

Table des matières

Préface	III
Remerciements	VII
Liste des auteurs	IX

Chapitre 1

Historique (<i>Jean Freney</i>)	1
Épilogue	10
Remerciements	11
Références bibliographiques	12

Chapitre 2

Taxonomie (<i>Jean Freney</i>)	13
1. Caractères phénotypiques	13
2. Caractères chimiotaxonomiques	17
2.1. Le lipopolysaccharide et la composition en acides gras	17
2.2. Lipides polaires	21
2.3. Composition en ubiquinones	22
2.4. Protéines	24
2.5. Sucres	24
3. Caractères génotypiques	24
4. Analyse taxonomique	27
Références bibliographiques	28

Chapitre 3

Legionella et environnement (<i>Jean Freney et Anne Doléans-Jordheim</i>)	33
1. <i>Legionella</i> dans les écosystèmes naturels	33
1.1. Eau douce	33
1.2. Eau de mer	34
1.3. Sol	34
2. <i>Legionella</i> dans les écosystèmes artificiels	35
3. Facteurs physiques et chimiques influençant la croissance des légionelles	37
3.1. Facteurs physiques	37
3.1.1. Température	37
3.1.2. Atmosphère	38
3.1.3. pH	38
3.1.4. Rayonnement solaire	39
3.2. Facteurs chimiques	39
3.2.1. Salinité	39
3.2.2. Oxygène dissous	40
3.2.3. Autres éléments	40
3.3. Humidité et aérosols	43
3.4. Facteurs liés à la bactérie	43
3.4.1. Quorum Sensing	43
3.4.2. État physiologique	43
4. Interaction de la flore bactérienne sur la croissance des légionelles	44
4.1. Associations synergiques	44
4.2. Associations antagonistes	45
5. Bactéries viables non cultivables (VBNC, <i>viable but non cultivable</i>)	46
6. Légionelles et biofilms	47
6.1. Définition	47
6.2. Formation et évolution d'un biofilm	47
6.2. Biofilm et croissance extracellulaire	50
6.3. Méthodes d'étude	51
6.4. Résistance aux antimicrobiens et désinfection	52
Références bibliographiques	54

Chapitre 4

Amibes et légionelles (<i>Pierre Pernin et Michel Pélandakis</i>)	63
1. Généralités	63
2. Interactions amibes libres-légionelles	64
2.1. Conséquences écologiques de l'interaction amibes-légionelles	65
2.2. Conséquences de l'interaction amibes-légionelles du point de vue de la pathogénie de <i>L. pneumophila</i>	65

3. Caractéristiques générales des amibes libres	65
3.1. Cycles de vie	67
3.2. Principaux genres d'amibes libres	68
3.2.1. Classe des <i>Heterolobosea</i>	68
3.2.2. Classe des <i>Lobosea</i>	70
3.3. Isolement et caractéristiques culturales	72
4. Rôle des amibes dans la résistance des légionelles	73
5. Méthodes moléculaires d'étude des amibes.	74
5.1. Identification moléculaire des <i>Acanthamoeba</i> spp.	74
5.2. <i>Naegleria fowleri</i>	75
5.3. <i>Harmannella vermiformis</i>	75
Références bibliographiques	75

Chapitre 5

Réplication intracellulaire de <i>Legionella</i> (Maëlle Molmeret)	79
1. Principales cellules hôtes de <i>L. pneumophila</i>	80
1.1. Protozoaires.	80
1.1.1. Amibes unicellulaires	80
1.1.2. <i>Dictyostelium discoideum</i> : une amibe « sociale »	81
1.2. Nématodes.	82
1.3. Cellules eucaryotes mammifères	82
1.3.1. Macrophages	82
1.3.2. Cellules épithéliales	83
2. Entrée de <i>L. pneumophila</i> dans les cellules hôtes	84
2.1. À l'échelle ultrastructurale	84
2.2. À l'échelle moléculaire	84
3. Détournement de la maturation endocytaire de l'hôte par <i>L. pneumophila</i>	85
4. Réplication intracellulaire de <i>L. pneumophila</i> à l'échelle ultrastructurale.	87
5. Translocation des effecteurs du système de sécrétion de type IV dans la cellule hôte.	88
5.1. Maturation endocytaire	89
5.2. Recrutement des vésicules dérivées du réticulum endoplasmique (RE) et interaction avec le réticulum endoplasmique rugueux (RER)	90
5.3. Réorganisation des lipides de la vacuole de <i>L. pneumophila</i>	91
5.4. Contrôle des voies d'ubiquitination par <i>L. pneumophila</i>	91
5.5. Contrôle de la synthèse protéique par <i>L. pneumophila</i>	92
5.6. Libération de <i>L. pneumophila</i> de ses hôtes cellulaires	92
6. Réplication de <i>Legionella</i> et autophagie	93
7. Régulation de la réplication intracellulaire	94
7.1. Changements physiologiques de <i>L. pneumophila</i> lors de l'infection	94

7.2. Réseau de régulation des gènes de virulence de <i>L. pneumophila</i>	94
7.2.1. Régulation des gènes dot/icm et des effecteurs du système de sécrétion de type IV	95
7.2.2. Réseau de régulation globale permettant le changement de phase de croissance	95
7.2.3. Quorum Sensing	96
8. Croissance de <i>Legionella</i> en milieu naturel	98
9. Autres systèmes de sécrétion de <i>L. pneumophila</i>	98
9.1. Système de sécrétion de type II (SST2)	98
9.2. Système de sécrétion Tat	99
9.3. Autres systèmes de sécrétion de <i>L. pneumophila</i>	99
9.3.1. Système de type IVA lvh	99
9.3.2. Autres systèmes conjugatifs de sécrétion de type IVA	100
9.3.3. Système de sécrétion de type V	100
10. Autres facteurs de virulence de <i>L. pneumophila</i>	101
10.1 Pili	101
10.2. Flagelles	102
10.3. Lipopolysaccharide	102
10.4. Autres facteurs	103
Références bibliographiques	104

Chapitre 6

<i>Legionella pneumophila</i> : l'apport de la génomique comparative et de la biologie cellulaire (Christophe Rusniok, Laura Gomez-Valero et Carmen Buchrieser)	119
1. Introduction	119
2. Les génomes de <i>L. pneumophila</i>	120
2.1. Caractéristiques générales	120
2.2. Diversité génomique	122
2.3. Une caractéristique propre aux génomes de <i>L. pneumophila</i> : les protéines « eukaryotic-like »	124
3. Les fonctions possibles des protéines « eukaryotic-like » et des protéines à domaines eucaryotes	129
4. Les protéines « eukaryotic-like » de <i>L. pneumophila</i> impliquées dans la virulence et le détournement de la cellule hôte	130
4.1. L'entrée et le blocage de la fusion phagosome-lysosome	131
4.2. Création d'une vacuole répliquative dérivée du réticulum endoplasmique	132
4.3. La répliquation dans la LCV et la sortie de l'hôte	133
5. Origine évolutive des protéines « eukaryotic-like »	134
6. Conclusion	136
Remerciements	137
Références bibliographiques	137

Chapitre 7

Immunité innée et <i>Legionella pneumophila</i> (Florence Ader)	141
1. Réponse innée des cellules immunitaires spécialisées	142
1.1. Cellules dendritiques.	142
1.2. Macrophages	142
2. Récepteurs impliqués dans la détection de <i>L. pneumophila</i>	143
2.1. <i>Toll-like receptors</i> (TLRs).	143
2.2. <i>NOD-like receptors</i> (NLRs)	144
2.3. <i>RIG-I-like receptors</i> (RLRs).	144
Références bibliographiques	144

Chapitre 8

Caractéristiques cliniques et diagnostic des cas de légionellose (Sophie Jarraud et Jérôme Étienne)	147
1. Place de la légionellose	147
2. Diagnostic clinique et radiologique	148
2.1. La légionellose, maladie des légionnaires.	148
2.1.1. Complications	148
2.1.2. Mortalité – morbidité.	149
2.1.3. Facteurs de risques et susceptibilité individuelle	149
2.1.4. Légionellose pédiatrique et chez la femme enceinte.	150
2.1.5. Infection récurrente ou persistante	151
2.2. Manifestations des formes extra-pulmonaires	151
2.3. Fièvre de Pontiac	152
3. Diagnostic biologique	152
3.1. Anomalies biologiques non spécifiques	152
3.2. Détection d'antigènes urinaires.	153
3.3. Examen direct de prélèvements pathologiques par immunofluorescence directe	154
3.4. Mise en culture de prélèvements pathologiques	154
3.4.1. Prélèvements	154
3.4.2. Milieux de culture	156
3.4.3. En pratique.	156
3.4.4. Co-culture cellulaire	159
3.5. Sérologie	160
3.6. Détection d'acides nucléiques de <i>Legionella</i>	161
3.6.1. PCR sur prélèvements pulmonaires.	162
3.6.2. PCR sur urines et sérums	163
3.6.2. Positivité de la PCR au cours de l'infection.	163
3.7. Performances et évolution des méthodes diagnostiques utilisées.	164
Références bibliographiques	168

Étude de la sensibilité de *Legionella* aux antibiotiques

et stratégie thérapeutique (*Ghislaine Descours, Florence Ader*

et Sophie Jarraud)

179

1. Résistances naturelles et acquises	179
2. Étude de la sensibilité de <i>L. pneumophila</i> aux antibiotiques.	180
2.1. Indications de la réalisation d'un antibiogramme.	180
2.2. Méthodes extracellulaires	180
2.2.1. Choix de la méthode	180
2.2.2. Activité extracellulaire des principaux antibiotiques	181
2.2.3. Limites	181
2.3. Méthodes intracellulaires	181
2.3.1. Principe	181
2.3.2. Choix de la méthode	181
2.3.3. Activité intracellulaire des principaux antibiotiques	184
2.4. Modèle animal.	184
3. Étude des associations d'antibiotiques.	186
3.1. Étude <i>in vitro</i>	186
3.2. Modèle animal.	186
4. Études cliniques.	186
5. Stratégie thérapeutique	190
5.1. Recommandations.	190
5.2. Des recommandations aux pratiques quotidiennes.	191
5.3. Cas particulier de la femme enceinte	191
5.4. Prophylaxie	191
5.4.1. En milieux de soins	191
5.4.2. En communautaire	192
Références bibliographiques	192

Détection et quantification des légionnelles dans l'environnement

(*Maud Baume, Monique Reyrolle et Sophie Jarraud*) 197

1. Introduction	197
2. Types d'échantillons analysés	198
2.1. Prélèvements normalisés.	198
2.2. Prélèvements alternatifs	198
3. Culture	199
3.1. Aspects techniques	199
3.1.1. Données bibliographiques	199
3.1.2. En pratique.	200
3.1.3. Détection et quantification	201

3.2. Interprétation	201
3.2.1. Relation concentration et risque sanitaire	201
3.2.2. Limites et avantages de la méthode	201
4. La PCR quantitative en temps réel	202
4.1. Méthodologie – données bibliographiques	202
4.2. Norme NF T90-471	203
4.3. Intérêt et limites	204
5. PCR viable (v-PCR)	204
5.1. Application de l'EMA-PCR à la quantification des légionelles	205
5.2. EMA vs PMA	205
6. Autres méthodes de quantification	206
6.1. Séparation immunomagnétique-culture	206
6.2. Immunofluorescence et cytométrie en flux et en phase solide	206
6.3. Hybridation <i>in situ</i> de sondes ciblant l'ARN (FISH : <i>fluorescent in situ hybridation</i>)	207
6.4. Méthode IDS (<i>immunological double-staining</i>)	207
6.5. Mesure de la consommation d'ATP ou ATPmétrie	207
Références bibliographiques	208

Chapitre 11

Identification des souches de <i>Legionella</i> (<i>Christophe Ginevra et Jean Freney</i>)	213
1. Identification de genre : caractères cultureux	213
2. Identification au niveau de l'espèce et du séro groupe	215
3. Identification immunologique	217
4. Identification moléculaire	218
5. Identification par le système MALDI-TOF-MS	218
Références bibliographiques	219

Chapitre 12

Surveillance de la légionellose et stratégie d'investigation des cas (<i>Christine Campese, Christophe Ginevra, Sophie Jarraud et Didier Che</i>)	221
1. Le système de surveillance de la légionellose en France	221
2. Définitions des cas de légionellose en France	223
2.1. Critères de définitions	223
3. Principales caractéristiques épidémiologiques	223
3.1. Caractéristiques épidémiologiques de la légionellose en France (données issues du système de déclaration obligatoire)	223
3.2. Caractéristiques épidémiologiques européennes	227
4. Méthodes d'investigation épidémiologique	227

5. Techniques de typage moléculaire appliquées aux <i>Legionella</i>	229
5.1. Techniques évaluées par le groupe européen EWGLI	229
5.1.1. Méthode phénotypique : typage par utilisation d'anticorps monoclonaux (Mabs)	229
5.1.2. Méthodes génotypiques	230
5.2. Interprétation des données issues du typage des souches de <i>Legionella pneumophila</i>	235
5.2.1. Données issues de la base de données du groupe EWGLI	235
5.2.2. Données issues de la base de données du CNR	236
5.2.3. Interprétation des résultats microbiologiques lors de l'investigation épidémiologique d'un cas isolé ou de regroupements de cas	236
Conclusion	238
Références bibliographiques	238

Chapitre 13

Prévention des légionelloses et contrôle des réseaux d'eau <i>(Monique Reyrolle, Jérôme Droguet et Jean Freney)</i>	243
1. Aspects réglementaires	243
1.1. L'investigation et la gestion des cas groupés	243
1.2. Les tours aэрoréfrigérantes	244
1.3. Les eaux chaudes sanitaires et autres réseaux	244
2. La conception et la réalisation des réseaux d'eau intérieurs des bâtiments	246
2.1. Préambule	246
2.2. La détermination des traitements de l'eau	247
2.2.1. Le traitement de l'entartrage et de la corrosion	247
2.2.2. Le traitement des particules	248
2.2.3. Les traitements biocides	248
2.3. La conception des productions ECS	248
2.4. La conception et le dimensionnement des réseaux de distribution	249
2.5. La réalisation des installations	250
2.5.1. Les documents d'étude d'une opération de travaux	250
2.5.2. Les règles d'hygiène à respecter pendant les travaux	250
2.6. La mise en eau des réseaux neufs ou rénovés	251
3. L'exploitation et la maintenance des réseaux d'eau intérieurs des bâtiments	254
3.1. Préambule	254
3.2. Le suivi des paramètres de fonctionnement des installations et de la qualité de l'eau	254
3.3. La maintenance des installations	255
3.4. Les diagnostics des réseaux	255

3.5. La formation des intervenants	255
3.6. Le carnet sanitaire.	255
4. Généralités sur les désinfectants et leur efficacité sur les légionelles.	256
4.1. Choix du désinfectant	256
4.2. Paramètres à prendre en compte.	256
4.3. Les différentes méthodes de désinfection.	257
4.4. Actions curatives et préventives	257
4.4.1. Actions préventives	257
4.4.2. Actions curatives	257
5. Différents désinfectants.	258
5.1. Méthodes physiques	258
5.1.1. Choc thermique	258
5.1.2. Ultraviolets (UV).	259
5.1.3. Filtration.	260
5.2. Méthodes chimiques	260
5.2.1. Agents oxydants.	260
5.2.2. Agents non oxydants : ionisation cuivre-argent	265
6. Conclusion	267
Références bibliographiques	269
Index	273