

**Francesco Santi**

Presidente AIAS



Legionella: maggiore sensibilità dopo la pandemia e sviluppi nella ricerca

La Dottoressa Maria Luisa Ricci rappresenta uno dei maggiori esperti di *Legionella* in Italia e in Europa. Attualmente ricopre il ruolo di Dirigente di Ricerca all'Istituto Superiore di Sanità. È Responsabile del Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle, direttamente incaricata dal Ministero della Salute come National Focal Point per l'ECDC per la sorveglianza microbiologica della legionellosi. È membro del Comitato di Coordinamento dell'European Legionnaires' Disease Surveillance Network (ELDSNET) e Chair dell'ESCMID Study Group for Legionella Infection (ESGLI). È coautrice delle linee guida italiane ed europee sulla *Legionella* e vincitrice di un premio per la ricerca sull'analisi del microbioma di impianti idrici (ESGLI Prize 2014).

**Maria Luisa Ricci**Dirigente di Ricerca
Istituto Superiore di Sanità

Dottoressa Ricci può sinteticamente esporci come l'Istituto Superiore di Sanità opera per il controllo e il contrasto della legionellosi?

La legionellosi è una malattia sottoposta a sorveglianza speciale e dal 1983 l'Istituto Superiore di Sanità mantiene il registro nazionale per questa malattia. In esso vengono raccolte informazioni specifiche su ogni caso relativamente alla possibile fonte di infezione, al quadro clinico, ai fattori di rischio, all'accertamento eziologico, all'esito della malattia ecc.

Il registro ha anche la funzione di rilevare tempestivamente cluster ed eventi epidemici. La legionellosi è inoltre soggetta a obbligo di notifica in classe II (D.M. 15 dicembre 1990).

Presso l'Istituto Superiore di Sanità è presente anche il Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle, istituito insieme ai laboratori regionali di riferimento per la diagnosi clinica e ambientale di *Legionella* (Gazzetta Ufficiale n° 29 del 28 febbraio 2005). Il Laboratorio Nazionale di Riferimento coordina i laboratori regionali di riferimento ed effet-

tua studi per migliorare la diagnosi clinica e ambientale della legionellosi. Esso mantiene una ceppoteca in cui sono raccolti i ceppi di *Legionella* di origine umana e ambientale, isolati sul territorio nazionale da laboratori ospedalieri e dai laboratori regionali di riferimento, tipizzati a livello fenotipico e genomico. Ciò al fine di valutare la diffusione nello spazio e nel tempo dei ceppi maggiormente responsabili di infezione anche attraverso analisi del genoma mediante Whole Genome Sequencing. Il Laboratorio Nazionale di Riferimento effettua inoltre conferma diagnostica su campioni clinici, confronti genomici di ceppi umani e ambientali mediante tecniche molecolari (Sequence-based typing e core genome MLST) per risalire all'origine dell'infezione di casi singoli, cluster ed epidemie, intervenendo anche sul campo. Utilizzando queste tecniche basate sull'analisi del genoma si è dimostrato che esistono alcuni tipi di *Legionella pneumophila* denominati Sequence type (ST) che sono più frequenti nei casi di malat-



Foto a destra: per gentile concessione della dottoressa Maria Luisa Ricci.

tia, come l'ST1 per le infezioni acquisite in ospedale e l'ST23 responsabile della maggior parte delle epidemie e dei casi comunitari. Sulla base di queste evidenze sarebbe opportuno valutare con maggiore attenzione impianti contaminati da tali stipiti batterici. Il laboratorio ha eseguito studi sui microbiomi di impianti idrici per valutare possibili approcci probiotici per il contenimento di *Legionella* e ha valutato l'efficacia di disinfettanti (monocloramina e biossido di cloro) sia in vitro sia negli impianti idrici di alcune strutture sanitarie italiane.

Dottoressa, questi due anni di pandemia hanno sicuramente portato all'attenzione dell'opinione pubblica l'importanza della ricerca e delle conoscenze nel campo della microbiologia. In particolare, anche tra i nostri lettori è cresciuta la consapevolezza che il rischio biologico nel settore civile e industriale è stato sinora molto trascurato. Lei condivide questa sensazione di aumento di sensibilità e come può l'ISS supportare la crescita delle conoscenze nel settore?

Certamente la pandemia di Covid-19 ha reso tutti più consapevoli del rischio che deriva in genere dagli agenti infettivi. L'ISS, e in particolare il Dipartimento di Malattie Infettive di cui faccio parte, promuove da sempre l'informazione e la formazione in questo ambito, tuttavia, come accade spesso, la consapevolezza arriva quando si verificano eventi gravi. Ne sono un esempio anche le epidemie di legionellosi che si sono verificate in Lombardia e che a livello regionale hanno portato all'applicazione sui sistemi di torri di raffreddamento e condensatori evaporativi di misure di prevenzione e controllo più stringenti rispetto a quanto era stato già disposto nelle linee guida sulla legionellosi del 2015.

La pandemia di Covid e le conseguenti chiusure di edifici dovute al lockdown come hanno influenzato, se lo hanno fatto, la presenza di *Legionella* nel nostro Paese?

Questa valutazione non è stata fatta. Tuttavia l'ISS, attraverso la pubblicazione di due Rapporti Covid (n° 21 e n° 27 del 2020), ha divulgato raccomandazioni sulla prevenzione e sul controllo della legionellosi negli impianti idrici di strutture turistico-ricettive e altri edifici a uso civile e industriale e per i riuniti odontoiatrici non utilizzati durante la pandemia da Covid-19. Durante il 2020 c'è stato un netto calo dei casi notificati al registro nazionale della legionellosi, dovuto al lockdown e alla conseguente forte riduzione dei viaggi e all'uso delle mascherine. Tuttavia, non appena le restrizioni sono state limitate nel 2022, il numero di casi è aumentato tornando a livelli pre-pandemici, segno che l'infezione può essere contratta sia

dall'ambiente (ovvero tutte le fonti che generano aerosol: torri di raffreddamento, fontane, dispositivi di nebulizzazione ecc.) sia dalla frequentazione di strutture turistico-ricettive, ospedali, stabilimenti termali, strutture ricreative ecc.

A suo avviso, anche a seguito del X Simposio Internazionale sulla *Legionella* [nel settembre 2022 a Yokohama in Giappone, N.d.R.], quali sono gli sviluppi delle conoscenze e della tecnica che possono essere considerati punti di forza del futuro per la lotta alla *Legionella* e quali invece le tematiche più preoccupanti, se ce ne sono, su tale fronte?

Una delle novità più importanti riportate al Simposio Internazionale sulla *Legionella* è sicuramente la comunicazione riguardante l'entrata in vigore in Europa della nuova direttiva sulle acque potabili 2020/2184, che proprio alcuni giorni fa è stata recepita in Italia con il D.lgs. n° 18 del 23 febbraio 2023. Questa normativa avrà una notevole ricaduta sui responsabili di edifici, sugli operatori sanitari e su tutti i portatori di interesse che svolgono attività correlate alla prevenzione e al controllo della contaminazione da *Legionella*. In questo documento *Legionella* è stata inserita per la prima volta tra i parametri da controllare obbligatoriamente negli edifici. Ogni Stato membro, in base alla valutazione del rischio e all'applicabilità delle azioni indicate, ha classificato gli edifici in prioritari e non prioritari e imposto l'applicazione di procedure atte a contenere il rischio *Legionella*. Pertanto ci sarà una rivoluzione in termini di valutazione e gestione del rischio *Legionella*, con l'applicazione dei piani di sicurezza dell'acqua o dei piani di autocontrollo soprattutto per le strutture sanitarie con regime di ricovero. Anche le strutture turistico-ricettive, le strutture sanitarie non in regime di ricovero, gli istituti penitenziari ecc. dovranno affrontare il rischio *Legionella*, ma con un livello di severità differente rispetto alle strutture nosocomiali. Inoltre, va sottolineato che sono state introdotte sanzioni per coloro che ometteranno l'applicazione delle indicazioni riportate in tale decreto. Sulla base di nuove opportunità di conferma diagnostica, offerte proprio dalla nuova direttiva 2020/2184,

il Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle ha condotto uno studio, presentato al Simposio Internazionale, che ha coinvolto 33 laboratori italiani (laboratori regionali di riferimento, universitari e laboratori privati) in cui sono stati messi a confronto metodi per la rilevazione di *Legionella pneumophila* quali la coltura liquida rapida (Legiolert, IDEXX), il metodo Real Time PCR (RT PCR; DI-Check *Legionella pneumophila*, Diatheva) con la coltura su piastra in accordo con la ISO 11731:2017. I metodi DI-Check *Legionella pneumophila* e Legiolert si sono dimostrati validi e sicuri per integrare e sostituire il metodo della coltura su piastra per le verifiche basate sul rischio: il primo metodo per la sua notevole sensibilità, specificità e capacità di rilevare il DNA di *Legionella pneumophila* soprattutto quando la coltura mostra risultati negativi; il secondo per la sua facilità di esecuzione, l'alta concordanza con la coltura e la riduzione del volume d'acqua da campionare.

Un'importante comunicazione fatta al Simposio è stata la scoperta della 64^a specie di *Legionella*, la seconda isolata in Italia: *Legionella bononiensis* (*Bononia* è il nome latino di Bologna, luogo in cui è stato identificato il nuovo batterio). A scoprirla, durante l'attività di sorveglianza ambientale in una struttura alberghiera, sono stati i ricercatori del Laboratorio di Microbiologia Ambientale e Biologia Molecolare dell'Università di Bologna, di cui è responsabile la Professoressa Sandra Cristino. Questa scoperta, effettuata utilizzando anche le moderne e rapide tecniche di Whole Genome Sequencing, mostra come la composizione microbica degli impianti possa variare a seguito di interventi di disinfezione, rendendo più evidente la presenza di legionelle non pneumophile rispetto alle pneumophile.

Un altro studio presentato dal nostro laboratorio è stato quello effettuato al fine di determinare la sensibilità agli antibiotici di circa 200 ceppi di *Legionella pneumophila* di origine umana isolati in Italia dal 1987. I dati hanno mostrato che di questi circa 50 avevano una ridotta sensibilità all'azitromicina, segnalando la necessità di monitorare l'insorgenza di ceppi resistenti e dare indicazioni ai clinici affinché possano somministrare antibiotici appropriati. L'altro aspetto discusso nel convegno è l'imminente

modifica della definizione di caso di legionellosi, in base alla quale la diagnosi mediante metodi basati sulla rilevazione del DNA (i cosiddetti NAAT, Nucleic Acid Amplification Test) di *Legionella pneumophila* rappresenterà un caso confermato anziché un caso probabile, come prevede l'attuale definizione. L'utilizzo dei metodi molecolari permetterà di rilevare anche i casi che attualmente non vengono rilevati a causa dell'uso quasi esclusivo del test per la rilevazione dell'antigene urinario, che rileva solamente in una piccola percentuale di casi le infezioni da sierogruppi diversi dal sierogruppo 1 e nessuna delle infezioni causate da altre specie di *Legionella*.

Legionella, come noto, ha la sua "roccaforte" nel biofilm dove prolifera e si protegge dallo stress chimico-fisico eventualmente presente negli impianti idrici. Durante il Simposio è stato presentato un metodo denominato iCBiofilm, semplice, rapido ed efficiente, che consente di evidenziare il biofilm e la sua formazione mediante la microscopia confocale a scansione. Esso rappresenta un importante progresso per esaminare le dinamiche e le funzioni di questa complessa struttura biologica.

Sono stati altresì illustrati studi condotti per conoscere le relazioni tra *Legionella* e altri microrganismi all'interno di impianti idrici, in particolare quei microrganismi che potrebbero avere attività anti *Legionella* al fine di evidenziare composti inibitori.

Per quanto riguarda la diffusione di *Legionella* nell'ambiente e al considerevole rischio associato con i grandi sistemi delle torri di raffreddamento, responsabili delle più grandi epidemie che si sono verificate in tutto il mondo, è stato sviluppato un interessante modello predittivo di dispersione di bioaerosol legato al PM10. Ciò al fine di sviluppare una mappa di rischio *Legionella* in un raggio di 5-10 km dal sito di installazione che potrebbe già essere utilizzata nella progettazione di questi complessi sistemi, oltre a gestirne la manutenzione necessaria per evitare focolai. Infine, è sicuramente preoccupante l'aver saputo che i casi aumentano in tutto il mondo, non solo grazie all'utilizzo di metodi diagnostici sempre più sensibili, ma anche a causa di un aumento reale del numero di casi. *Legionella*, infatti, continua a essere isolata negli ambienti artificiali spesso anche a dispetto degli interventi di disinfezione. Ciò è dovuto a molteplici cause, quali soprattutto la mancata continuità degli interventi adottati che agisce in concomitanza con le molteplici strategie di sopravvivenza di *Legionella*, consentendone la persistenza negli impianti idrici. L'approccio del Water Safety Plan o Piano di Sicurezza dell'Acqua, imposto dalla direttiva 2020/2184 per valutare e gestire il rischio *Legionella* negli edifici prioritari, sicuramente porterà a un maggiore rigore e controllo della proliferazione di questo pericoloso batterio negli impianti idrici.

The 10th
International Conference on
Legionella 2022
20th - 24th September, 2022
Hamagin Hall VIA MARE,
Yokohama, Japan

Chair **Kazuhiro TATEDA, M.D., Ph.D.**
Professor, Department of Microbiology and Infectious Diseases,
Toho University School of Medicine

Domestic Organizing Committee
Fumiaki KURA, Hiroki NAGAI, Hiroyuki YAMAGUCHI, Junko AMEMURA-MAEKAWA, Kenta WATANABE,
Kohei ARASAKI, Masahisa WATARAI, Tetsuji AOYAGI, Tomoko KUBORI, Torahiko OKUBO, Toshiro KUROKI

Society Secretariat
Chiaki KAJIWARA, Soichiro KIMURA, Yoshikazu ISHII

