



LEGIONELLES : Diagnostic au laboratoire

22.04.2026

Dr Monique Perrin,
Chef du Service MYCOBAC au LNS

Conflits d'intérêts



*Pour cette présentation,
le Dr M.PERRIN déclare
n'avoir aucun conflit d'intérêts*



PLAN

- *Qu'est ce que la Légionellose ?*
- *Comment se contamine-t-on ?*
- *Conduite à tenir devant un cas suspect ?*
- *Les différents tests de laboratoire*
 - *Ag urinaire de légionelles*
 - *PCR respiratoire Legionella*
 - *Culture de Legionelles*
 - *Sérologie*
- *Recherche de Legionelles dans l'eau*
- *Analyse autour d'un cas*

Qu'est ce que la Légionellose ?

- **Dans sa forme typique : Pneumonie de sévérité variable**, dûe à bactérie du genre *Legionella*
- signes pulmonaires : dyspnée, toux importante.... Dans un contexte de syndrome pseudo-grippal avec fièvre, céphalées, myalgies, anorexie depuis qq jours
 - Signes digestifs associés (50%) : douleurs abdominales, diarrhées....
 - Signes neurologiques (40%) : confusion mentale, hallucinations....
 - Biologie : hyponatrémie, ↑°transaminases, PAL, LDH

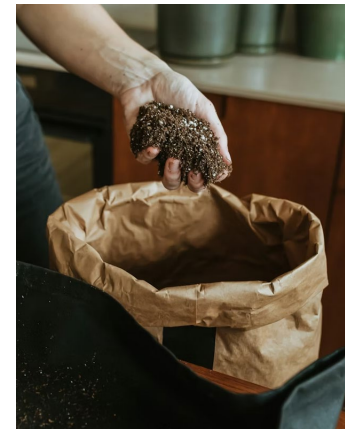
=> Nécessite hospitalisation du patient (98% des cas)



- **forme frustre : syndrome pseudo-grippal** (Fièvre de Pontiac)
- **Formes extra-pulmonaires : arthrite, lésions cutanées, myocardite....(rares)**

Comment se contamine-t-on ?

- Contamination par inhalation de gouttelettes d'eau contaminées

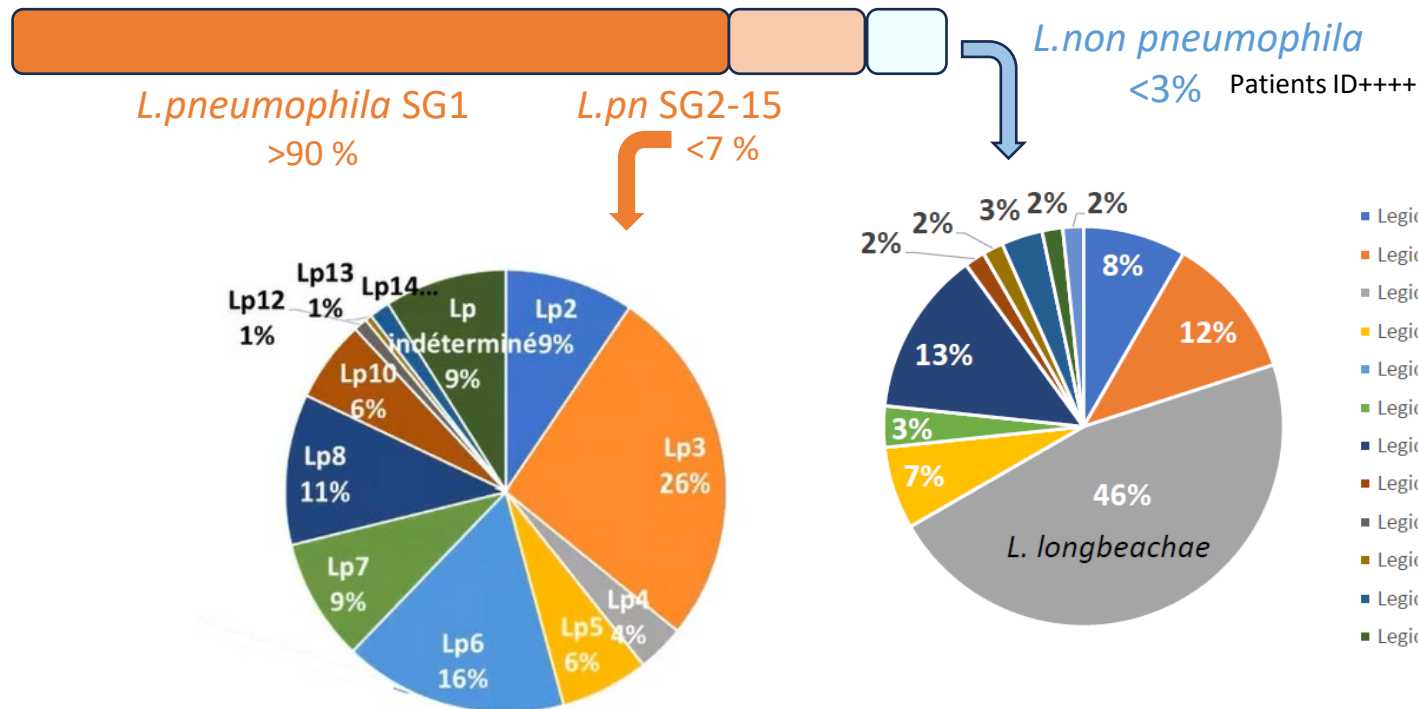


Réservoir de L.Longbeachae

- PAS de contamination inter-humaine

Caractéristiques de la bactérie

- Genre *Legionella* - >70 espèces





CAT devant tableau suspect

2 choses à faire :

Urines -> *Ag urinaire de Legionella*

Détection LPS qui a la propriété d'être thermostable et de se concentrer dans les urines

Prélèvement pulmonaire -> *PCR (+/- culture)*

crachat, aspi TB, LBA : **OUI**

crachat salivaire : **OUI**

crachat ss ABth /béta-lactamines) : **OUI**

Frottis naso-pharyngé : **NON** Moindre sensibilité par rapport aux autres prlvts

Pourquoi :



Ag urinaire

PCR Legionelles

Culture





Comment faire le diagnostic au laboratoire?



1. Ag urinaire de Légionelle

- Facile, qqes ml d'urines , pas forcément les urines de la nuit
- Rapide (<1h)
- Détection précoce : 2-3j après le début des symptômes
- Persiste pls j -> 2 mois en moy -> 1 an parfois
- Excrétion peut être intermittente

Nombreux tests existent (I°chromato; ELISA)

- Pas tous de qualité équivalente
- Certains utilisent des lecteurs optiques
- Ont fait récemment l'objet d'une évaluation xticentrique européenne [Poster 139, ESGLI, RICAI 2025](#)

1 test mis en défaut ds l'épidémie d'Albertville (09.2025)
sensibilité = 67% seulement !

- **Ne détecte que Lp1** (= Legionella pneumophila SG1)
- Excrétion peut être intermittente => devant tableau clinique évocateur mais AgU négatif, ne pas répéter la recherche sur autre échantillon d'urines; **faire recherche sur prélèvement pulmonaire**



Comment faire le diagnostic au laboratoire?



Sensibilité

67% - 100%

- > PCR pour Lp1
- Non influencé par ABthérapie
- Dépend de la sévérité de la légionellose
 - Sévère : 88% -100%
 - Peu sévère : 40 – 53%
Yzerman EP et al, JCM 2002
- Dépend de la souche
 - certaines ont un LPS abîmé
 - Lp1 Mab3/1- : <71%
Helbig and al, in Marre R, et al (ed),2002
- Dépend du type de légionellose
 - Communautaire, voyages : 88% -100%
 - Nosocomiale : 45% Helbig and al, JCM, 2003

Spécificité

97% - >99%

- Faux positifs
 - => chauffer les urines et refaire test
 - à faire même si pas inscrit dans la notice

- Fait le diagnostic -> permet d'adapter rapidement le traitement
- MAIS, ne détecte que LP1 et ne permet pas de mener à bien une enquête épidémio pour trouver l'origine de la contamination

Comment faire le diagnostic au laboratoire?

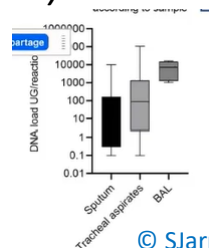
2. PCR *Legionella* sur prélèvements pulmonaires

Sensibilité

85% - 100%

- PCR < Ag urinaire pour les Lp1
seulement 80-85% des Ag urinaires +
- PCR > culture (~30% + sensible que culture)
- Fct° du type de prélèvement respiratoire
Qté d'ADN LBA > Aspi TB > crachat

- Frottis N-Ph : <50% Kim et al, MS 2025



© Sjarraud, Données
CNR FR

Spécificité

>99%

- Nbrx tests existent :
PCR multiplex
PCR syndromiques
- Détecte tous les SG de *L.pneumophila*
- Détection des espèces *L.nonPn* = rare
(certains kits seulement)

INTERETS :

- Comme outil de Suivi : PCR + > 30j ds les formes persistantes et les rechutes
- Comme indicateur de gravité : Concentrat° d'ADN à l'arrivée est corrélée avec sévérité, admission en USI, durée d'hospitalisation, mortalité

Comment faire le diagnostic au laboratoire?

3. Recherche de *Legionella* par culture

Sensibilité

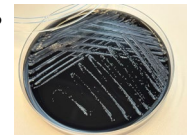
50% - 60%

- Fct° du type de prélèvement respiratoire
Aspi TB et LBA > crachat
- Crachats salivaires peuvent être acceptés
Ingram et al., JCM, 1994
- Prélèvement fait sous ABthérapie
culture positive possible, mais >8j....

INTERETS :

- Permet de détecter tous les types de légionelles (Lp1, Lp 2-15, LnonPn)
- Permet isolement de la souche
- Permet de mener étude épidémiologique à la recherche de la cause de la contamination

- Ne pousse pas sur milieux classiques
-> milieu au charbon, riche en cystéine



Milieu BCYE, OXOID

- Aérobiose, 35°C +/- 2°C
2,5%CO2 favorable pr certaines espèces
mais pas obligatoire
- Durée d'incubation = 10j
J3 : 49% cultures J5: 95% (Lp)
J10: 100% (autres espèces)

Comment faire le diagnostic au laboratoire?

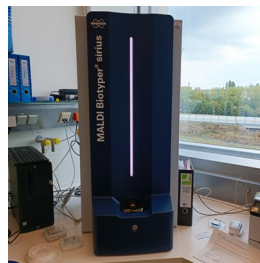
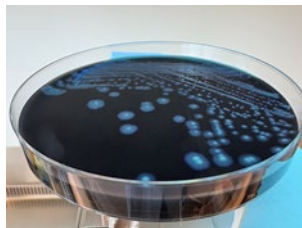
3. Recherche de *Legionella* par culture



Lp1

Milieu BCYE,
OXOID

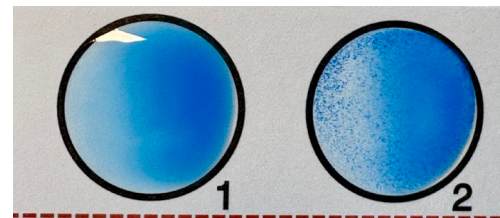
Repérage des colonies



Maldi-Tof, BRUKER

Identification

Excellente pour toutes les
espèces de Legionelles



Typage

Legionella Latex test, OXOID

Agglutination de particules
latex LPn1 ou LPn 2-15

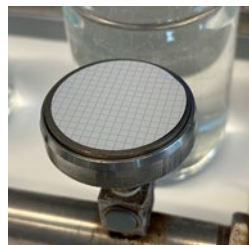
4. Sérologie

- *N'est plus du tout d'actualité, n'est plus du tout recommandée*

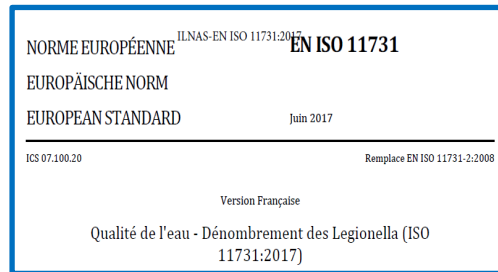
Comment faire la recherche dans un prélèvement d'eau ?



Filtration de volumes définis d'eau



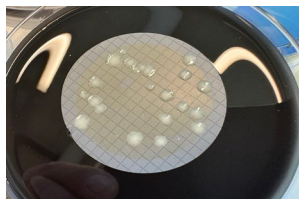
Membrane de polycarbonate



MILLIPORE

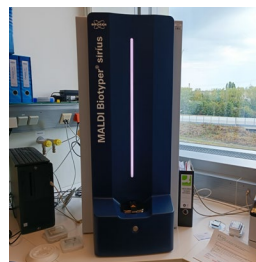
Etuve

*Incubation
35°C+/-2°C pdt 10j*



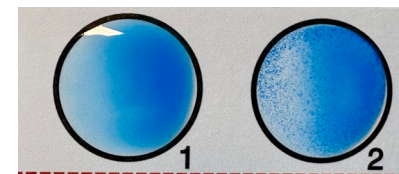
Milieu GVPC, OXOID

Repérage des colonies



Maldi-Tof, BRUKER

Identification



Typage

Legionella Latex test, OXOID



Etude autour de cas

- 2 situations :
- Comparaison entre *souches* environnementales et cliniques
 - Comparaison entre *souches* environnementales et *prlvts cliniques* avec PCR Leg +

Sur la souche



Séquençage du
génom complet
WGS



Sur le prélèvement PCR Leg+



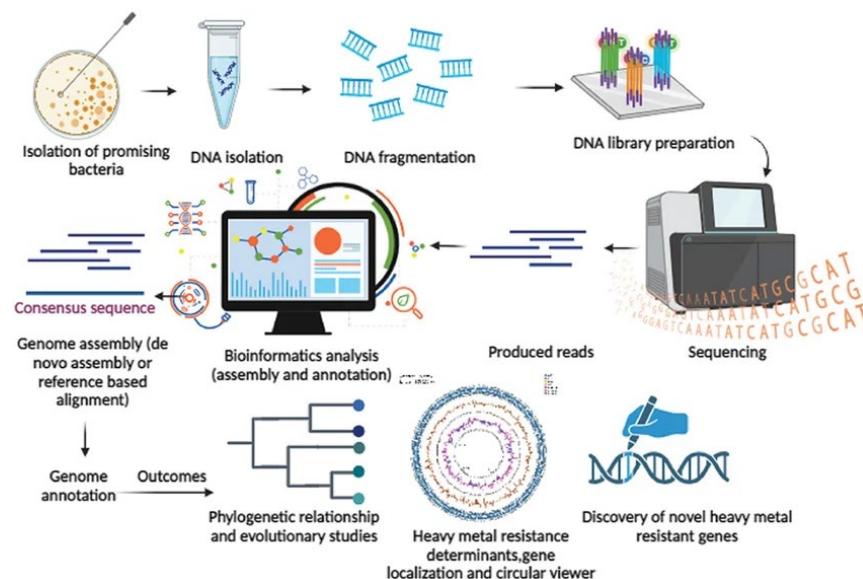
*nested Sequence-
based typing
N-SBT seulement*

Etude autour de cas

1. Séquençage de souches

→ Permet de comparer **les souches** isolées de prélèvements **cliniques avec les souches environnementales** obtenues dans le cadre d'une investigation autour de cas de légionellose

La technique : -> *Séquençage du génome complet (WGS) plateforme Illumina*





Etude autour de cas

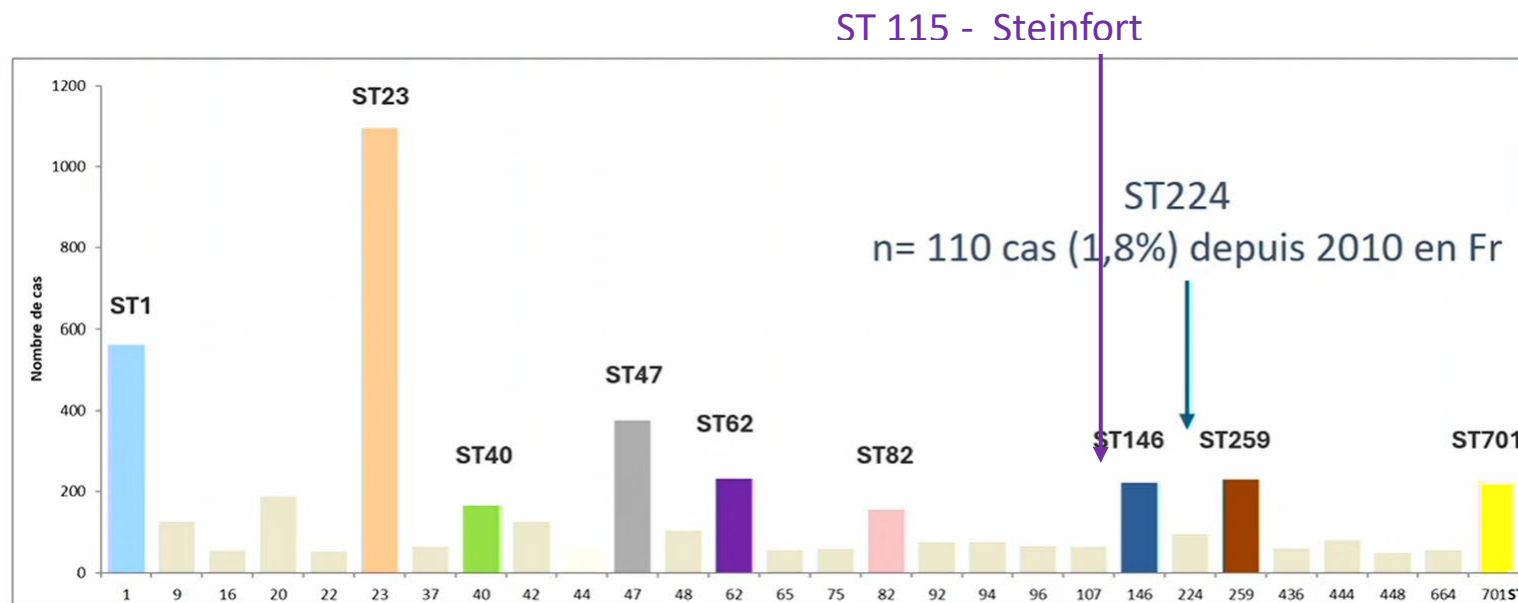


A partir du génome complet, différentes informations peuvent en être tirées :

- Détermination **du ST (MLST) – basé sur 7 gènes**
(flaA, pilE, asd, mip, mompS, proA, neuA)
résultat comparable avec les résultats des techniques utilisées auparavant
- Détermination **du CT (cgMLST) (schéma de 50 gènes ou 1521 gènes)**
standardisé au international , dépend de l'outil bioinformatique utilisé
permet d'obtenir une résolution + fine que dans une comparaison basée sur 7 gènes

Etude autour de cas

ST des souches de Legionelles

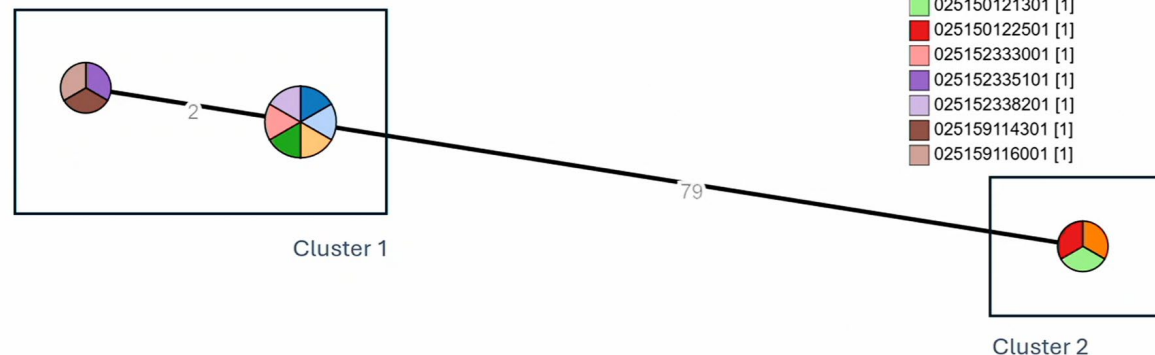


Etude autour de cas

cgMLST1521 des souches ST244 - Albertville

Epidémie Albertville

cgMLST1521





Etude autour de cas

- 2 situations :
- Comparaison entre *souches* environnementales et cliniques
 - Comparaison entre *souches* environnementales et *prlvts cliniques* avec PCR Leg +

Sur la souche



Séquençage du
génom complet
WGS



Sur le prélèvement PCR Leg+



*nested Sequence-
based typing*
N-SBT seulement



Etude autour de cas

2/Technique '*nested Sequence-based typing*' sur Prlvt PCR +

- repose sur la recherche ciblée des 7 gènes de référence définis pour *L.pn* (flaA, pilE, asd, mip, mompS, proA, neuA)

-> PCR ciblées

- permet dans le meilleur des cas la détermination du ST, mais ne permet pas d'aller + loin

- A été très employé dans le passé, a été la méthode de référence de comparaison des legionelles

A été appliqué dans l'épidémie de **Steinfort**
puisque aucune culture n'avait été obtenue à partir des prlvts respiratoires

Etude autour de cas

nested Sequence-based typing – Steinfort 2025

	Nature Prlv	Souc/Pr	flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA	neuA_	ST	CT
Environnement	Douche chbre HIA STEINFORT 100 CFU/L	Souche	12	29	2	5	3	17	15	115	1640
	Douche Etage Maison privée 2000 CFU/L	Souche	12	29	2	5	3	17	15	115	1640
	Tour de refroidissement 13500 CFU/L	Souche	12	29	2	5	3	17	15	115	1640
Patient	Patient 1 FNP PCR + Ct=35 cult –	Prlvt	12	29	ND	5	3	17	15		
	Patient 2 FNP PCR + Ct= 30 cult –	Prlvt	12	29	ND	5	3	17	15		

ST 115
probable

En orange, résultats du EURL-PH LEG (Lyon, FR)

ST = Sequence Type

CT = Complex Type

CONCL du EURL-PH LEG : Cette concordance génétique entre les isolats cliniques et environnementaux est compatible avec une contamination provenant des réseaux de distribution d'eau étudiés

En conclusion

En cas de suspicion de Légionellose :

- *La recherche de legionelles dans les urines est une technique sensible, rapide mais limitée à Lp1. Elle ne permet donc pas le diagnostic des légionelloses dûes aux autres sérogroupes de Lp (7%) et aux autres espèces de Legionella (3%)*
- *Le prélèvement pulmonaire (hors FNP) permet le diagnostic de toutes les légionelloses (tous SG et toutes espèces) par PCR +/- culture.*
De +, il permet de réaliser une enquête épidémiologique à la recherche de l'origine de la contamination

PRESCRIRE :

- ☒ Urines : Ag Légionelles
- ☒ P.respiratoire : PCR legionelles
Culture Legionelles

A small horizontal bar with red, black, and blue segments.

Merci pour votre
ATTENTION !

A large decorative graphic at the bottom of the slide, consisting of overlapping diagonal shapes in blue, red, and dark grey.