

## LEGIONELLA AND LEGIONELLOSIS (LEGIONNAIRES' DISEASE) IN NEW CALEDONIA, 2005-2010

### Introduction

**L**egionella is a genus of bacteria that are found naturally in water and mud but which can cause a serious and potentially fatal respiratory infection in humans, i.e. legionellosis or Legionnaires' disease. Legionellae frequently colonise water systems, particularly domestic hot water systems and cooling towers. Several *Legionella pneumophila* serogroups can cause legionellosis in humans: serogroup 1 is responsible for 90 % of cases, serogroups 2 to 15 account for the remaining 10 %. There are other potentially dangerous legionella species and the existence of *Legionella spp* is an indicator that conditions are optimal in the system for the spread of legionellae, including *L. pneumophila* (1).

**I**n New Caledonia, the Office of Industry, Mining and Energy (DIMENC) lists and monitors facilities which have cooling towers (2) through the "Facilities regulated for environmental purposes"- (ICPE) act. Some public and private institutions monitor the presence of legionellae in their hot water equipment (3).

**T**he New Caledonia Pasteur Institute (IPNC) is a laboratory that has been approved (4) by New Caledonia authorities to test water and it is the only one to do legionella screening and serotyping. The IPNC's Hygiene, Food and Environmental Laboratory (LHAE) has isolated many legionella strains in the environment but no cases of legionellosis had ever been reported in New Caledonia until July 2010, when one case was diagnosed in Noumea.

**I**n this article, we present the results of the environmental testing the Pasteur Institute's LHAE carried out from January 2005 to December 2010 as a way to raise awareness among health professionals about the existence of legionella in the environment and so, the potential risk of legionellosis in the New Caledonia population.

### Method

#### Screening for legionella in the environment

This is done in accordance with standard NFT 90-431 and its amendment 90-431/A1 "Water quality – Screening for and assessing the number of *Legionella spp* and *Legionella pneumophila*" (5). This standard describes a method to isolate and count the numbers of *Legionella spp* and *L. pneumophila* in water.

## LÉGIONELLE ET LÉGIONELLOSE EN NOUVELLE-CALÉDONIE, 2005-2010

### Introduction

**L**es légionelles sont des bactéries naturellement présentes dans l'eau et dans les boues, responsables d'une maladie respiratoire grave chez l'homme, potentiellement mortelle, la légionellose. Ces légionelles colonisent fréquemment les réseaux d'eau, notamment les réseaux d'eau chaude sanitaire ainsi que les tours aéroréfrigérantes. Plusieurs sérogroupes de *Legionella pneumophila* peuvent être responsables de légionellose chez l'homme : le séro groupe 1 est

responsable de 90 % des cas, les sérogroupes 2 à 15 se partageant les 10 % restants. Il existe d'autres espèces de *Legionella* potentiellement dangereuses, et la présence de *Legionella spp* est un indicateur de conditions optimales des réseaux à la multiplication de légionelles, y compris *L. pneumophila* (1).

**E**n Nouvelle-Calédonie, la Direction de l'industrie, des mines et de l'énergie de Nouvelle-Calédonie (Dimenc) assure le référencement et le suivi des structures possédant des tours aéroréfrigérantes (2) par l'intermédiaire des dossiers « Installations classées pour l'environnement » (ICPE). Quelques établissements publics et privés réalisent la surveillance des légionelles dans leurs installations d'eau chaude (3).

**L'**Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) est un laboratoire agréé (4) par la Nouvelle-Calédonie pour l'analyse des eaux, et le seul à réaliser la recherche et le sérotypage des légionelles. De nombreuses souches de légionelles ont été isolées de l'environnement par le Laboratoire d'hygiène, des aliments et de l'environnement (LHAE) de l'IPNC, mais aucun cas de légionellose n'avait jamais été décrit en Nouvelle-Calédonie jusqu'en juillet 2010, date à laquelle un cas a été diagnostiqué à Nouméa.

**D**ans cet article, nous présentons les résultats des analyses environnementales effectuées par le LHAE de l'IPNC entre janvier 2005 et décembre 2010, afin de sensibiliser les professionnels de santé sur la présence de légionelles dans l'environnement et donc sur le risque potentiel de légionellose dans la population calédonienne.

### Méthode

#### Recherche de Legionella dans l'environnement

**E**lle s'effectue selon la norme NFT 90-431 et son amendement 90-431/A1 « Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement de *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila* » (5). Cette norme décrit une méthode d'isolement et de dénombrement de *Legionella spp* et *L. pneumophila* dans les eaux.



Photo: IPNC



Title: *Legionella pneumophila*

Caption: *Legionella pneumophila* and its flagellum; this bacterium is responsible for a severe acute lung disease. The bacterium occurs in the environment, and the recent emergence of the disease it causes can be explained by its affinity for modern water supply systems, such as cooling towers. The image has been colour-enhanced.

Credit: Photography by electronic microscopy: Marie-Christine Prévost – Ultrastructural Microscopy Platform - PFMU, Imagopole / Carmen Buchrieser, Pathogenic Micro-organism Genomics  
 Authors: Carmen Buchrieser and Marie-Christine Prévost  
 Research Unit: Pathogenic Micro-organism Genomics  
 Date: 2004 – Copyright: Pasteur Institute



Titre : *Legionella pneumophila*

Légende : *Legionella pneumophila* et son flagelle, bactérie responsable de pneumopathie aiguë grave. Bactérie de l'environnement, l'émergence récente de cette maladie s'explique par son affinité pour les systèmes modernes d'alimentation en eau comme les tours de refroidissement. Image colorisée.

Crédit : Acquisition en microscopie électronique : Marie-Christine Prévost - Plateforme de microscopie ultrastructurale PFMU, Imagopole / Carmen Buchrieser, Génomique des microorganismes pathogènes  
 Auteurs : Carmen Buchrieser et Marie-Christine Prévost  
 Unité de recherche : Génomique des microorganismes pathogènes  
 Date de création : 2004 - Copyright : Institut Pasteur

**A**s this method uses a selective medium, it can be applied to all types of clean water such as water for human consumption, domestic hot water, natural mineral waters for thermal purposes, recreational water and also for dirty water such as industrial water or natural water.

**S**ampling is done by the LHAE or by clients themselves according to standard FD T90-522 "Water quality – Technical guide for sampling to screen for legionella in the water" (6).

There are six successive stages in the process to screen for legionella and *Legionella pneumophila* in water:

- ✓ directly seeding the sample on a selective medium and, at the same time, concentration by polycarbonate membrane filtration and ultrasound resuspension;
- ✓ decontaminating the concentrate obtained through heat or acid treatments, and for dirty water, by combining the two treatments;
- ✓ seeding the concentrate on a selective medium both before and after decontamination;
- ✓ incubation for 10 days at 36±2°C;
- ✓ subculturing typical colonies to screen for bacteria that require L-cysteine and to reveal legionellae;
- ✓ immunological detection of the specific *L. pneumophila* antigen in legionella colonies through the use of specific antibodies.

### Laboratory diagnosis in suspected patients

**A** rapid test is used to conduct first-line screening for the specific urinary antigen for *L. pneumophila* serogroup 1. Antigen excretion may begin as early as the third day after the appearance of symptoms and may persist for more than a year. The test's sensitivity and specificity are estimated to be 95%. When the urine test is positive, a biological sample such

**C**ette méthode faisant appel à un milieu sélectif peut être appliquée à tous les types d'eaux propres (eaux destinées à la consommation humaine, eaux chaudes sanitaires, eaux minérales naturelles à usage thermal, eaux récréatives...) et sales (eaux industrielles, eaux naturelles...).

**L**es prélèvements sont réalisés par le LHAE ou par les clients eux-mêmes selon la norme FD T90-522 « Qualité de l'eau - Guide technique de prélèvement pour la recherche de Legionella dans les eaux » (6).

**L**a recherche des Legionella et des Legionella pneumophila dans les eaux comportent six étapes successives :

- ✓ ensemencement direct de l'échantillon sur milieu sélectif, et en parallèle, après concentration par filtration sur membrane en polycarbonate et remise en suspension par ultrasons ;
- ✓ décontamination du concentrat obtenu par traitement thermique ou par traitement acide, et pour les eaux sales par association des deux traitements ;
- ✓ ensemencement du concentrat avant et après décontamination, sur milieu sélectif ;
- ✓ incubation pendant 10 jours à 36±2°C ;
- ✓ repiquage des colonies typiques pour la recherche de bactéries exigeantes en L-cystéine et la mise en évidence des Legionella ;
- ✓ détection immunologique de l'antigène spécifique de *L. pneumophila* à partir des colonies de Legionella à l'aide d'anticorps spécifiques.

### Diagnostic biologique chez les patients suspects

**L**a recherche d'antigène urinaire spécifique du sérotype 1 de *L. pneumophila* est pratiquée en première intention grâce à un test rapide. L'excrétion antigénique peut commencer dès le 3<sup>e</sup> jour après apparition des symptômes et peut persister plus d'un an. La sensibilité et la spécificité de ce test sont estimées à 95 %. Lorsque le test urinaire est positif, un prélèvement biologique (tel que



as sputum or expectoration is collected and cultured on BCYE agar with L-cysteine. Apparently typical colonies are identified through differential seeding and latex agglutination.

crachat, expectoration...) est réalisé, et une culture est effectuée sur gélose BCYE avec L-cystéine. L'identification d'éventuelles colonies d'aspect typique est réalisée par ensemencements différentiels et agglutination au latex.

**Results**

**Résultats**

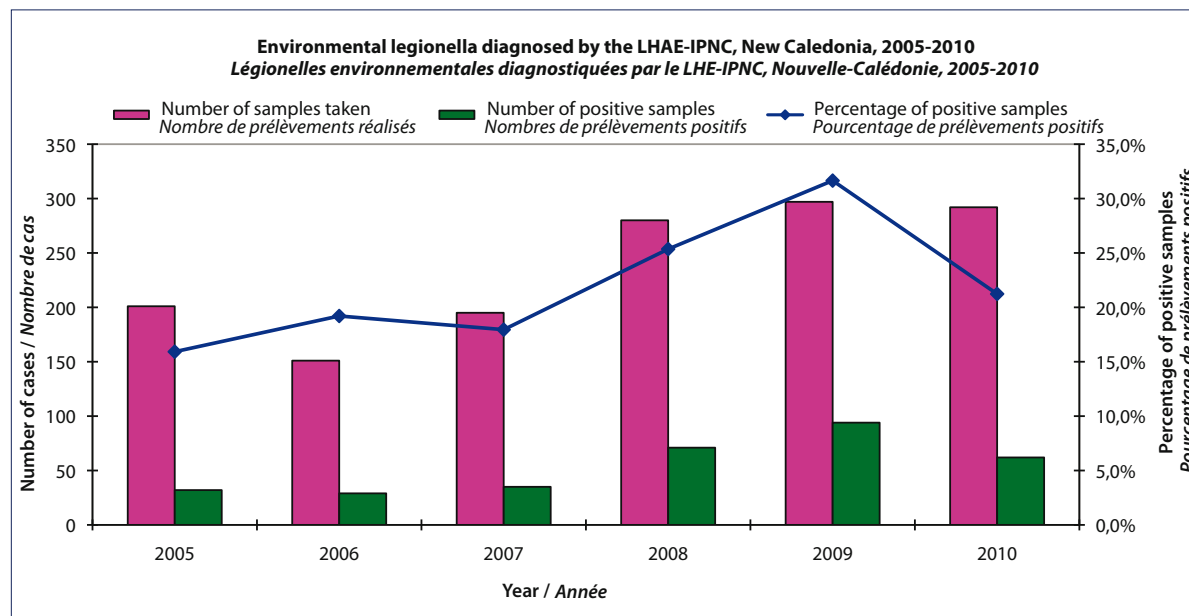
**Environmental testing**

**Analyses environnementales**

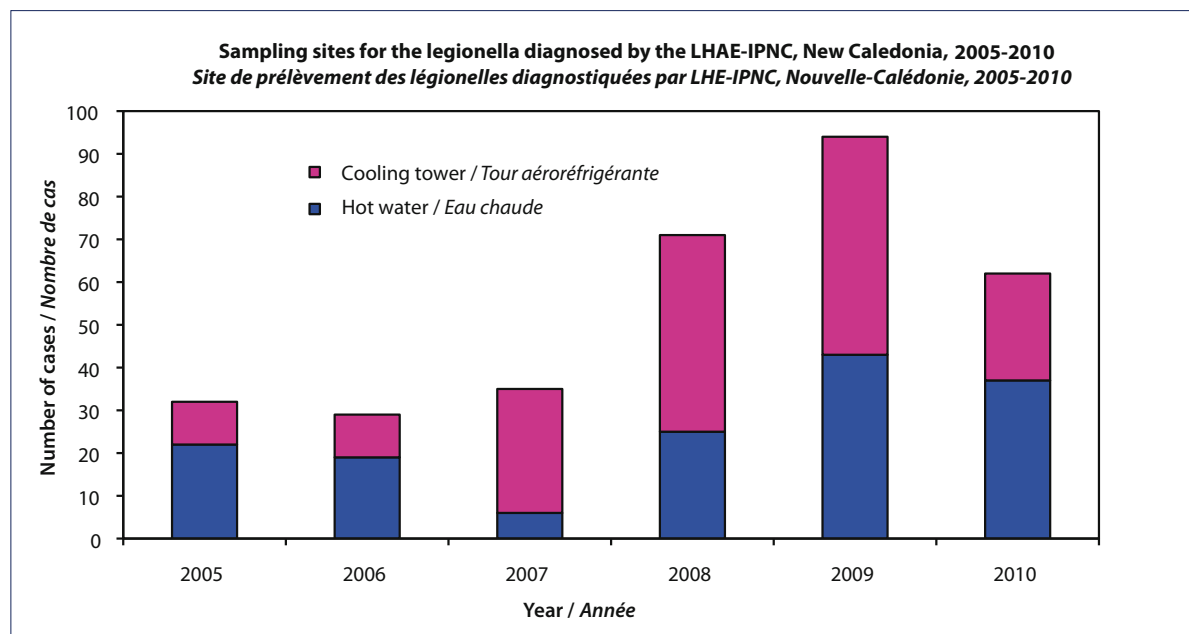
Basically two categories of water are tested, i.e. water from cooling towers and domestic hot water. Between 2005 and 2010 the LHAE carried out a total of 1416 tests. Of those, 323 (22.8 %) were positive for legionella. The changes over time in the frequency at which legionella was detected by the LHAE over the past five years of testing is given in Figures 1 and 2.

Les eaux que nous analysons sont essentiellement réparties en 2 catégories : les eaux de tours aéroréfrigérantes et les eaux chaudes sanitaires. Au total, entre 2005 et 2010, 1 416 analyses ont été réalisées au LHAE. Parmi ces analyses, 323 (22,8 %) étaient positives pour la recherche de légionelles. L'évolution dans le temps du nombre de cas de légionelles détectés par le LHAE sur les 5 années analysées est présentée dans les figures 1 et 2.

**Figure 1**



**Figure 2**



Numerous serogroups were found in the positive samples but with a high prevalence of *L. pneumophila* serogroup 1. The trends and distribution of serogroups are shown in Figures 3 and 4.

De nombreux sérogroupes sont retrouvés dans les échantillons positifs, mais avec cependant une prévalence plus élevée pour *L. pneumophila* séro-groupe 1. L'évolution et la répartition des sérogroupes sont représentées dans les figures 3 et 4.

Figure 3

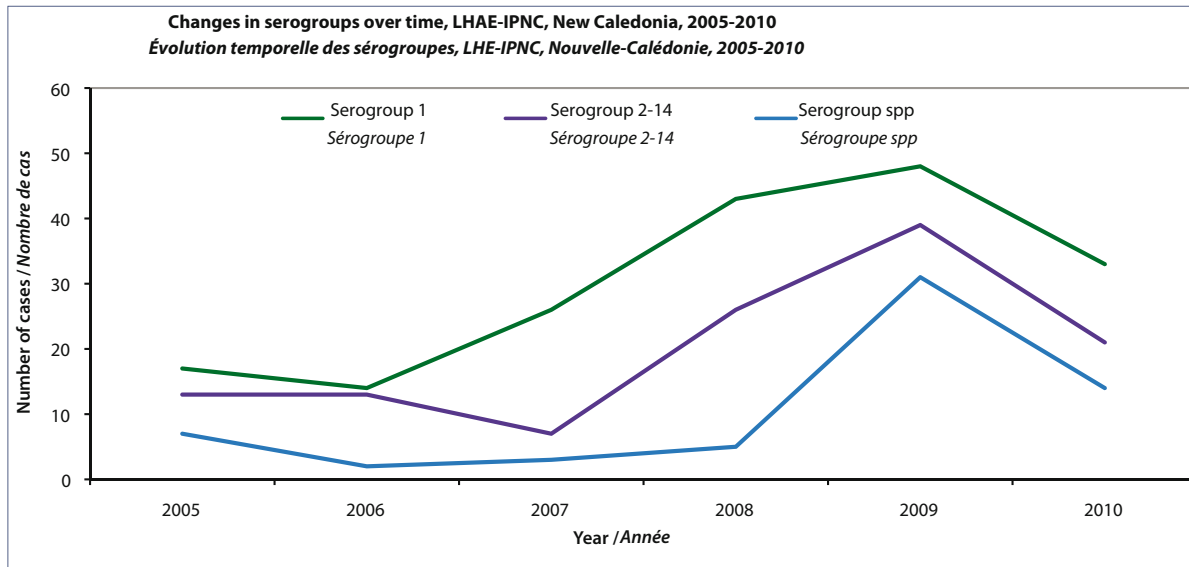
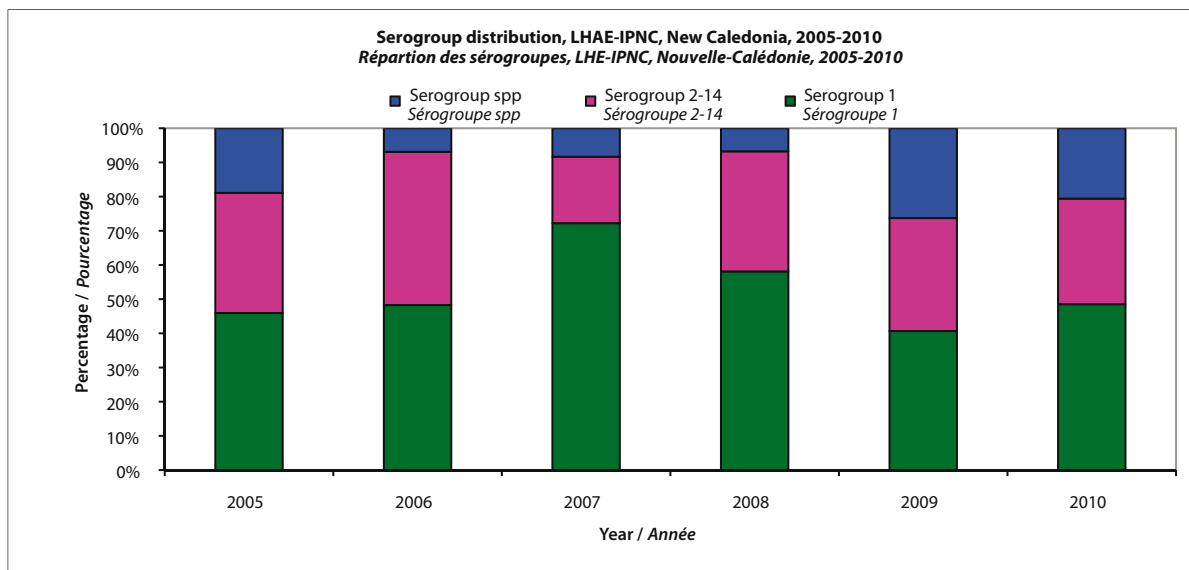


Figure 4



Laboratory testing of the urine of suspected patients

Each year the IPNC’s Medical Bacteriology Laboratory receives a large number of requests for tests to detect legionella urinary antigen, i.e. 114 in 2008, 85 in 2009 and 191 in 2010. The first positive human case was diagnosed by the IPNC in July 2010 and reported to the DASS-NC (New Caledonia Health Department).

Analyses biologiques dans les urines de patients suspects

Chaque année, de nombreux tests de détection d’antigènes urinaires de légionelles sont demandés au laboratoire de bactériologie médicale de l’IPNC, 114 en 2008, 85 en 2009 et 191 en 2010. Le premier cas positif humain a été diagnostiqué par l’IPNC en juillet 2010 et déclaré à la DASS-NC.



## Discussion

The increase in testing over the past five years can be explained by an increase in the number of new companies which have cooling towers and are being monitored by DIMENC. The positivity rate also increased up until 2009, the year corresponding to the creation of these new companies. During the initial years of this testing, we mainly tested hot water and then an increasing number of facilities with cooling towers called on the LHAE's services as they spread out over the Territory, which explains the variations in the percentage of positive results depending on the year.

So a large number of environmental samples do contain *Legionella* but up until July 2010 no human cases had ever been detected. This type of bacteria is firmly implanted in the Territory. Our hot and humid climate is very favourable for its development. This has also proven to be the case in other Pacific Island countries. The LHAE conducts environmental research for Vanuatu and Wallis and Futuna, where *Legionella* has already been detected. Many cases of legionellosis have been reported in New Zealand (7) and Australia (8). We now know that the population of New Caledonia is exposed to legionellosis and so it is important to direct the attention of physicians and people at risk, e.g. immunodepressed individuals, diabetics, people with liver disease, smokers, alcoholics, to this disease, its symptoms, diagnosis and ways to prevent it.

In fact, at home, a few simple gestures make it possible to avoid contamination, e.g. let the water flow freely from the very hot or very cold side with a tap that has not been used for some time; make sure that domestic hot water production and distribution equipment (storage tanks, water system, shower heads, faucets) are properly maintained; set the hot water temperature to 60 °C; flush out water hoses.

Industrial facilities with cooling towers must also be very vigilant in maintaining and monitoring such equipment.

The disease mainly affects the respiratory tract with severe and increasing pulmonary disease together with a large range of non-pulmonary symptoms, e.g. deterioration in overall health, discomfort, headaches, fever and shivering, coughing, shortness of breath, coughing blood, chest pain, neurological symptoms, muscle pain, gastrointestinal problems. When these symptoms appear, especially in people at risk, legionellosis must be considered during differential diagnosis of pulmonary disorders in New Caledonia.

## Acknowledgements

We would like to acknowledge Sylvie Couston, Sylvie Le Bihan and Delphine Ripert, technicians at the New Caledonia Pasteur Institute's Hygiene, Food and Environmental Laboratory, along with the technicians at the IPNC's Bacteriology Lab, as well as the Government of New Caledonia for the annual grant to IPNC.

## Discussion

L'augmentation du nombre d'analyses sur ces cinq dernières années s'explique par une augmentation du nombre de nouvelles sociétés ayant des tours aéroréfrigérantes et leur meilleur suivi par la Dimenc. Le taux de positivité a également augmenté jusqu'en 2009, année correspondant à la création de ces nouvelles sociétés. Dans les premières années de ces analyses, nous testions essentiellement des eaux chaudes, puis de plus en plus de structures ayant des tours aéroréfrigérantes ont fait appel aux services du LHAE et se sont développées sur le territoire, expliquant les variations des proportions de positifs en fonction des années.

De nombreux échantillons environnementaux sont donc porteurs de légionelles, mais jusqu'en juillet 2010 aucun cas humain n'avait été détecté. Cette bactérie est donc bien implantée sur le territoire. Notre climat chaud et humide est très propice à son développement. Ceci est également vérifié dans d'autres pays du Pacifique. Le LHAE réalise les recherches environnementales pour Vanuatu et Wallis-et-Futuna où des légionelles ont déjà été détectées. De nombreux cas de légionellose sont décrits en Nouvelle-Zélande (7) et en Australie (8). Nous savons maintenant que la population de Nouvelle-Calédonie est exposée à la légionellose, et il est donc important d'attirer l'attention des médecins et des personnes à risques (immunodéprimés, diabétiques, hépatiques, tabagiques, alcooliques...) sur cette maladie, ses symptômes, le diagnostic et les moyens de prévention.

En effet, à son domicile, quelques gestes simples permettent d'éviter une contamination : laisser couler l'eau, du côté très chaud ou très froid, d'un robinet longtemps inutilisé ; veiller à ce que les installations de production et de distribution d'eau chaude sanitaire (ballons de stockage, réseaux d'eau, pommeaux de douche, robinets...) soient bien entretenues, régler son chauffe-eau à une température de 60 °C, purger les tuyaux d'arrosage...

Les industriels possédant des tours aéroréfrigérantes doivent également être très vigilants dans l'entretien et le suivi de leurs tours.

La maladie se manifeste principalement au niveau respiratoire, par une pneumopathie sévère et progressive accompagnée de nombreux symptômes extra-pulmonaires : altération de l'état général, malaises, céphalées, fièvre et frissons, toux, dyspnée, hémoptysies, douleurs thoraciques, manifestations neurologiques, myalgies, troubles digestifs. Devant ce tableau clinique, essentiellement chez des personnes à risques, la légionellose doit être évoquée dans le diagnostic différentiel des pneumopathies, en Nouvelle-Calédonie.

## Remerciements

Aux techniciennes, Sylvie Couston, Sylvie Le Bihan et Delphine Ripert du Laboratoire d'hygiène, des aliments et de l'environnement et aux techniciens du laboratoire de bactériologie de l'IPNC, ainsi qu'au gouvernement de Nouvelle-Calédonie pour la subvention annuelle à l'IPNC.



## Surveillance & Response

**Florence Urbès**

Hygiene, Food and Environmental Laboratory

**Régis Goursaud**

Medical Bacteriology Laboratory

**Éric D'Ortenzio**

Infectious Disease Epidemiology Unit

New Caledonia Pasteur Institute

Email: [edortenzio@pasteur.nc](mailto:edortenzio@pasteur.nc)

**Florence Urbès**

Laboratoire d'hygiène, des aliments et de l'environnement

**Régis Goursaud**

Laboratoire de bactériologie médicale

**Éric D'Ortenzio**

Unité d'épidémiologie des maladies infectieuses

Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

Courriel : [edortenzio@pasteur.nc](mailto:edortenzio@pasteur.nc)

## Bibliography

- (1) Che D, et al. Légionelles et légionellose: qu'a-t-on découvert depuis 30 ans ? *Pathol Biol (Paris)* (2009), doi: 10.1016/j.patbio.2009.04.005.
- (2) Arrêté du 13/12/04 relatif aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air soumises à autorisation au titre de la rubrique n°2921.
- (3) Arrêté du 01/02/10 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire.
- (4) Arrêté n°79-153 /SGCG du 3 avril 1979 portant définition des normes de potabilité des eaux de boisson et des eaux entrant dans la composition des produits destinés à la consommation. *Journal officiel de la Nouvelle-Calédonie* du 6 avril 1979.
- (5) Norme AFNOR NF T90-431 Septembre 2003 - Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement de *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila*. Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation. Plus son amendement NF T90-431/A1 Avril 2006.
- (6) Norme AFNOR FD T90-522 « Qualité de l'eau - Guide technique de prélèvement pour la recherche de *Legionella* dans les eaux. Juillet 2006.
- (7) Amodeo MR, Murdoch DR, Pithie AD. Legionnaires' disease caused by *Legionella longbeachae* and *Legionella pneumophila*: comparison of clinical features, host-related risk factors, and outcomes. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Sep;16(9):1405-7.
- (8) Blyth CC, Adams DN, Chen SC. Diagnostic and typing methods for investigating *Legionella* infection. *N S W Public Health Bull.* 2009 Sep-Oct;20(9-10):157-61.

## Bibliographie

- (1) Che D, et al. Légionelles et légionellose : qu'a-t-on découvert depuis 30 ans ? *Pathol Biol (Paris)* (2009), doi : 10.1016/j.patbio.2009.04.005.
- (2) Arrêté du 13/12/04 relatif aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air soumises à autorisation au titre de la rubrique n°2921.
- (3) Arrêté du 01/02/10 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire.
- (4) Arrêté n°79-153 /SGCG du 3 avril 1979 portant définition des normes de potabilité des eaux de boisson et des eaux entrant dans la composition des produits destinés à la consommation. *Journal officiel de la Nouvelle-Calédonie* du 6 avril 1979.
- (5) Norme AFNOR NF T90-431 Septembre 2003 - Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement de *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila*. Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation. Plus son amendement NF T90-431/A1 Avril 2006.
- (6) Norme AFNOR FD T90-522 « Qualité de l'eau - Guide technique de prélèvement pour la recherche de *Legionella* dans les eaux. Juillet 2006.
- (7) Amodeo MR, Murdoch DR, Pithie AD. Legionnaires' disease caused by *Legionella longbeachae* and *Legionella pneumophila*: comparison of clinical features, host-related risk factors, and outcomes. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Sep;16(9):1405-7.
- (8) Blyth CC, Adams DN, Chen SC. Diagnostic and typing methods for investigating *Legionella* infection. *N S W Public Health Bull.* 2009 Sep-Oct;20(9-10):157-61.