

Le génotype des souches de légionelles comme facteur pronostique associé à la mortalité des cas de légionelloses

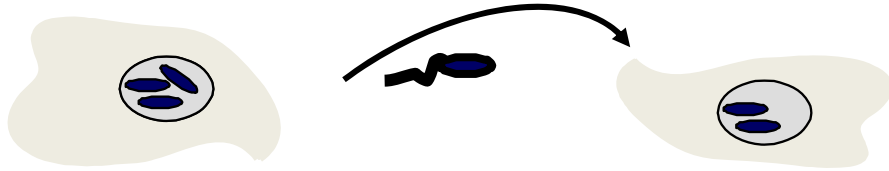
Sophie Jarraud, Silene Pires-Cronenberger, Christine Campese, Didier Che, Jérôme Etienne, Philippe Vanhems, Christian Chidiac

LEGIONELLES
Centre National de Référence

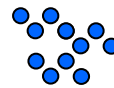


CONTEXTE

Legionella, bactérie ubiquitaire de l'environnement hydrique



Amibes : réservoirs des légionelles



Aérosols contaminés

Homme : hôte accidentel

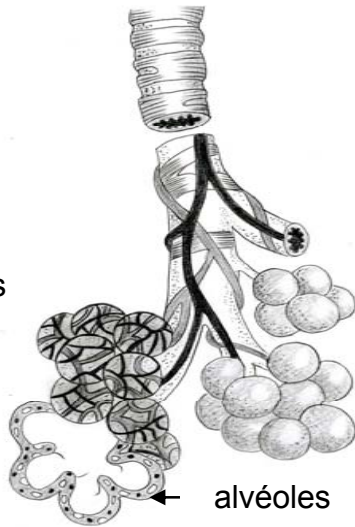
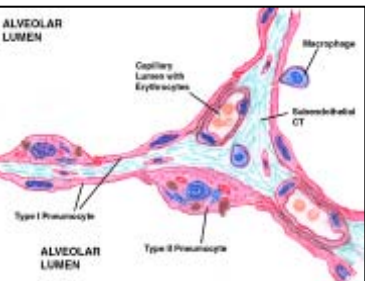
infection

élimination = clairance



Facteurs - environnementaux
- d'hôte
- lié à la bactérie

- pneumocytes
- macrophages alvéolaires



Facteurs favorisant l'acquisition de la légionellose

Environnement

- le risque est d'autant plus élevé que la concentration de légionelles dans l'eau est élevée

Facteurs d'hôte

- age avancé
- sexe (H/F = 3)
- cancer / hémopathies
- corticothérapie
- immunodépressions
- diabète
- tabagisme

- Susceptibilités génétiques (polymorphismes TLR5 et TLR4)

Facteurs favorisant l'acquisition de la légionellose

La bactérie *Legionella*

- une cinquantaine d'espèces dont *L. pneumophila*
- *L. pneumophila* sg 1 : $\approx 85\%$ des cas de légionellose
 - pourrait être lié au cluster de gènes de biosynthèse du LPS spécifique (Cazalet et al. 2008)
- Toutes les souches Lp1 n'ont pas le même potentiel pathogène
 - souches présentant l'épitope du LPS reconnu par les Mab 3/1
 - 65 % à 100 % des souches cliniques
 - 15 % à 35 % des souches environnementales
 - clones endémiques prédominants :
 - clone Paris et clone Lorraine
 - association de certains clones avec certains facteurs d'hôte (Ginevra et al. 2009)
 - souche Paris positivement associée au sexe féminin ($p=.008$) et négativement associée au tabac ($p=.003$),
 - souche lorraine positivement associée au tabagisme

Facteurs associés à la létalité

- Pronostic peut être sévère
 - France : 1998 – 2008 mortalité globale de 13 % (22% en 1998 → 11% en 2008) (données de l'InVS)
 - Mortalité : 1 à 80 % (Edelstein 2005), 5 % (Mykietiuik, 2005), 31 % (Jacobson, 2008)
- Facteurs associés à la létalité
 - âge
 - comorbidités (cancer, hémopathie, insuffisance rénale chronique, diabète...)
 - séjour en réanimation
 - délai de prescription d'une antibiothérapie adaptée
 - cas sporadiques communautaires vs cas nosocomiaux vs cas épidémiques

Certains génotypes de *Legionella* sont-ils associés à la mortalité ?

Méthode

- Population
 - étude nationale prospective, multicentrique (1^{er} avril 2006 au 30 juin 2007) sur les facteurs pronostiques associés à la mortalité
 - 595 patients inclus
 - cas confirmés à Lp1
 - questionnaire standardisé complété par le clinicien après consentement du patient
 - données démographiques, cliniques, biologiques, thérapeutiques
- Caractérisation des souches
 - Méthode phénotypique :
 - sous groupage des Lp1 par les anticorps monoclonaux Mab3/1 (dirigé contre le LPS)
 - Méthodes génotypiques :
 - Sequence Based Typing (SBT), séquençage de 7 gènes
 - » 2 gènes de ménage (*asd*, *neuA*), 5 gènes associés à la virulence (*proA*, *mip*, *flaA*, *pilE*, *mompS*)
 - PFGE

Certains génotypes de *Legionella* sont-ils associés à la mortalité ?

- Analyse statistique
 - population stratifiée en
 - patient décédé / patient survivant
 - patient avec culture positive vs culture négative vs culture non faite
 - test exact de Fisher pour les variables paramétriques
 - test non-paramétrique Mann-Whitney U-test pour les variables continues

Facteurs associés à la mortalité ?

595 patients



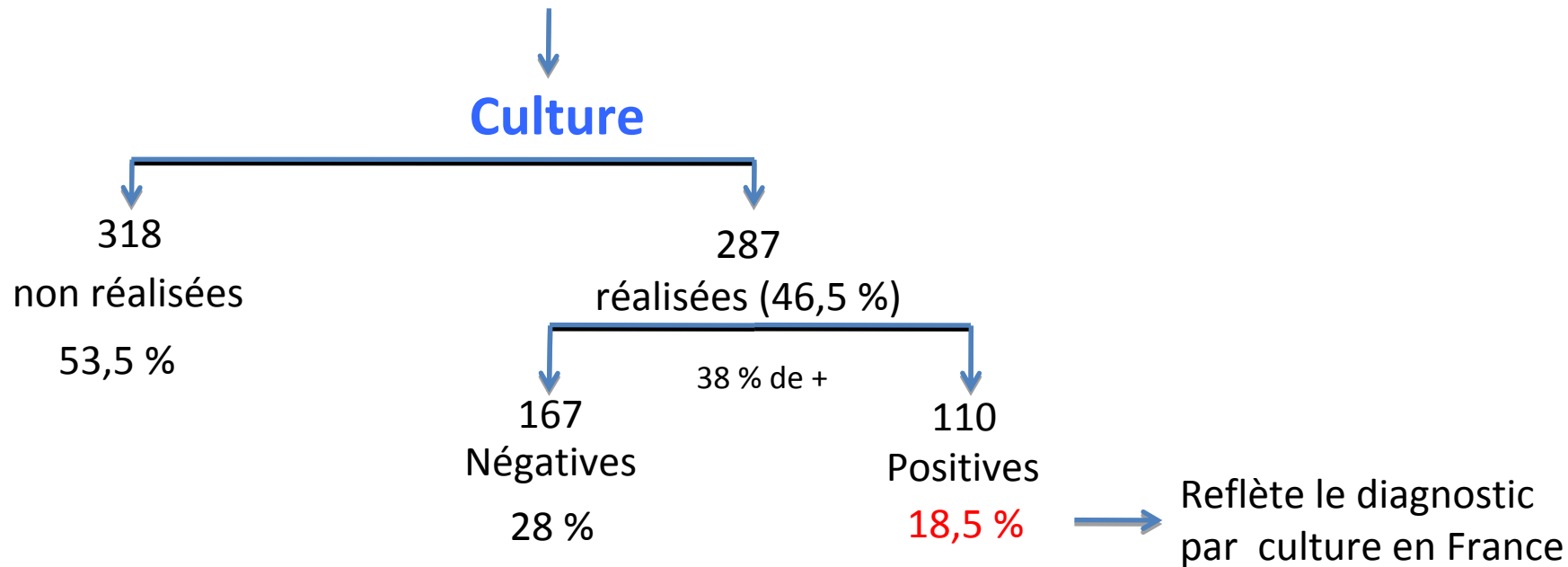
59 décès : 9,9 %

Mortalité rapportée
par l'InVS d'après les DO : 11 %

Risque relatif de décès (analyse multivariée)

variables	RR (IC, 95%)	p
Age par tranche de 10 ans	1.49 (1.21-1.84)	$p < .001$
Sexe féminin	1.80 (1.04-3.14)	$p = .04$
Séjour en réanimation	3.35 (1.82-6.17)	$p < .001$
Insuffisance rénale	2.89 (1.64-5.08)	$p < .001$
corticothérapie	2.70 (1.30-5.63)	$p = .008$
Acquisition à l'hôpital	2.47 ((1.14-5.38)	$p = .02$

595 patients inclus (antigénurie positive)



Taux de mortalité

Culture non faite	Culture négative	Culture positive	<i>p</i>
21 / 318	17 / 167	21 / 110	
6,6 %	10,2 %	19,1 %	0,001

$P = 0,049$



La mortalité est significativement plus importante chez les patients avec culture positive

Caractéristiques des patients avec culture positive

caractéristiques	Culture positive (%)	Culture négative (%)	P
Age	56 [21 - 93]	60 [26 - 96]	NS
Sexe			
Femme	29 (26,4)	43 (25,7)	NS
Homme	81 (73,6)	24 (74,3)	NS
Séjour en réanimation	63 (57,3)	46 (27,5)	< 0,001
Score de Fine			
classe II – III	21 (26,6)	45 (40,2)	0,001
classe IV – V	58 (73,4 %)	67 (59,8)	
Délai de prise en charge adaptée (jour)*	3,9	4,9	0,012

* délai entre la date des 1ers signes cliniques et la 1^{ère} date de mise sous antibiothérapie intra-cellulaire (macrolide /fluoroquinolone)

➔ Patients plus sévères malgré un délai de prise en charge adaptée plus court

Caractéristiques des patients avec culture positive

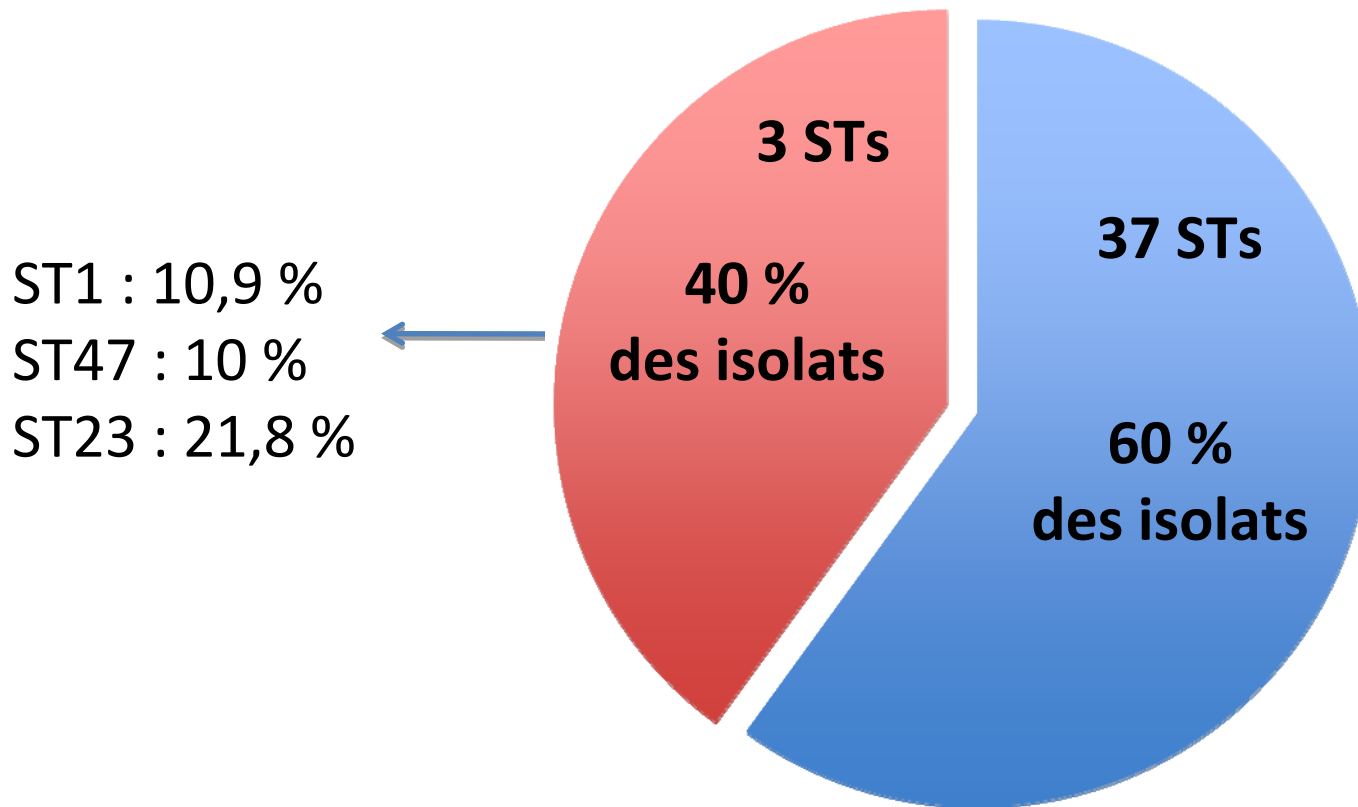
Facteurs de risque	Culture positive (%) N=110	Culture négative (%) N=167	<i>P</i>
tabagisme	61 (55,5 %)	89 (53,3 %)	NS
diabète	19 (13,3 %)	24 (14,4 %)	NS
Hémopathie / cancer	12 (19,9%)	17 (10,2 %)	NS
Corticoïdes par voie générale	16 (14,5)	6 (3,6)	0,002

- ➡ Pas de facteurs de risque significativement accrus
- ➡ Exception : les cultures positives sont significativement associées aux patients sous corticoïdes

Résultats de typage des souches

Sur la base du SBT : 3 clones endémiques majoritaires

110 isolats distribués dans 40 STs



→ 40 % des cas avec culture sont dus à 3 clones de *L. pneumophila* séro groupe 1

Ces génotypes sont-ils associés à la mortalité ?

	Patients vivants	Patients décédés
ST23	23 (95,8 %)	1 (4,2 %)
ST1	8 (66,7 %)	4 (33,3 %)
ST47	7 (63,6 %)	4 (36,4 %)
Autres STs	51 (81 %)	12 (19 %)

$p = 0,016$ (grouping ST1 and ST47)

$p = 0,041$ (grouping ST23, ST1, and ST47)



ST1 et ST47 : positivement associés à la mortalité

ST23 : négativement associé à la mortalité

OR (Odds Ratio)	ST1 vs autres	ST23 vs autres	ST47 vs autres
	2,13	0,18	2,43

Différences non associées au facteur sexe

Sexe	Femme	Homme
ST23	6 (25 %)	18 (75 %)
ST1	5 (41,7 %)	7 (58,3 %)
ST47	5 (45,5 %)	6 (54,5 %)

} NS

... mais tendance : ST1 et ST47 plus souvent associées aux femmes

Différences non associées au facteur âge

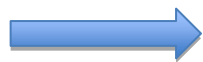
	âge
ST23	54 [28 - 87]
ST1	67 [44 - 90]
ST47	58 [28 - 88]

} NS

... mais tendance : ST1 plus souvent associées à l'âge avancé

Caractéristiques de ces clones

- Le clone ST1 = clone Paris
 - un profil en PFGE spécifique = souche Paris
 - Regroupe différents sous-groupes définis par les Mab 3/1 : Philadelphia (MAb 3/1-positive), Oida (MAb 3/1-negative).
- Le clone ST47 = clone Lorraine
 - isolats présentent des caractéristiques très homogènes
 - un profil PFGE spécifique = souche Lorraine
 - 1 seul sous-groupe : France/Allentown (MAb 3/1-positive)
- Le clone ST23 :
 - nombreux profils PFGE proches mais différents dont la souche Louisa
 - regroupe différents sous groupe : Philadelphia, Oida, France/Allentown, Knoxville



Homogénéité des clones ST1 et ST47
Plus grande hétérogénéité du clone ST23

Conclusion

- Certains clones de *Legionella* (ST1, ST47 et ST23) sont prédominants en France et en Europe dans les cas de légionellose
- Les clones ST1 et ST47 sont associés positivement à la mortalité
- Les souches Paris (ST1) et Lorraine (ST47) ont été séquencées par l'Institut Pasteur de Paris
- Objectif : mise en place d'outils pour détecter rapidement par PCR les génotypes associés à la mortalité
 - Dans l'eau : mesures de prévention environnementales adaptées et spécifiques à la colonisation
 - D'autant plus important pour la souche Lorraine (ST47) exceptionnellement identifié dans l'environnement par culture
 - Chez le patient : PCR spécifique sur prélèvement pulmonaire : modulation de la prise en charge des patients adaptée à la souche ?
 - Développement des PCR spécifiques en cours au CNR et à l'IPP : essais encourageants

Remerciements

- **Patients**
- **Groupe d'étude:**
 - Bédos JP. (Versailles),
 - Brun-Buisson C (Créteil),
 - Campese C. (InVS, St Maurice),
 - Che D. (InVS, St Maurice),
 - Desenclos JC. (InVS, St Maurice),
 - Chavanet P. (Dijon),
 - Chidiac C. (Lyon),
 - Etienne J. (Lyon),
 - Poirier R. (Aix en Provence),
 - Potel G. (Nantes),
 - Rouquet RM. (Toulouse),
 - Roussel-Delvallez M. (Lille),
 - Sollet JP. (Argenteuil),
 - Weinbreck P. (Limoges)
 - Vanhems P. (Lyon)
- **Silène Pires-Cronenberger**

Remerciements

- **Collaborateurs et correspondants** : FRABOULET S. (Hôpital Ambroise Paré, Boulogne); MASSOU N. (CH de Lagny - Marne-la-Vallée, Lagny sur Marne); MOURVILLIER B. (Groupe Hospitalier BICHAT-Claude Bernard, Paris); DUSSOPT C. (Hôpital de Ville Franche/Saone, Ville Franche/Saône); HOURNAU-BLANC (Hôpital des Charpennes, Villeurbanne); OZIOL E. (CH de Béziers, Béziers); BOUCHET (CH de Carpentras , Carpentras); YAZJI O. (CH Saint Louis Hôpital de la Rochelle, La Rochelle); QUETANT S. (CHU de Grenoble, Grenoble); PAYAN R. (Clinique Casamance, Aubagne); CORDIER C. (CH de Seclin, Seclin); BENSASSI (CH Pierre-le-Damany, LANNION); LEDUC D. (CH Intercommunal Annemasse-Bonneville, Annemasse Ambilly); MAMMAR (Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil); BENHAMOU D. (Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Rouen); DUFRANC A. (Centre Hospitalier de Carcassonne, Carcassonne); ABOUD I. (HOPITAL Européen Georges Pompidou, Paris); VAYLEUX M. (CH de Cahors, Cahors); ROSEAU JB (Hôpital d'Instruction des Armées Sainte-Anne, Toulon); NAVELLOU (Hôpital J. Minjoz, Besançon); CADIERGUE V. (CH d'Annonay, Annonay); FONQUERNIE L. (Hôpital Saint Antoine, Paris); TARHINI A. (CH de Grasse, Grasse); LANGE (Hôpitaux du Pays du Mont Blanc, Sallanches); JOLY V. (Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris); KHETTAB F. (CH Lyon Sud, Pierre Bénite); VASSALO (Hôpital de L'Archet, Nice); GARNIER (CH de Lourdes, Lourdes); LATAIGNANT (CH de Beauvais, Beauvais); CASTELNAU O. (Institut Arnault TZANCK, Saint Laurent du Var); VIALARD JF. (Hôpital Haut-Lévêque, Pessac); MOULRONT S. (Centre Hospitalier de Dunkerque, Dunkerque); BOYER GR (Institut Arnault TZANCK, Saint Laurent du Var); GRACCO C. (Hôpital Henri Mondor, Créteil); GIRARDIE P. (Hôpital Roger Salengro – CHRU Lille); MARCHAND (Hôpital Pays du Mont Blanc, Sallanche); D'AMORE D. (CH Intercommunal Toulon, Toulon); KOUZAN (CH de Béthune, Béthune); CORMIER (CH de Manosque, Manosque); ANDRIANAVALONA RAKOTO (CH W. Morey, Châlon/Saône); DJENNANE (Hôpital Emille Muller, Mulhouse); DEROLLEZ (Polyclinique du Val de Sambre, Maubeuge); AUBURTIN M. (CH Jean Monnet, Epinal); PAGE B. (Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt); LACHEB (CH Victor-Dupouy, Argenteuil); BRAHIMI F. (Hôpital TENON, Paris); FROIDURE (CH d'Anemasse, Anemasse); APTEL (CH - Lons le Saunier, Lons le Saunier); BENNEGADI (CH Marc Jacquet, Melun); VEZIES A.M. (CH de Draguignan, Draguignan); JOUHET (CH d'Avignon, Avignon); MOSTEFA-KARA N. (CH d'Evreux, Evreux); PERNY (Hôpital Brabois Adultes, Vandoeuvre-les-Nancy); REGNIER (Hôpital St Antoine, Paris); DORE P. (CH la Rochelle, La Rochelle); CATHERINOT E. (Hôpital Foch, Suresnes); KRAEMER (Centre Hospitalier Intercommunal de Fréjus-Saint Raphaël, Fréjus); HUGUET R. (Clinique de la Porte Verte, Versailles); WAGNER T. (CH Cochin Saint Vincent de Paul, Paris); DARRAS (Hôpital Saint Philibert, Lomme); LANDREAU L. (Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier); SIZARET (Hôpital Emille Muller, Mulhouse); RATRIMOSON (CH de l'Agglomération de Montargoise, Amilly); BIZARD A. (Hôpital Départemental de Stell, Rueil Malmaison); SCHWARTZ (Hôpital Brabois Adultes, Vandoeuvre-les-Nancy); LECHICHE C. (Hôpital Caremeau, Nîmes); CURIET I. (Centre Hospitalier de Voiron, Voiron); CATHERINOT (Hôpital Foch, Suresnes); MELICA (Hôpital Henri Mondor, Créteil); RUYER O. (CH de Belfort-Montbéliard, Belfort); STREEF (CHU Metz-Thionville Hôpital Bel Air, Thionville); BOTRUS (CH Hôpital de BeauRegard, Thionville); PIRON Y. (CH Le Mans, Le Mans); ROESCH P. (Hôpital Emille Muller , Mulhouse); DEHECQ (CH de Tourcoing, Tourcoing); MARTIN S. (Clinique du Petit Colmoulin, Harfleur); TEXEREAU M. (CH de Niort, Niort), FAVIER L. (CH de Béziers, Béziers); LAKESTANI O. (Hôpitaux Drôme, Romans-Sur-Isere); FRANQUET J. (CH Saint Nicolas, Sarrebourg); MISSLER J. (Hôpital de HOFF, Sarrebourg); GRILLIAT E. (CH Saint Nicolas, Sarrebourg); Mr LEMAIRE (CH de Tourcoing, Tourcoing); Mr MISCHKE (Hôtel Dieu de Pont l'Abbé, Pont l'Abbé); ZAGOZDA D. (CH de Boulogne, Boulogne-Sur-Mer); Mr BOUCHAGOUR (CH de DIEPPE, Dieppe); BONNIOT J-P. (CH de Chevilly Larue, Chevilly Larue); Mr KRAEMER (CHI de Fréjus-Saint Raphaël, Fréjus); Mr DARRAS (Hôpital Saint Philibert, Lomme); NGUYEN28L-T. (CH de Vichy, Vichy); RUFFENACH M. (Hôpital de HOFF, Sarrebourg); LESUEUR A. (C M C Bligny, Briis-Sous-Forges); Mme COMPAIN (Hôpital Europeen Georges Pompidou, Paris),.