



Legionella pneumophila: epidemiologia e controllo in Sanità Pubblica



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DEL MOLISE
CATTEDRA DI IGIENE

Giancarlo Ripabelli

La prevenzione impiantistica della Legionella

Auditorium Consorzio per lo Sviluppo Industriale della Valle del Biferno



Termoli, 10 novembre 2010



PATOGENI RESPONSABILI DI INFEZIONI DEL TRATTO RESPIRATORIO

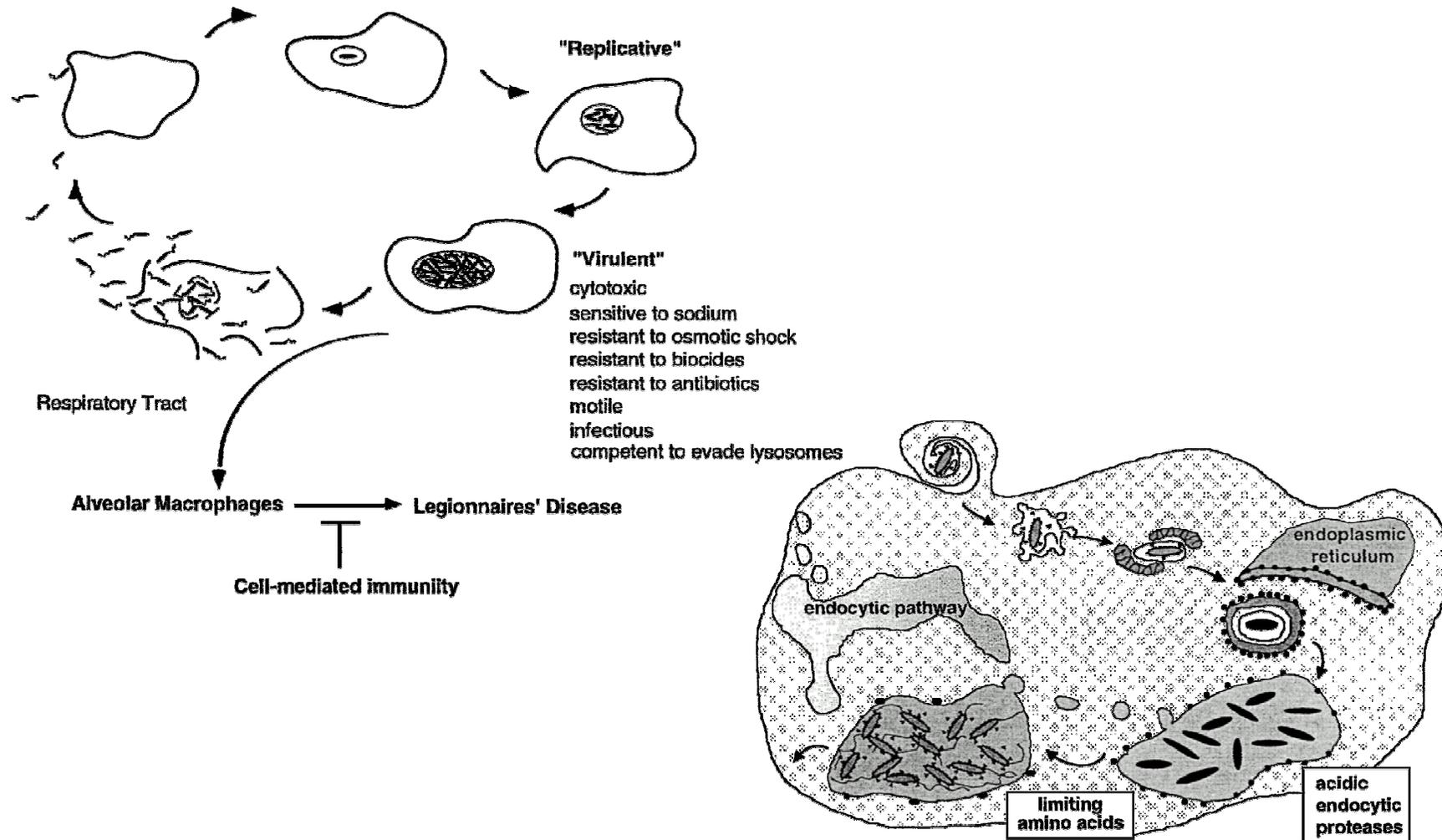
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Moraxella catarrhalis*

- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydophyla pneumoniae*
- *Legionella pneumophila*

- *S.aureus*
- *B.pertussis*
- Gram-negativi / anaerobi

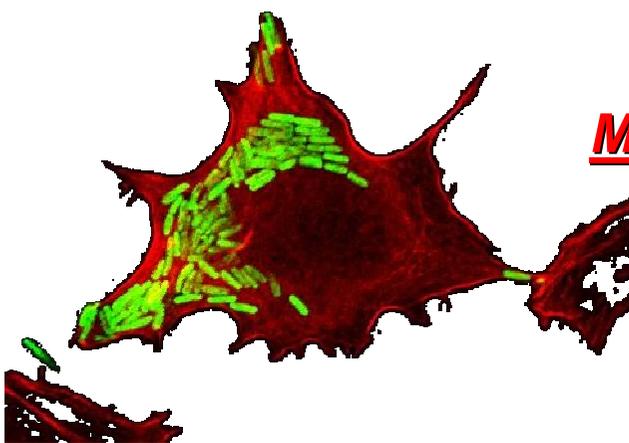
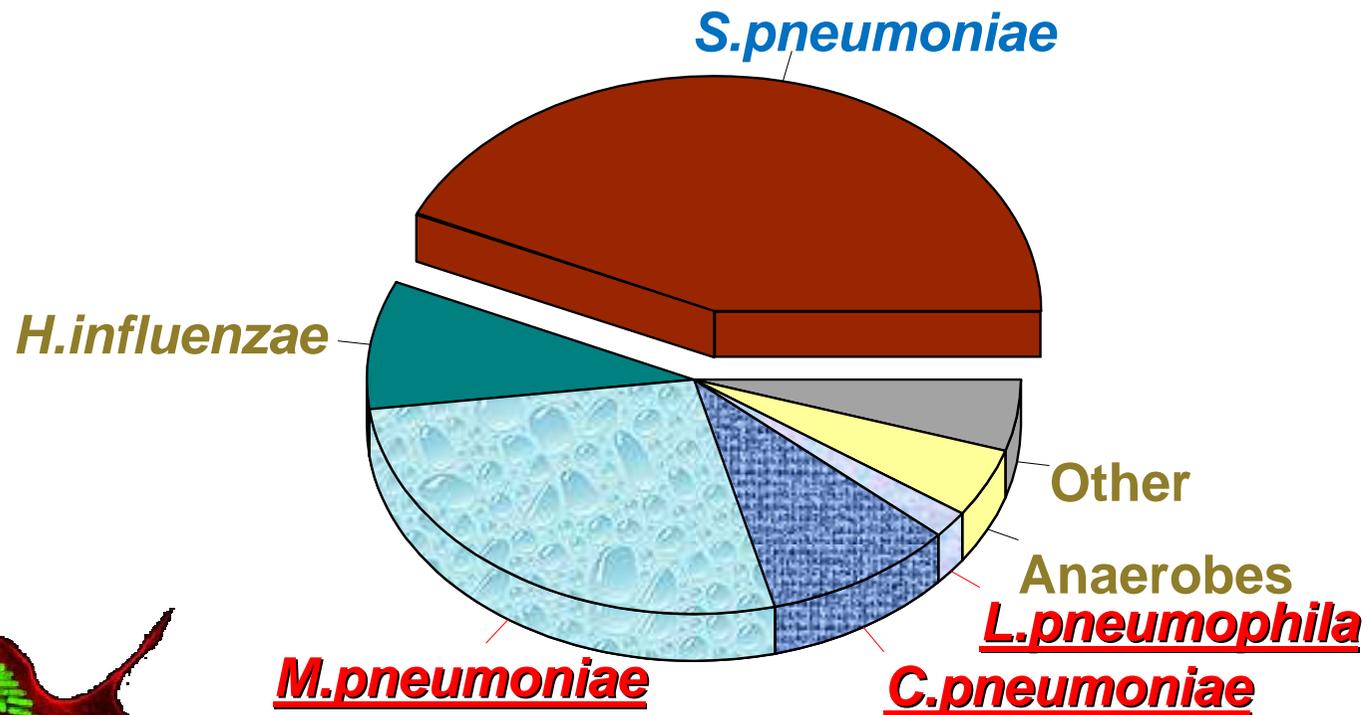


Legionella pneumophila: CICLO



Swanson and Hammer. Legionella pneumophila pathogenesis: a fateful journey from amoebae to macrophages. Annu Rev Microbiol. 2000;54:567-613

COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA



Legionella spp.

- **56 specie del genere *Legionella***
 - oltre 70 sierogruppi

- ***L. pneumophila* sierogruppo 1**
maggiormente implicata nella patologia umana
 - responsabile di oltre il 90% dei casi di infezioni
 - altri sierogruppi implicati: 6, 2, e 3



DEFINIZIONI DELLE PATOLOGIE

❑ LEGIONELLOSI

- sindrome clinica provocata da membri della famiglia delle Legionellaceae

❑ MALATTIA DEL LEGIONARIO

- polmonite causata da *L. pneumophila*

❑ FEBBRE DI PONTIAC

- malattia febbrile acuta senza polmonite



MANIFESTAZIONI CLINICHE

□ **Persone in buone condizioni di salute raramente sviluppano la patologia**



□ **Sintomatologia prevalente in:**

- **pazienti immunocompromessi**
 - cause endogene o iatrogene
- **forti fumatori con problemi respiratori**

FATTORI DI RISCHIO

MALATTIE DI BASE

età avanzata

- broncopneumopatia cronica ostruttiva

presenza di Legionella in più del 30% dei campioni d'acqua analizzati o di concentrazioni di Legionella $> 10^3/L$ in una determinata struttura

- Immunosoppressione endogena o iatrogena:
- trapianto d'organo
- terapia corticosteroida
- etc.

alcolismo

- neoplasie e interventi chirurgici ORL

tabagismo

- insufficienza renale terminale

sonda nasogastrica, alimentazione con sondino

- insufficienza cardiaca

inalazione di acqua non sterile

- diabete

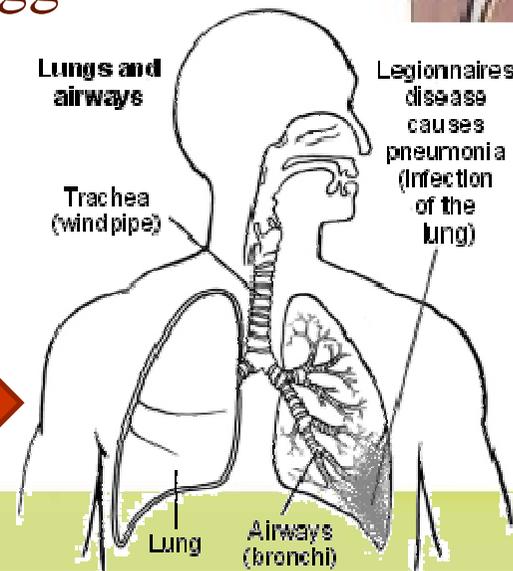
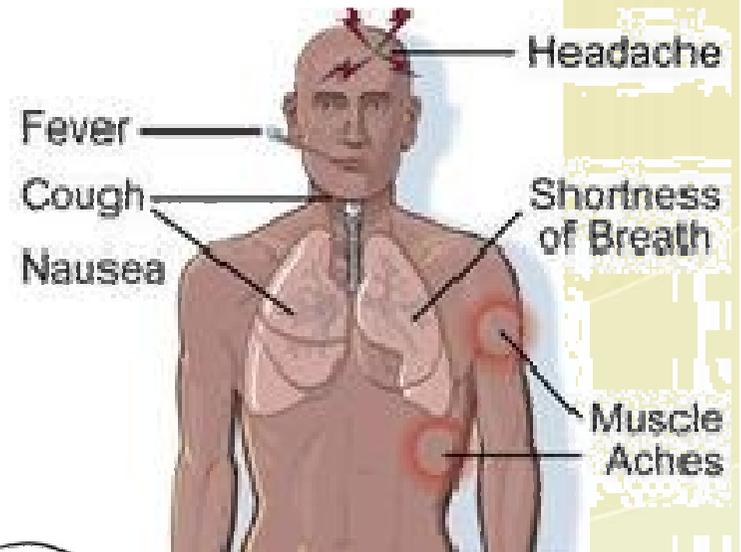
Sesso maschile

presenza di torri di raffreddamento degli impianti di condizionamento nell'area circostante

MANIFESTAZIONI CLINICHE

MALATTIA DEL LEGIONARIO

- patologia grave
- elevato tasso di letalità
 - soprattutto se non trattata
- mortalità del 15-20%
- periodo di incubazione: 2-10 gg
- **Alto rischio per:**
immunodepressi per cause endogene o iatrogene)
- **Segni e sintomi** 



MODALITA' DI TRASMISSIONE

FONTE

Inalazione di aerosol

- contaminazione dell'impianto idrico
- torri di raffreddamento degli impianti di condizionamento
- umidificazione centralizzata degli impianti
- apparecchi per aerosol e ossigenoterapia

Aspirazione

- sonda nasogastrica
- colonizzazione dell'orofaringe

Respirazione assistita

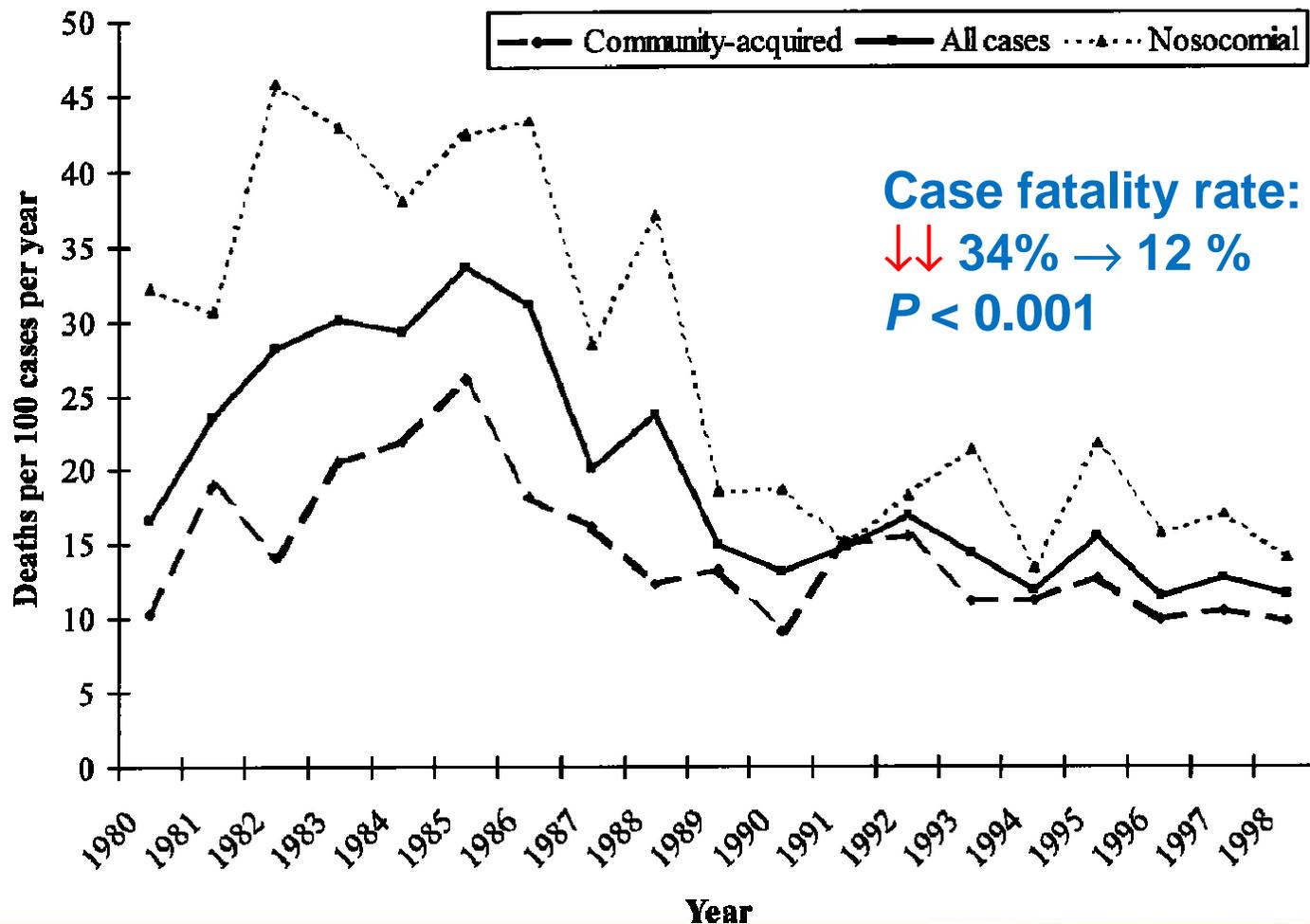
- contaminazione delle apparecchiature per la respirazione assistita

POLMONITI DA LEGIONELLE

- ❑ **Diversa mortalità, diverso approccio terapeutico per le polmoniti comunitarie**
- ❑ **E' opportuno poter disporre di:**
 - **Diagnosi rapida**
 - **Linee guida per la terapia delle CAP e HAP con un farmaco attivo contro i batteri intracellulari**
 - Eritromicina
 - Nuovi macrolidi: azitromicina o claritromicina
 - Nuovi fluorochinolonici: levofloxacin
 - Rifampicina

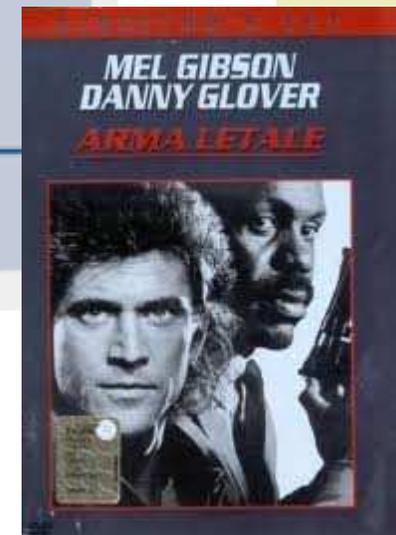


Case-fatality rate for CA and HA legionnaires disease



LEGIONELLOSI: LETALITÀ 2009

Letalità	%
Casi comunitari	12
Casi nosocomiali	34
Totale	14



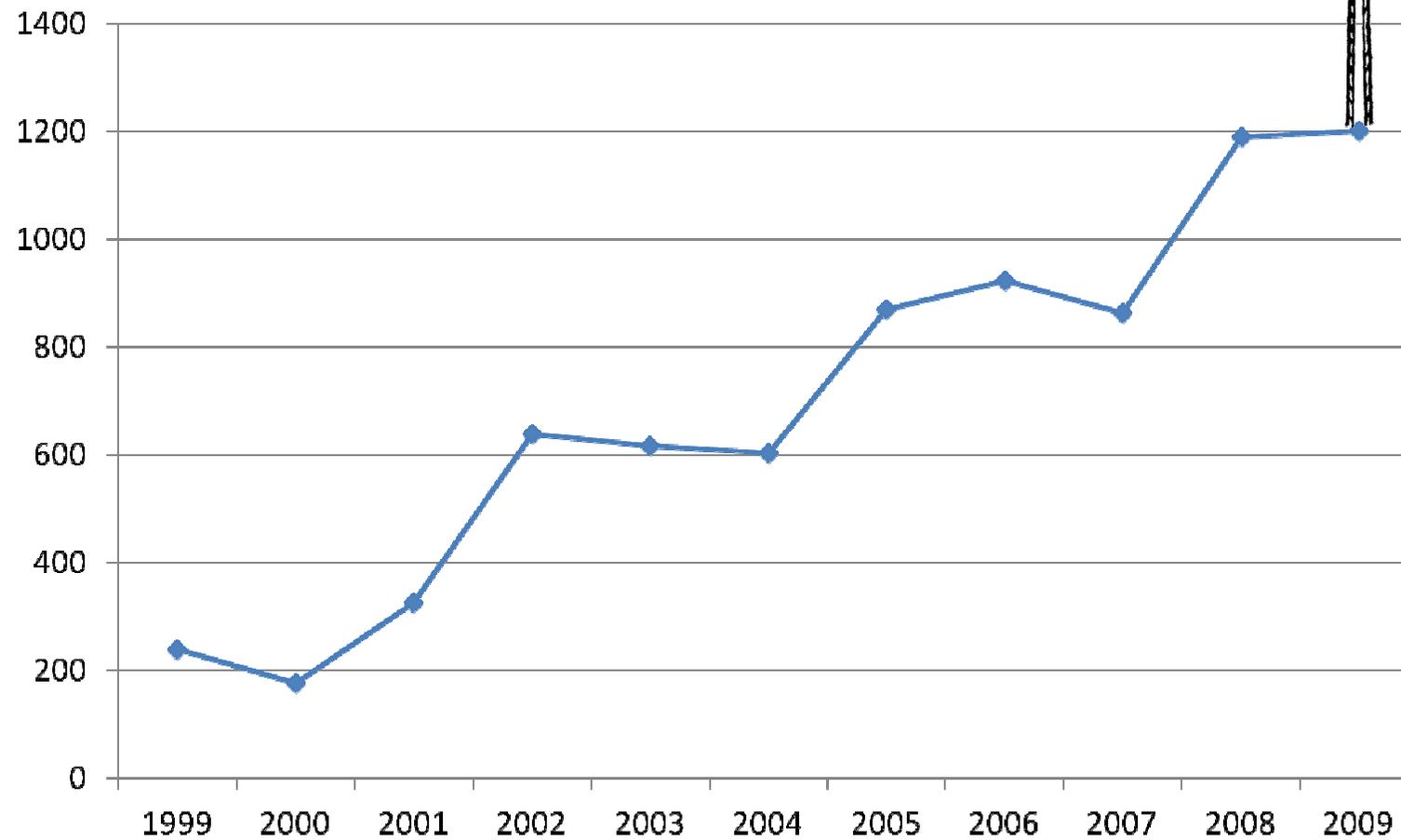
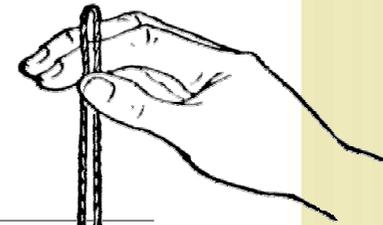
MANIFESTAZIONI CLINICHE

FEBBRE DI PONTIAC

- *Legionella pneumophila*
- *L. feeleii*, *L. anisa* e *L. micdadei*
- malattia acuta autolimitante
- durata: 2-5 gg
- periodo di incubazione: 24-48 h
- tasso di attacco degli esposti: > 90%
- sintomatologia simil-influenzale senza polmonite



Legionellosi – Italia TREND 1999-2009



REGISTRO NAZIONALE DEI CASI DI LEGIONELLOSI 2009

- Nel 2009, 1.200 schede di sorveglianza relative ad altrettanti casi di legionellosi
 - 1.146 confermati e 54 presunti
 - l'80% dei casi notificato da 6 Regioni (Lombardia, Piemonte, Veneto, Emilia-Romagna, Toscana, Lazio)

- Incidenza della legionellosi pari a **20 casi per milione di popolazione**
 - un picco di incidenza nel mese di settembre



EPIDEMIOLOGIA

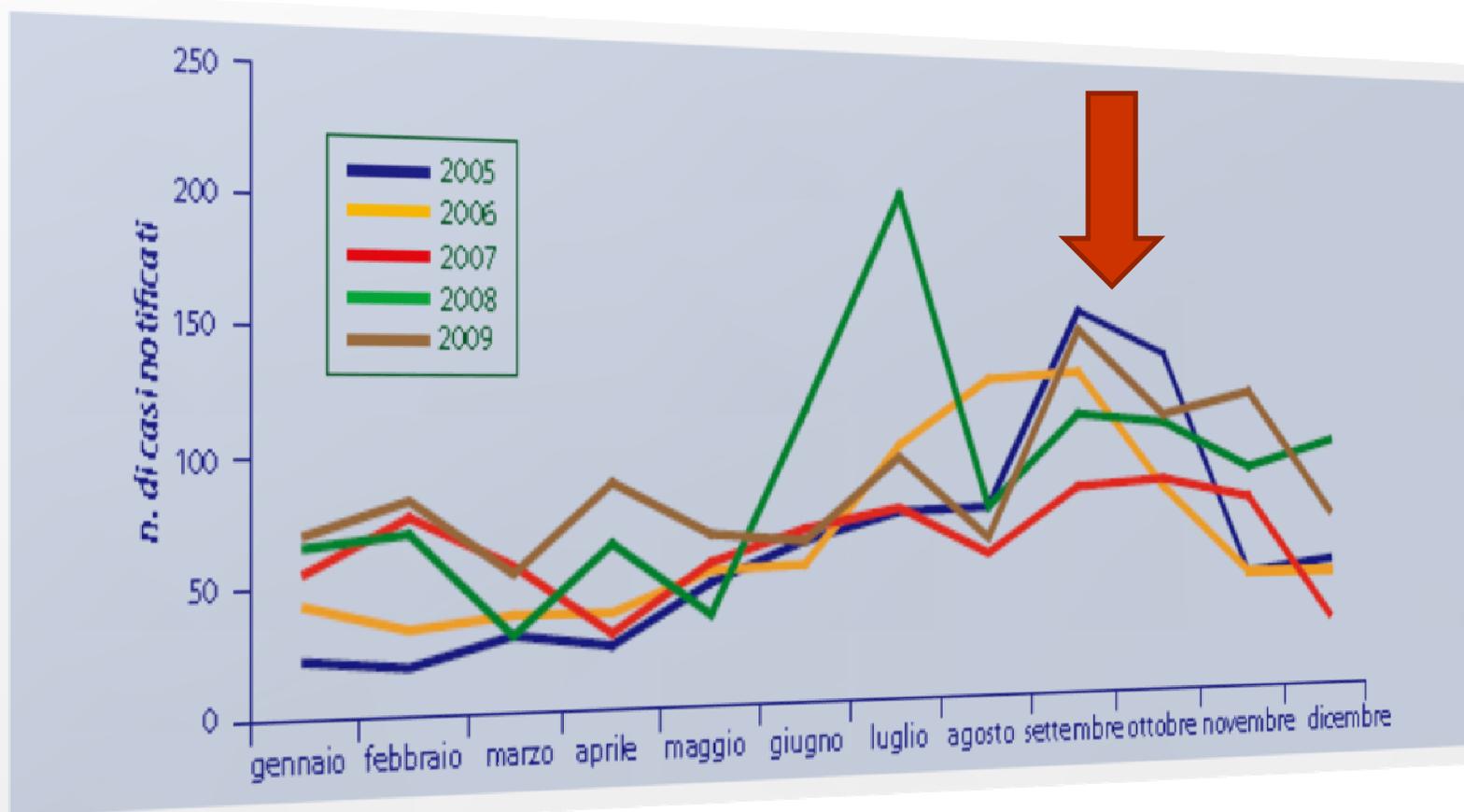
Incidenza

□ **STAGIONALITÀ DELL'INFEZIONE**

- infezioni sporadiche durante tutto l'anno
- epidemie soprattutto in estate inoltrata e autunno

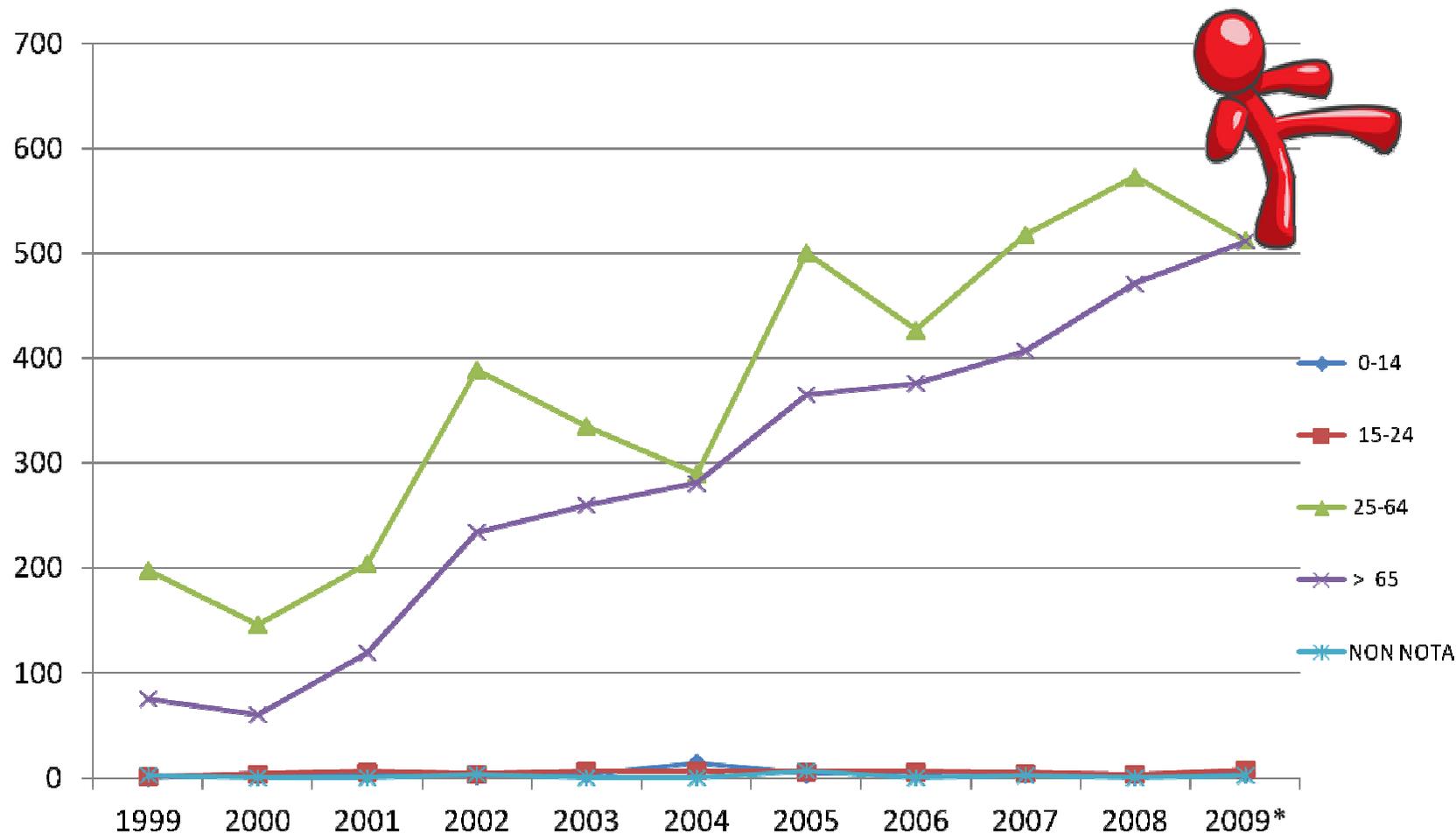


CASI DI LEGIONELLOSI NOTIFICATI IN ITALIA PER MESE DI INIZIO DEI SINTOMI NEL QUINQUENNIO 2005-2009



Legionellosi - Italia

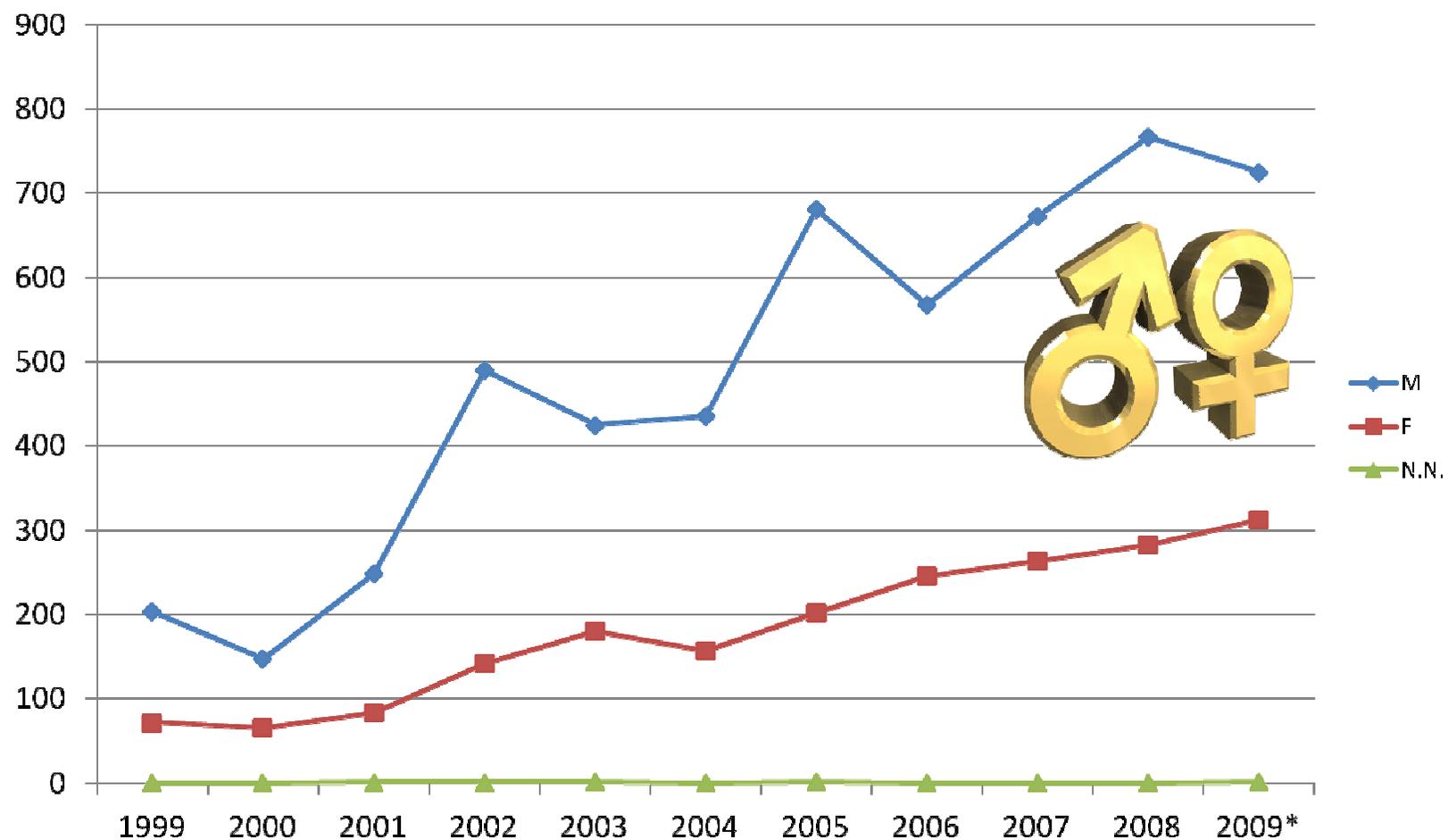
TREND 1999-2009* PER FASCE D'ETÀ



Fonte: Ministero della Salute

Legionellosi – Italia

TREND 1999-2009* PER SESSO



Fonte: Ministero della Salute

REGISTRO NAZIONALE DEI CASI DI LEGIONELLOSI 2009

□ Età media dei pazienti: 64 anni

- l'80% dei casi ha superato i 50 anni

□ Il 69% dei casi è di sesso maschile

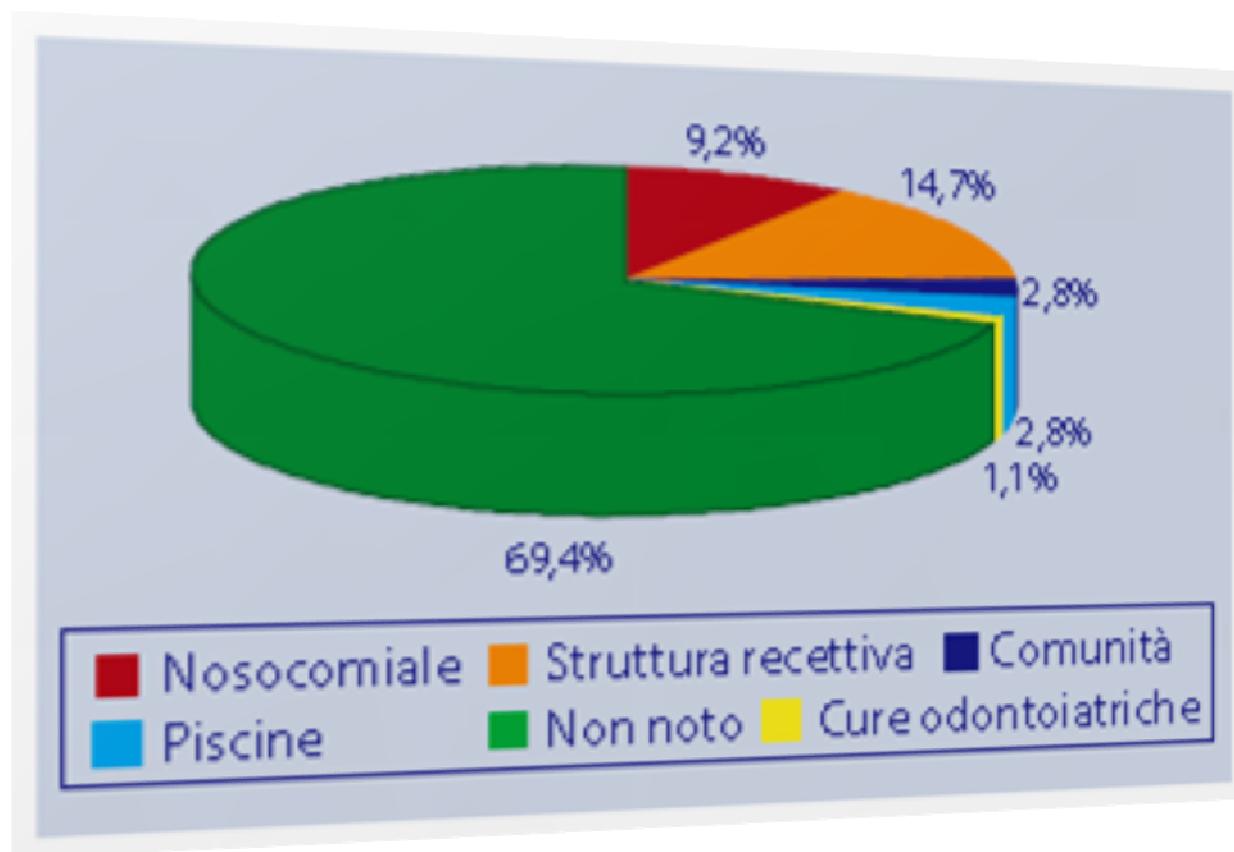
- rapporto maschi/femmine 2,2:1

□ Il 54% dei pazienti affetti presentava altre patologie concomitanti

- 76% di tipo cronico-degenerativo
- 14% di tipo neoplastico
- 4% di tipo infettivo



DISTRIBUZIONE PERCENTUALE DEI CASI NOTIFICATI IN ITALIA NEL 2009 PER POTENZIALE ESPOSIZIONE ALL'INFEZIONE



DIAGNOSI DI LABORATORIO

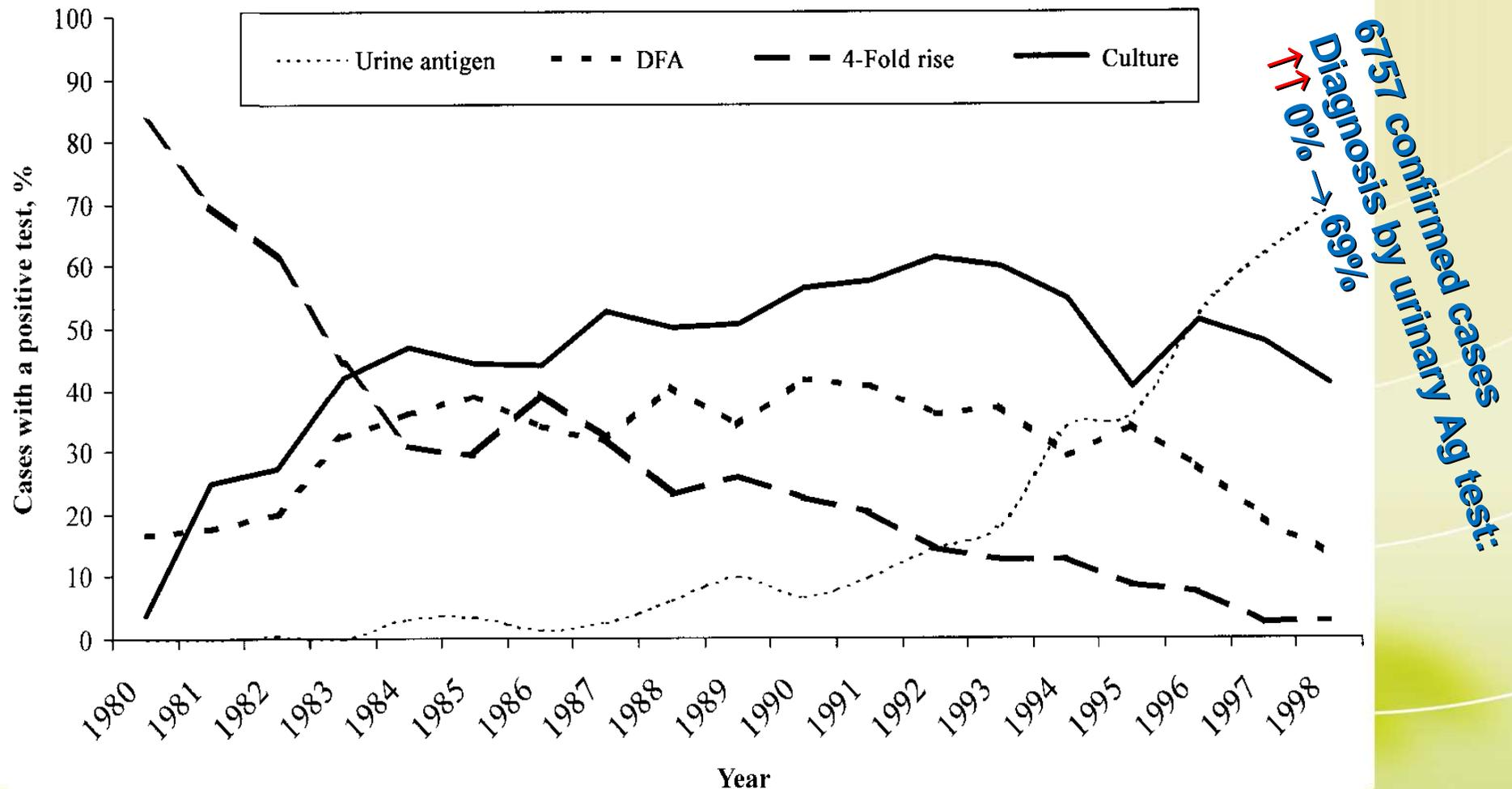
- ❑ Non è possibile distinguere pazienti affetti da malattia del legionario da altre forme di polmonite attraverso esami clinici o radiologici
 - la conferma di laboratorio è essenziale per la diagnosi
- ❑ Anche se i metodi diagnostici sono notevolmente migliorati, nessun test disponibile è in grado di diagnosticare infezioni da *Legionella* con un ottimale grado di sensibilità e specificità
 - la sensibilità è la capacità di identificare correttamente gli individui ammalati
 - la specificità è la capacità di identificare correttamente gli individui sani



METODI DIAGNOSTICI	SPECIFICITA' (%)	SENSIBILITA' (%)	TEMPI DI ANALISI
Coltura espettorato	99,8-100	80	3-7 giorni
Coltura aspirato tracheale	100	90	"
Coltura sangue	100	20	"
Antigene urinario	95-99	80-95	< 3 ore
Sierologia: aumento titolo	96-99	70-80	3-10 settim.
Sierologia: titolo unico	50-80	70-80	"
Immunofluorescenza (DFA)	96-99	25-75	< 4 ore
PCR campioni respir. e BAL	>90	80-100	< 4 ore
PCR siero	>90	30-50	"
PCR urine	>90	46-86	"

Diagnostic testing for *Legionella* by type of test

DFA, direct fluorescent antibody; 4-Fold rise, 4-fold increase in antibody titer



CASI DI LEGIONELLOSI IN ITALIA PER METODO DI DIAGNOSI 2009

METODO DIAGNOSTICO	N° DI CASI	%
Isolamento	22	1.8
Antigene urinario	1117	93.1
Sierologia:	57	4.8
sieroconversione	7	4.2
singolo titolo elevato	50	0.6
Immunofluorescenza diretta	2	0.2
PCR	2	0.2
TOTALE	1200	100

DIAGNOSI DI LABORATORIO

❑ ESAME AL MICROSCOPIO

- ❑ piuttosto difficile per:
 - colorazione difficile
 - natura intracellulare del patogeno
 - è necessaria un'elevata carica microbica per la determinazione del patogeno



❑ DFA - DIRECT FLUORESCENT ANTIBODY

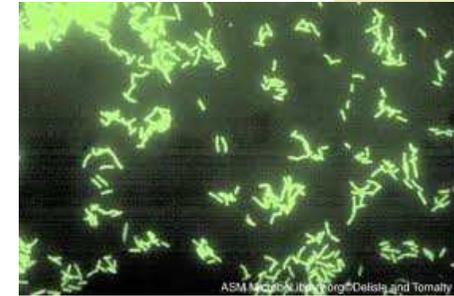
- ❑ test migliore in quanto:
 - molto specifico
 - falsi positivi raramente osservati con *Pseudomonas*, *Bacteroides* e altri microrganismi

DIAGNOSI DI LABORATORIO

□ MICROSCOPIA A FLUORESCENZA

▪ DFA (Direct fluorescent antibody) stain

- metodo rapido per l'identificazione di *Legionella* spp. nelle escrezioni respiratorie e in campioni tissutali



□ Svantaggi

- meno sensibile della coltura
- richiede un'elevata carica microbica (possibile solo in caso di grave polmonite)
- falsi positivi per cross-reazioni con altri batteri e lieviti

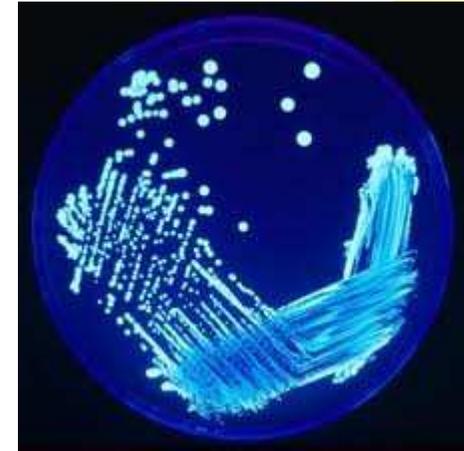
DIAGNOSI DI LABORATORIO

□ COLTURA

- metodo Gold Standard per la diagnosi
- elevata specificità

□ BUFFERED CHARCOAL YEAST EXTRACT (BCYE) AGAR

- selettivo e differenziale
- crescita molto lenta (3-5 gg)
- visualizzazione macroscopica di piccole colonie con una superficie vitrea



DIAGNOSI DI LABORATORIO

□ **SIEROLOGIA** (IFA, ELISA)

- saggi molto utili in studi epidemiologici
- metodo per definire la presenza di pregresse infezioni
- problemi di una frequente ritardata sierconversione

■ **IFA (Indirect Fluorescent Antibody) test**

- validato per *L.pneumophila* e *L.longbeachae*
- incremento di almeno 4 volte del titolo anticorpale
- cut-off $\geq 1:128$ rileva un'infezione pregressa o recente
- un titolo singolo $\geq 1:512$ indica infezione pregressa o in rare occasioni infezioni con altre specie
- la sierconversione è rilevata in 3-4 settimane e ritardata anche fino a 10 settimane



DIAGNOSI DI LABORATORIO

□ DETERMINAZIONE DELL'ANTIGENE URINARIO

- componente della parete cellulare di *L.pneumophila*
- l'antigenuria può essere determinata molto presto o in 1 giorno dall'inizio dei sintomi e può persistere per mesi rispetto alla terapia
- l'escrezione nelle urine può verificarsi per più di un anno

□ EIA (Enzyme Immuno Assay)

□ Immunochromogenic test (ICT)

- eccellenti caratteristiche di sensibilità e specificità per *L.pneumophila* sierogruppo 1



DIAGNOSI DI LABORATORIO

❑ *Legionella* Urinary Antigen EIA (Binax, Inverness Medical)

- sensibilità 70-90% e specificità intorno al 100% per *L.pneumophila* sierogruppo 1
- risultati nell'arco di 3 ore

❑ ICT membrane assay - **NOW** *Legionella* Urinary Antigen Test (Binax, Inverness Medical)

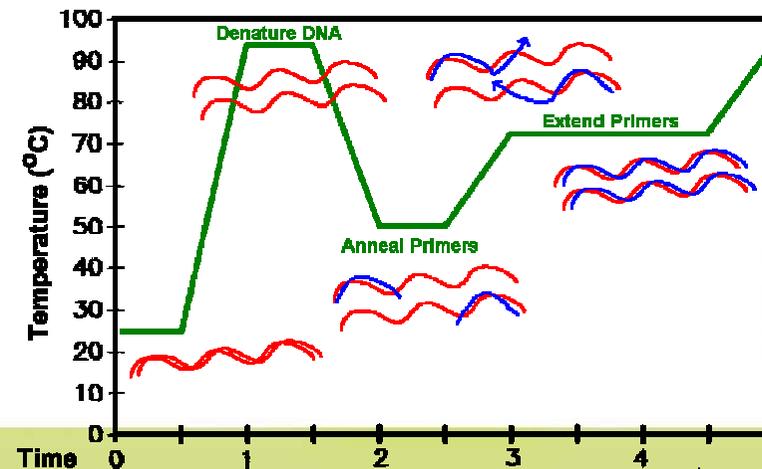
- rapido e con sensibilità e specificità simili al test EIA
- associazione tra severità del quadro clinico e sensibilità del test
- risultati in 15 minuti



DIAGNOSI DI LABORATORIO

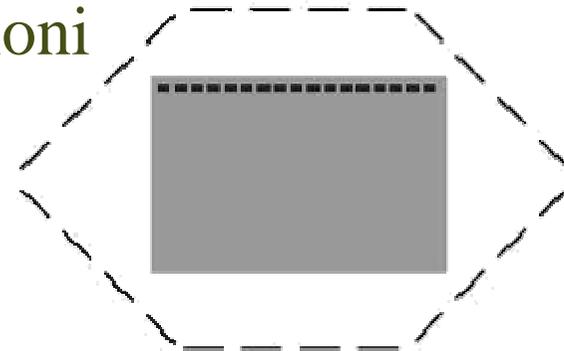
□ POLYMERASE CHAIN REACTION

- In campioni respiratori, urine e sangue
- In grado di identificare infezioni causate da tutte le specie di *Legionella* e di tutti i sierogruppi
- Anche formati in Real-time e multiplex
- L'utilizzo è ancora limitato a pochi laboratori
- Per campioni clinici dal tratto respiratorio mostra sensibilità pari o maggiore della cultura



EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

- **La sierotipizzazione classica degli isolati è inadeguata nelle indagini epidemiologiche**
 - *L.pneumophila* sierogruppo 1 predominante in epidemie
- **Necessari metodi molecolari per la genotipizzazione di isolati clinici ed ambientali**
 - **identificazione di cluster di infezioni**
 - AFLP
 - PFGE
 - RFLP
 - Sequence Based Typing SBT
 - MLST (metodo più robusto e riproducibile)



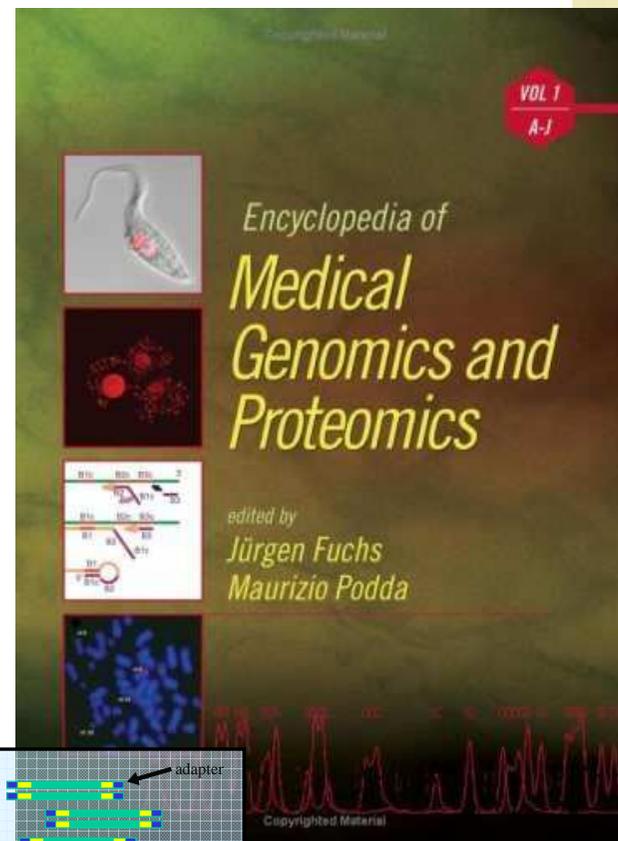
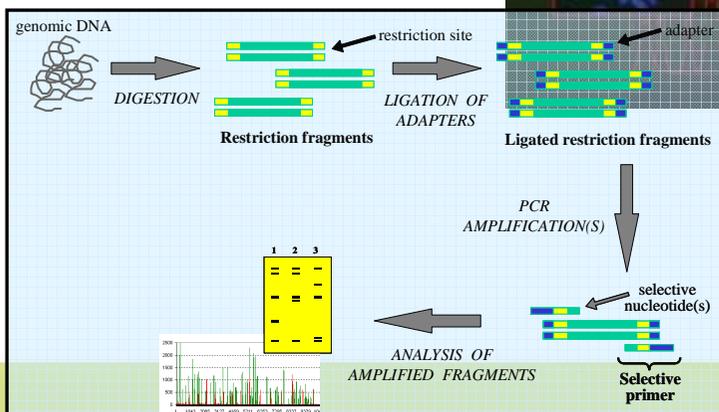
EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: AFLP

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)—Application for DNA Fingerprinting

G. Ripabelli
University of Molise, Campobasso, Italy

J. McLauchlin
Health Protection Agency Food Safety Microbiology Laboratory, London, U.K.

La tipizzazione dei ceppi di *Legionella* mediante AFLP ha rilevato la presenza di 31 diversi profili, due dei quali predominanti e presenti in 8 Regioni italiane



G

RIPABELLI@UNIMOL.IT

A

Z

I

E

P

E

R

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL MOLISE



FACOLTÀ DI
MEDICINA E CHIRURGIA



L'ATTENZIONE