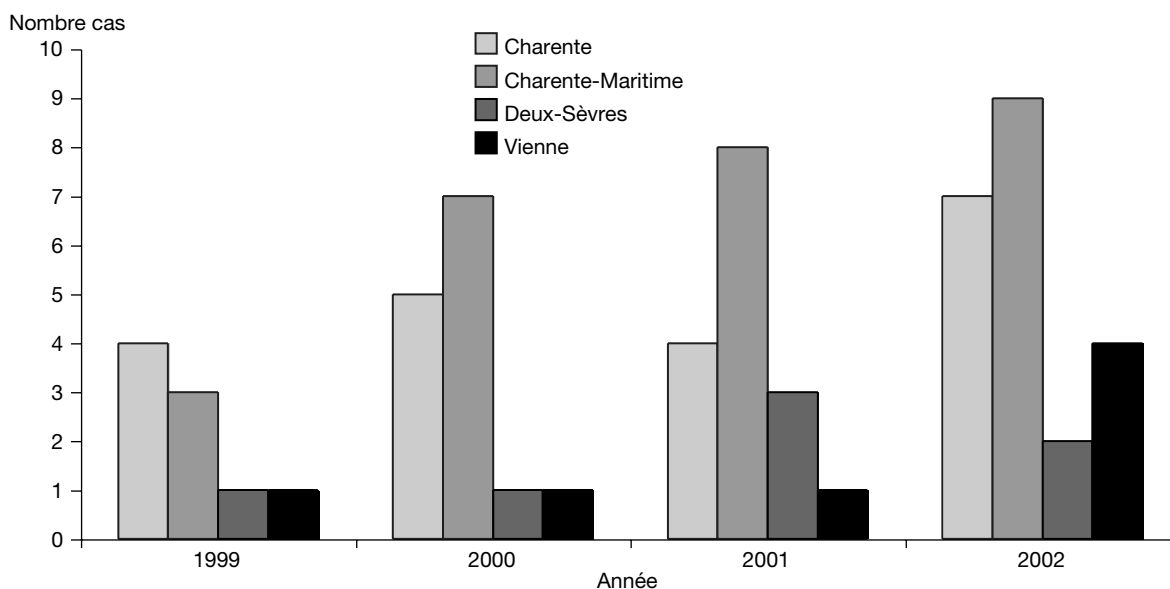
5.2. Données de surveillance dans la région Poitou-Charentes

Dans la région Poitou-Charentes, le nombre total de cas déclarés de légionellose est passé de 2 cas en 1995 à 22 cas en 2002.

Figure 5. Évolution des cas déclarés de légionellose - Poitou-Charentes, 1995-2002

La répartition du nombre de cas déclarés par département au cours des 4 dernières années montre que l'augmentation constatée dans la région est liée surtout à un accroissement des cas déclarés en Charente-Maritime dont le nombre a triplé entre 1999 et 2002, ainsi qu'une tendance à la hausse du nombre de cas déclarés depuis 1999 en Charente. Il est à noter que le nombre de cas déclarés est passé dans la Vienne de 1 cas annuel de 1999 à 2001 à 4 cas en 2002.

Figure 6. Répartition des cas déclarés par département de 1999 à 2002



Au cours de l'année 2001, seize cas de légionellose ont été déclarés dans la région Poitou-Charentes, dont la moitié pour le seul département de Charente-Maritime.

Le diagnostic a été posé par la culture seule pour 2 cas, par le test de l'antigène soluble urinaire seul pour 8 cas, et par ces deux techniques pour 3 cas.

Trois cas ont été diagnostiqués par la sérologie, sans autre méthode diagnostique associée.

Tableau 12. Prélèvements positifs des cas déclarés en 2001

Département	Culture +	Ag soluble +	Sérologie +	Culture + et Ag soluble +
Charente (16)	1	-	1	2
Charente-Maritime (17)	-	7	-	1
Deux-Sèvres (79)	-	1	2	-
Vienne (86)	1	-	-	-
Total	2	8	3	3

6. Discussion

La participation à l'enquête des laboratoires de la région Poitou-Charentes a été très satisfaisante avec un taux de participation global de 86 %. Tous les laboratoires publics hospitaliers de la région Poitou-Charentes ont répondu au questionnaire, ainsi que 65 laboratoires privés (84 %).

Le nombre de laboratoires publics hospitaliers qui utilisaient au moins une méthode diagnostique de la légionellose a fortement augmenté entre 1998 et 2002, passant de 3 laboratoires en 1998 à 9 laboratoires en 2002 dont 5 situés en Charente-Maritime, sur les 10 laboratoires participant aux deux enquêtes.

Le test de détection de l'antigène urinaire, qui n'était utilisé que par un seul laboratoire public hospitalier en 1998, est utilisé en 2002 par 7 des 10 laboratoires ayant répondu aux deux enquêtes. Parmi ceux-ci, 2 n'utilisaient que cette méthode, les 5 autres laboratoires utilisant également une autre méthode incluant au moins la culture.

Au total, en 2002, 8 laboratoires publics hospitaliers (73 %) utilisaient le test de détection de l'antigène soluble urinaire. Les 3 autres laboratoires publics hospitaliers participant à l'enquête ont prévu son introduction dans l'avenir, dont 2 à partir de 2003. A noter que 7 des 8 laboratoires pour lesquels cette technique était disponible l'ont effectivement utilisée en 2001, et ont réalisé 412 tests.

Le nombre de laboratoires privés qui utilisaient au moins une méthode diagnostique de la légionellose est peu élevé, représentant 10 laboratoires sur 65 répondants (15 %). Parmi ceux-ci, 5 laboratoires (8 %) utilisaient le test de détection de l'antigène soluble urinaire. Toutefois, 11 laboratoires ont prévu son utilisation dans l'avenir, dont 2 à partir de 2003. Alors que cette technique n'était disponible que dans 5 laboratoires privés, 2 laboratoires seulement l'ont effectivement utilisée en 2001 et ont effectué un total de 19 tests.

Le test de détection de l'antigène soluble urinaire était une technique peu disponible dans les laboratoires privés en 2002, elle y était également peu utilisée, avec une moyenne de 9,5 tests par laboratoire versus 58,8 tests pour les laboratoires publics hospitaliers. Cette constatation peut être le reflet d'une prescription beaucoup plus importante de tests de détection de l'antigène soluble urinaire en secteur hospitalier. En effet, la légionellose est une maladie le plus souvent sévère qui nécessite dans la plupart des cas une hospitalisation. Les utilisateurs du test par les laboratoires de Poitou-Charentes étaient des laboratoires qui pratiquaient aussi une autre méthode diagnostique de la légionellose pour 7 d'entre eux (54 %). Ce test semble être utilisé de plus en plus par les laboratoires de la région Poitou-Charentes, essentiellement les laboratoires publics, et (de plus en plus utilisé) seul, sans autre méthode diagnostique.

La recherche d'antigène soluble urinaire de *Legionella* s'effectue selon deux techniques : la méthode Elisa, dont la réponse est obtenue en 4 heures, et l'immunochromatographie sur membrane, dont la réponse est obtenue en 15 minutes. Les 13 laboratoires publics hospitaliers et privés participant à l'enquête (qui utilisent le test de détection de l'antigène soluble urinaire) employaient tous la méthode par immunochromatographie.

Le test d'antigène soluble urinaire a une meilleure sensibilité que la sérologie, oscillant entre 80 et 99 %, celle-ci pouvant être encore améliorée de 20 à 25 % par la concentration des urines avant la réalisation du test [11]. Ce test a en outre une bonne spécificité (99 %), et constitue donc une alternative intéressante à la sérologie en améliorant les valeurs prédictives des résultats. Son intérêt résulte également de la rapidité d'obtention des résultats, et de son utilisation précoce au cours de la maladie.

Depuis 1997, le nombre de cas notifiés de légionellose en France ne cesse d'augmenter avec une variation annuelle de +32 %. L'amélioration des méthodes diagnostiques, une meilleure approche de la maladie, une meilleure adhésion des cliniciens à la déclaration, la collaboration entre le CNR, l'InVS et les Ddass, et la prise de conscience accrue du problème de légionellose nosocomiale, peuvent expliquer cette tendance.

Surtout, les progrès réalisés ces dernières années permettent de détecter davantage de cas groupés et d'épidémies, jusqu'à présent ignorés, et en conséquence, de mieux maîtriser des sources de contamination qui n'étaient pas repérées, telles que par exemple les tours aéro-réfrigérantes.

L'antigénurie, méthode spécifique et sensible, constitue une part de plus en plus importante des diagnostics de légionellose en France. L'enquête nationale de 1998 a révélé que les utilisateurs du test étaient principalement des laboratoires qui pratiquaient déjà une autre méthode diagnostique (87 %). Son inscription à la nomenclature des actes de biologie médicale en janvier 2000 a également contribué à accroître l'utilisation de cette méthode.

L'augmentation continue du nombre de cas déclarés en France depuis 1995 est également constatée dans la région Poitou-Charentes. Le nombre plus élevé de cas enregistrés dans le département de Charente-maritime depuis l'an 2000 par rapport aux autres départements de la région peut s'expliquer en partie par le nombre important de lieux à risque présents dans le département (centres de cure thermale, centres de thalassothérapie, hôtels et campings) et l'afflux important de touristes. En outre s'est déclaré en 2002 un foyer de 3 cas dans un centre de cure thermale.

Sur les seize cas de légionellose déclarés en 2001 dans la région Poitou-Charentes, 5 cas avaient une culture positive. L'enquête réalisée auprès des laboratoires de la région a permis d'identifier deux cultures positives pour la même année. Mais tous les laboratoires n'ont pas répondu à l'enquête, et les résultats des examens adressés à un autre laboratoire n'étaient pas toujours connus.

Onze tests positifs de l'antigène soluble urinaire ont fait l'objet d'une déclaration en 2001 dans la région, et 12 tests positifs ont été recensés en 2001 auprès des laboratoires, parmi ceux effectués sur place. Pour la sérologie, 3 séroconversions ont été déclarées en 2001, et 48 sérologies étaient positives parmi celles effectuées sur place, selon les données de l'enquête. Ces résultats laissent supposer une sous-déclaration des cas diagnostiqués par la sérologie.

7. Conclusion

Cette étude montre une forte implication des laboratoires hospitaliers dans le diagnostic de la légionellose en Poitou-Charentes, tant du point de vue de l'utilisation des méthodes diagnostiques avec notamment l'utilisation croissante du test de détection de l'antigène soluble urinaire, que du point de vue du nombre d'examens effectués en 2001. Les laboratoires privés sont peu nombreux à disposer d'une méthode diagnostique, mais reçoivent aussi très peu de demandes, et il est difficile de savoir si c'est parce que ces laboratoires ne font pas le diagnostic qu'ils reçoivent peu de prescriptions, ou si c'est parce qu'ils reçoivent peu de prescriptions qu'ils sont peu nombreux à effectuer le diagnostic.

Bien que l'origine des demandes de recherche de légionelles (médecins hospitaliers ou médecins libéraux) n'était pas précisée dans le questionnaire d'enquête, la proportion d'examens réalisés dans les laboratoires publics et dans les laboratoires privés laisse suggérer que les demandes proviennent essentiellement des médecins hospitaliers, en particulier plus fortement sensibilisés par le problème des légionelloses nosocomiales.

Si la gravité de la maladie entraîne le plus souvent une hospitalisation du patient, la plus grande disponibilité des différentes techniques diagnostiques dans les hôpitaux de la région comparativement aux laboratoires de ville amène probablement à diagnostiquer plus facilement les formes sévères, qui sont donc mieux diagnostiquées que les formes communautaires bénignes.

Le faible nombre d'examens positifs parmi les examens effectués dans les laboratoires hospitaliers de la région, en particulier pour la culture et l'immunofluorescence directe, et l'absence de résultat positif parmi les examens effectués par les laboratoires privés peuvent s'expliquer par les différentes hypothèses suivantes :

- une prescription systématique d'examen à la recherche de légionelle, non orientée par la clinique, tendant alors à accroître le nombre d'examens négatifs,
- une plus grande difficulté à mettre en évidence les légionelles dans les formes communautaires bénignes, pouvant peut-être expliquer en partie l'absence de résultat positif répertorié dans les laboratoires privés,
- les difficultés d'utilisation de certaines de ces méthodes diagnostiques.

Il semble que si le développement des techniques diagnostiques de la légionellose doit se poursuivre en particulier dans les laboratoires privés, il paraît également nécessaire de sensibiliser dans le même temps les médecins libéraux au diagnostic de la légionellose.

Le test de détection de l'antigène soluble urinaire qui fait partie des critères de déclaration est un examen simple et rapide à utiliser, mais il ne doit pas faire oublier d'autres techniques comme la culture, qui seule permet d'isoler la souche, et de la comparer avec des souches environnementales.

8. Références

1. Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H., Epidémiologie et pouvoir pathogène de *Legionella* in Bactériologie clinique ; Ellipses 3^{ème} Édition 2000 ; 26 : 352-354
2. Fauchère J.L., Examens bactériologiques au cours des infections pulmonaires in Bactériofiches ; Ellipses Édition 1997 ; 8 : 105
3. Association des Professeurs de pathologie infectieuse et tropicale. Pneumonie à *Legionella*. E. PILLY ; 2M2 Édition 2000 ; 20 : 159-160
4. Groupe ECRIR (Entretiens du Club de Réflexion sur l'Infection Respiratoire). Le point sur la légionellose. La Lettre de l'Infectiologue juin 2001 ; Tome XVI ; 6 : 193-195
5. Jarraud S., Reyrolle M., Etienne J., *Legionella* et légionelloses. In : J. Freney, F. Renaud, C. Bollet et R. Leclerc : Actualités permanentes en bactériologie clinique ; Éditions ESKA, Paris, 2002 ; Section VIII ; 14 : 1-18
6. Avril J.-L., Dabernat H., Denis F., Monteil H., Diagnostic biologique des infections à *Legionella*. Bactériologie clinique ; Ellipses Édition marketing S.A. 3^{ème} édition 2000 ; 26 : 355-361.
7. Hubert B., Infuso A., Ledrans M., Guide d'investigation d'un ou plusieurs cas de légionellose ; Bull Epidemiol Heb 1997 ; n°20-22 : 84-85
8. Office international de l'eau ; notes de synthèse. « La légionellose : bilan de la littérature technique - 1998 » ; [En ligne]. <http://www.oieau.fr/pdf/05-legionellose.pdf> (Page consultée le 19 mars 2003)
9. Infuso A., Hubert B., Etienne J., La sous-déclaration de la légionellose en France : pour une surveillance plus active ; Eurosurveillance 1998 ; 3 : 48-50.
10. Evaluation épidémiologique du système de surveillance de la légionellose en France en 1998 ; InVS, Décembre 2000 ; 43 pages.
11. Murdoch David R., Diagnosis of Legionella Infection; Clinical Infectious Diseases 2003 ; 36 : 64-9

9. Sigles utilisés

CHU :	Centre hospitalier universitaire
CH :	Centre hospitalier
CNR :	Centre national de référence
InVS :	Institut de veille sanitaire
Ddass :	Direction départementale des affaires sanitaires et sociales
C :	Culture
S :	Sérologie
IFD :	Immunofluorescence directe
AgU :	Antigène soluble urinaire
PCR :	Réaction de polymérisation en chaîne

10. Annexes

FICHE 1 : Activités diagnostiques de la légionellose en 2002

Identification

Laboratoire :

Adresse :

Ville : Code postal :

Nom de la personne à contacter :

Téléphone : Fax:

E-Mail :

Activités diagnostiques de la légionellose en 2002

Q.1 Etes-vous en mesure de pratiquer à ce jour dans votre laboratoire les analyses suivantes :

Culture oui non

Sérologie oui non

Immunofluorescence directe oui non

Antigène soluble urinaire oui non

PCR oui non

Si vous utilisez des tests de détection de l'antigène urinaire dans votre laboratoire, depuis quand ?

Quel(s) kit(s) utilisez-vous ?

Si vous n'utilisez pas ces tests, avez-vous prévu de les utiliser à l'avenir dans votre laboratoire ?

oui non

Si oui, à partir de quand ?

Q.2 Dans le cas d'un diagnostic positif, effectuez-vous :

– un signalement à la Ddass ? oui non

– un envoi de la souche de légionelle (lorsqu'elle est isolée) au Centre national de référence ?

oui non

FICHE 2 : Analyses effectuées en 2001

Q.3 Pour l'année 2001, indiquez le nombre total d'examens réalisés dans votre laboratoire (quel que soit le résultat, positif ou négatif), par type d'analyse :

	Analyse réalisée en 2001 dans votre laboratoire		Nombre total d'examens REALISES en 2001 dans votre laboratoire	Nombre total d'examens POSITIFS en 2001 dans votre laboratoire*
Culture	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>		
Sérologie	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>		
Immunofluorescence directe	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>		
Antigène soluble urinaire	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>		
PCR	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>		

* quelle que soit la méthode diagnostique, si ces données sont disponibles

Q.4 Si en 2001 vous avez adressé des prélèvements à un autre laboratoire, indiquez le nombre total d'examens réalisés dans ce laboratoire, pour chaque type d'analyse :

	Nom de ce laboratoire	Nombre total d'examens ADRESSES en 2001 à ce laboratoire	Nombre total d'examens POSITIFS en 2001 de ce laboratoire*
Culture			
Sérologie			
Immunofluorescence directe			
Antigène soluble urinaire			
PCR			

* quelle que soit la méthode diagnostique, si ces données sont disponibles

Notes

Notes