



Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio  
Servizio di Medicina di Laboratorio  
Microbiologia e Virologia  
Università degli Studi di Brescia  
Cattedra di Microbiologia



## *Legionellosi: inquadramento microbiologico*

*Prof. Arnaldo Caruso*



La legionella è un batterio che deve il suo nome all'epidemia di polmonite che si verificò nell'estate del 1976 in un **hotel** di Philadelphia tra i partecipanti ad una riunione dell'American Legion: tra i 4.000 veterani del Vietnam presenti (chiamati appunto "Legionnaires")

221 casi di polmonite acuta e 34 decessi



La Legionella venne isolata dai **condizionatori** dell'hotel dove i veterani avevano soggiornato

Famiglia: *Legionellaceae*

Genere: *Legionella*

- bastoncelli gram-negativi
- aerobi obbligati
- asaccarolitici
- mobili (uno o più flagelli)
- catalasi positiva
- non riducono i nitrati a nitriti
- idrolizzano l'urea

Esigenti (“fastidious”) dal punto di vista nutrizionale.

La crescita è favorita da:

- sali di ferro
- L-cisteina

**Vanno facilmente incontro a fenomeni di autolisi**



## Genere Legionella

50 specie,

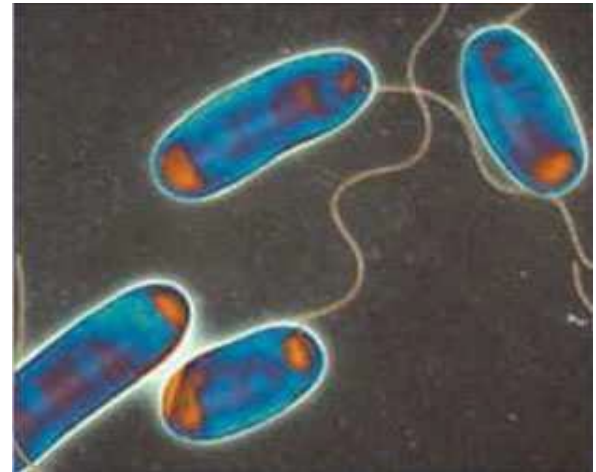
70 sierogruppi

Solo 20 di queste sono in grado di dare malattia nell'uomo

In Italia circa il **90% dei casi** è dovuto a *Legionella pneumophila* ed in particolare di sierogruppo 1.

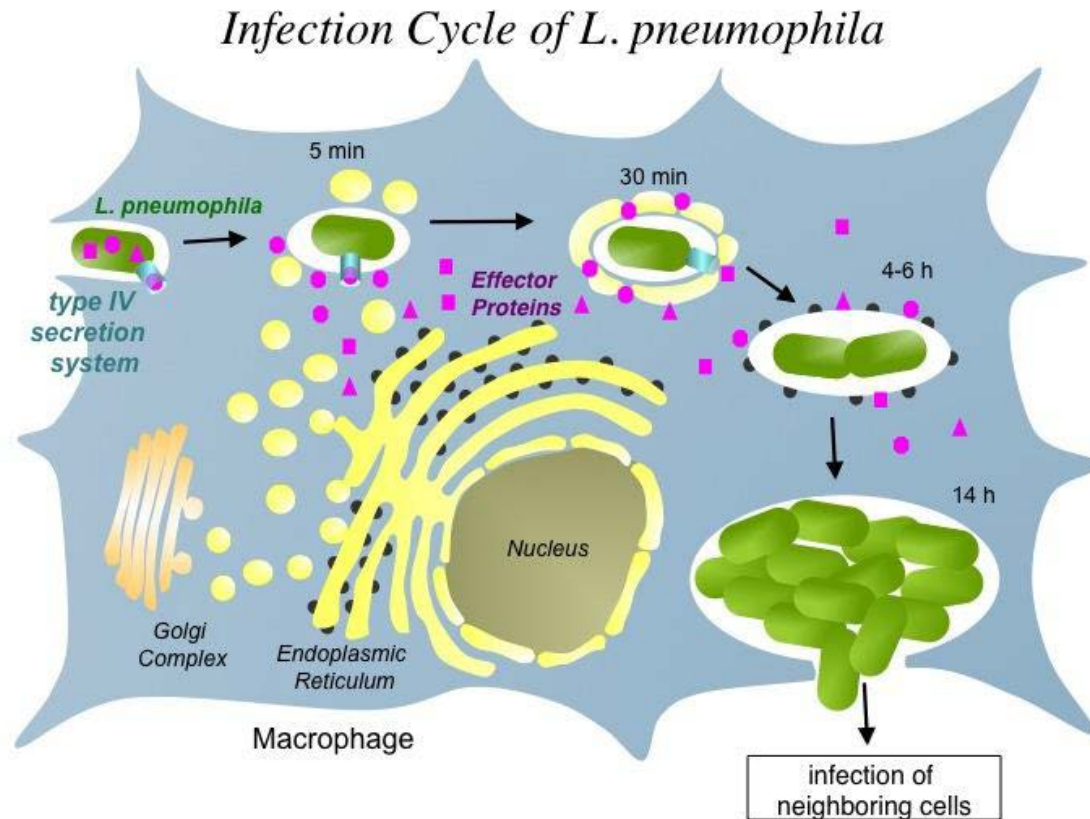
Altre specie di importanza clinica sono

- *L. micdadei*,
- *L. longbeachae*
- *L. dumoffii*



La *Legionella* può infettare monociti e macrofagi legandosi al recettore CR3 e penetrando al loro interno tramite la formazione di un vacuolo endocitotico. La *Legionella* può essere fagocitata dai polimorfonucleati con formazione di un vacuolo endocitotico. In entrambi i casi e laddove la forza immunitaria del paziente è compromessa, la legionella evita la sua degradazione **eludendo la formazione del fagolisosoma.**

La *L. pneumophila* è in grado di replicare all'interno del vacuolo endocitotico, dove rilascia proteasi, fosfatasi, lipasi e nucleasi. Il vacuolo viene così lisato liberando batteri ciliati ed attivamente mobili, capaci di infettare nuove cellule.



# LEGIONELLA



SERBATOIO NATURALE



SERBATOIO ARTIFICIALE



# In natura ...



Le legionelle sono presenti negli ambienti acquatici naturali e artificiali: si riscontrano nelle sorgenti, comprese quelle termali, fiumi, laghi, terreni.

Le condizioni più favorevoli alla proliferazione sono:

condizioni di *stagnazione*;

presenza di **incrostazioni** e sedimenti; **biofilm**;

presenza di **amebe**:

I batteri, inoltre, possono sopravvivere con una temperatura dell'acqua compresa tra i 5,7 e i 55 °C, in ambienti sia acidi che alcalini, sopportando valori di pH compresi tra 5,5 e 8,1 ed in condizioni di alta salinità (**acque termali**).

# Ambiente artificiale

- Reti idriche cittadine, soprattutto di grandi strutture con sistemi centralizzati di distribuzione dell'acqua calda (es. ospedali, case di riposo, alberghi, centri sportivi e termali), bagni turchi, saune, ecc.
- Torri di raffreddamento;
- Vasche idromassaggio;
- Piscine e cisterne con acqua stagnante;



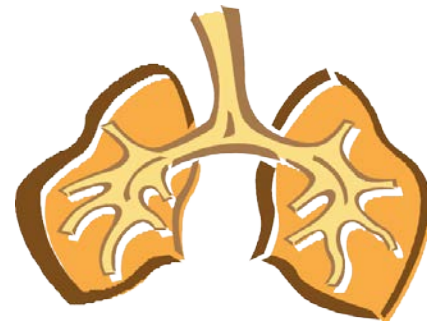


... e non solo ...



# Fattori di rischio

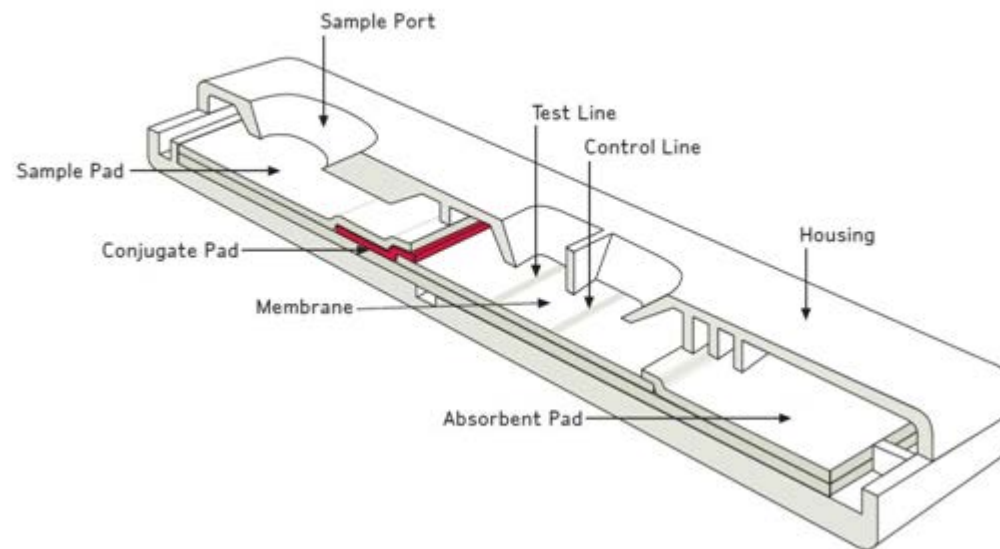
- Età avanzata
- Sesso maschile (2,5:1)
- Alcolismo e Tabagismo
- Broncopneumopatia cronica ostruttiva
- Neoplasie, Diabete
- Immunodepressione
- Insufficienza cardiaca o renale terminale



La trasmissione interumana non è stata dimostrata

# Identificazione immunocromatografica su urine

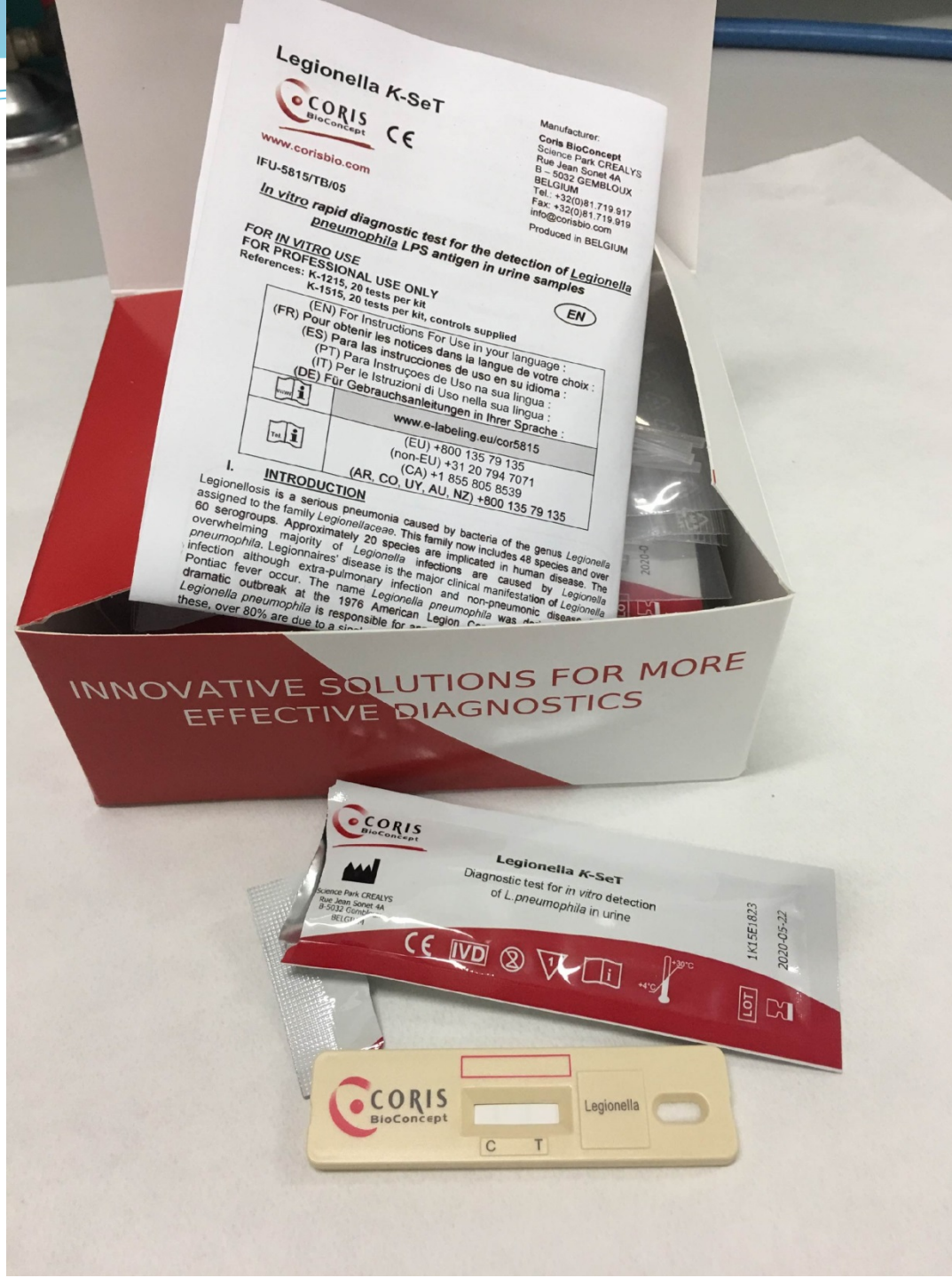
(Diagnosi di probabilità eziologica)



## **Vantaggi:**

Rapidità, sensibilità, specificità, facilità di esecuzione, prelievo non invasivo

Riconosce solo il sierotipo 1 della *L. pneumophila*



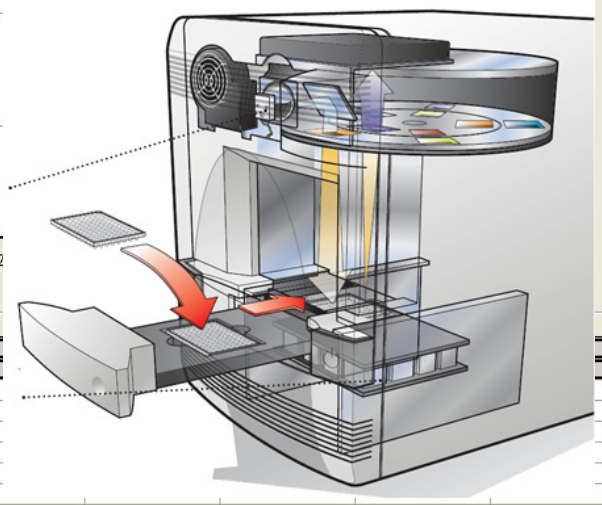
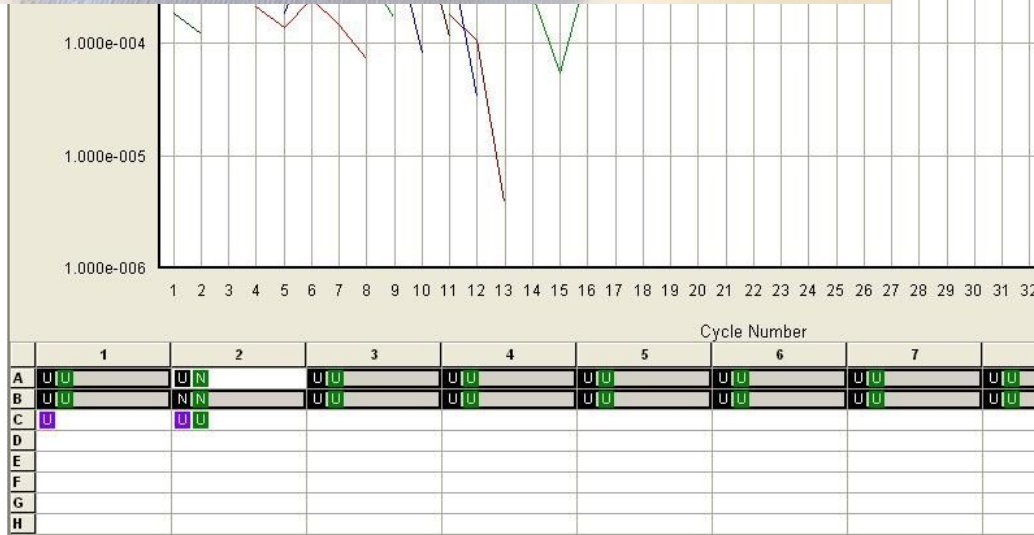
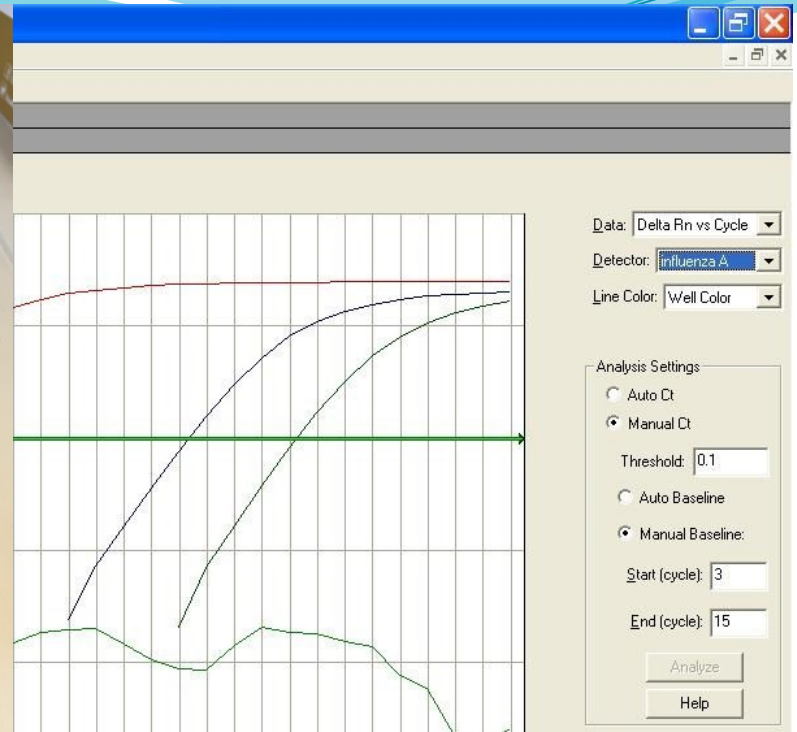
Riconosce i  
sierotipi dall'1 al 14  
della *L. pneumophila*



# Biologia molecolare

(Diagnosi di probabilità eziologica)

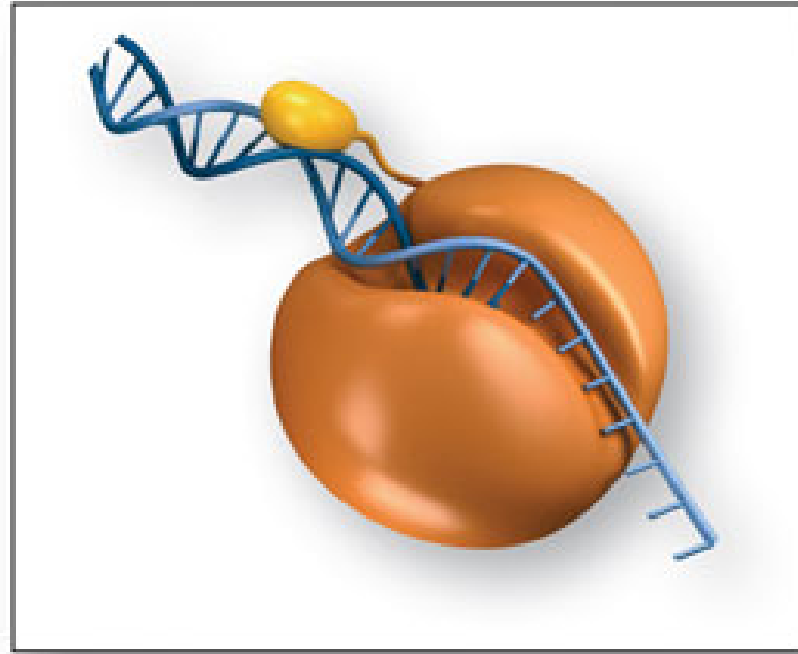




Ready

Disconnected

NUM



## **Vantaggi:**

Altissima sensibilità e specificità;

Possibilità di poter contemporaneamente analizzare il campione per la presenza di più patogeni.



# Esame colturale

(Diagnosi di certezza eziologica)



Esame colturale: ferro + cisteina,

Terreno:

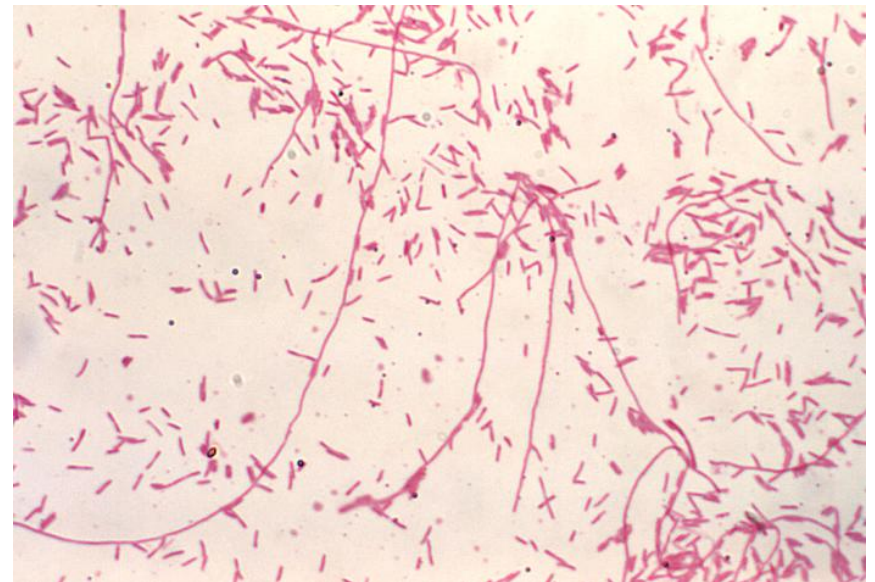
BCYE (carbone vegetale + estratto di lievito)

GVPC (selettivo: glicina, vancomicina, polimixina B, cicloeximide)

Cresce in presenza di CO<sub>2</sub> al 5-10% dopo 3-7gg (**crescita lenta**).

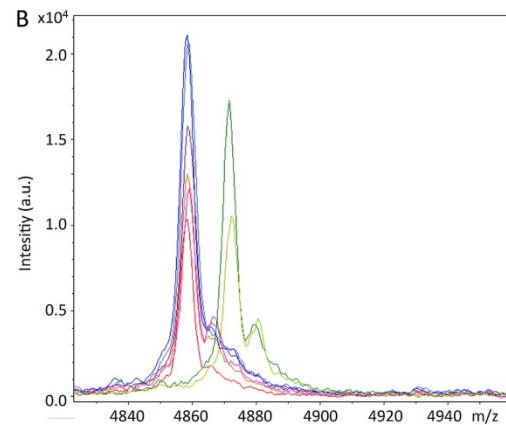
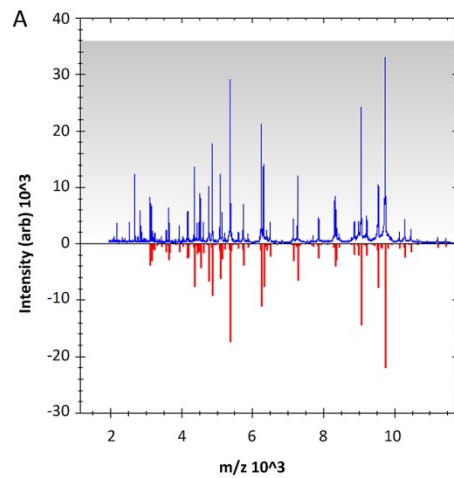
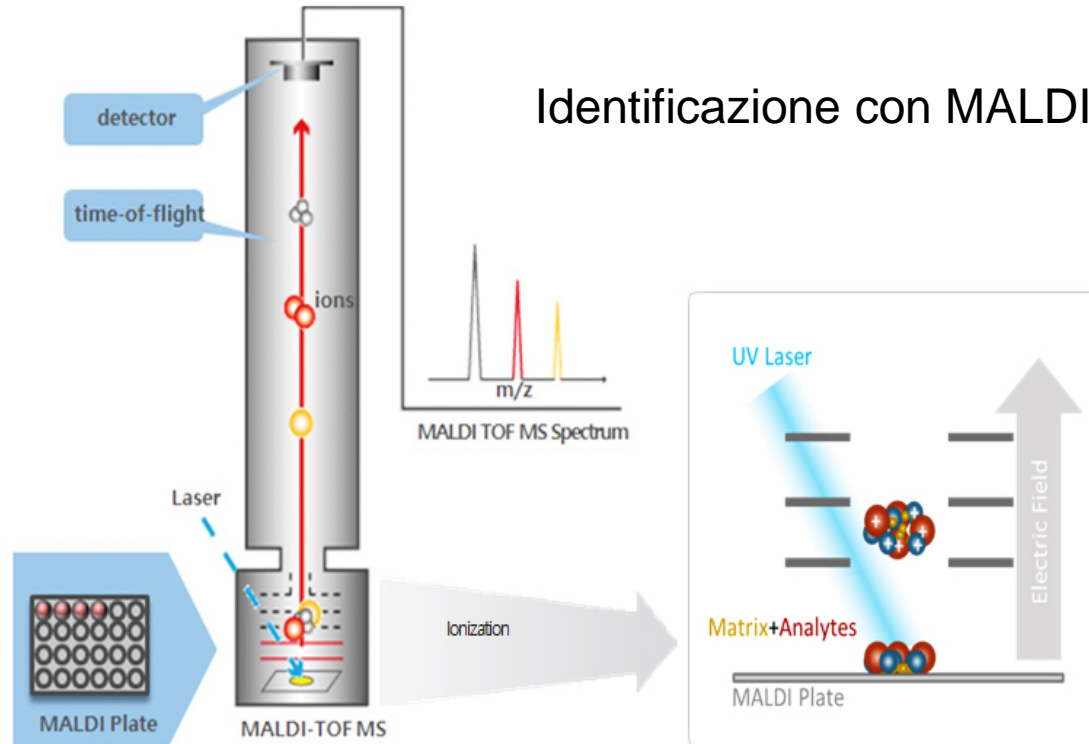
Colonie piccole ad aspetto di vetro smerigliato.

Per una maggiore probabilità di isolamento si rende necessario utilizzare materiale respiratorio profondo (broncoaspirato, BAL).





# Identificazione con MALDI-TOF

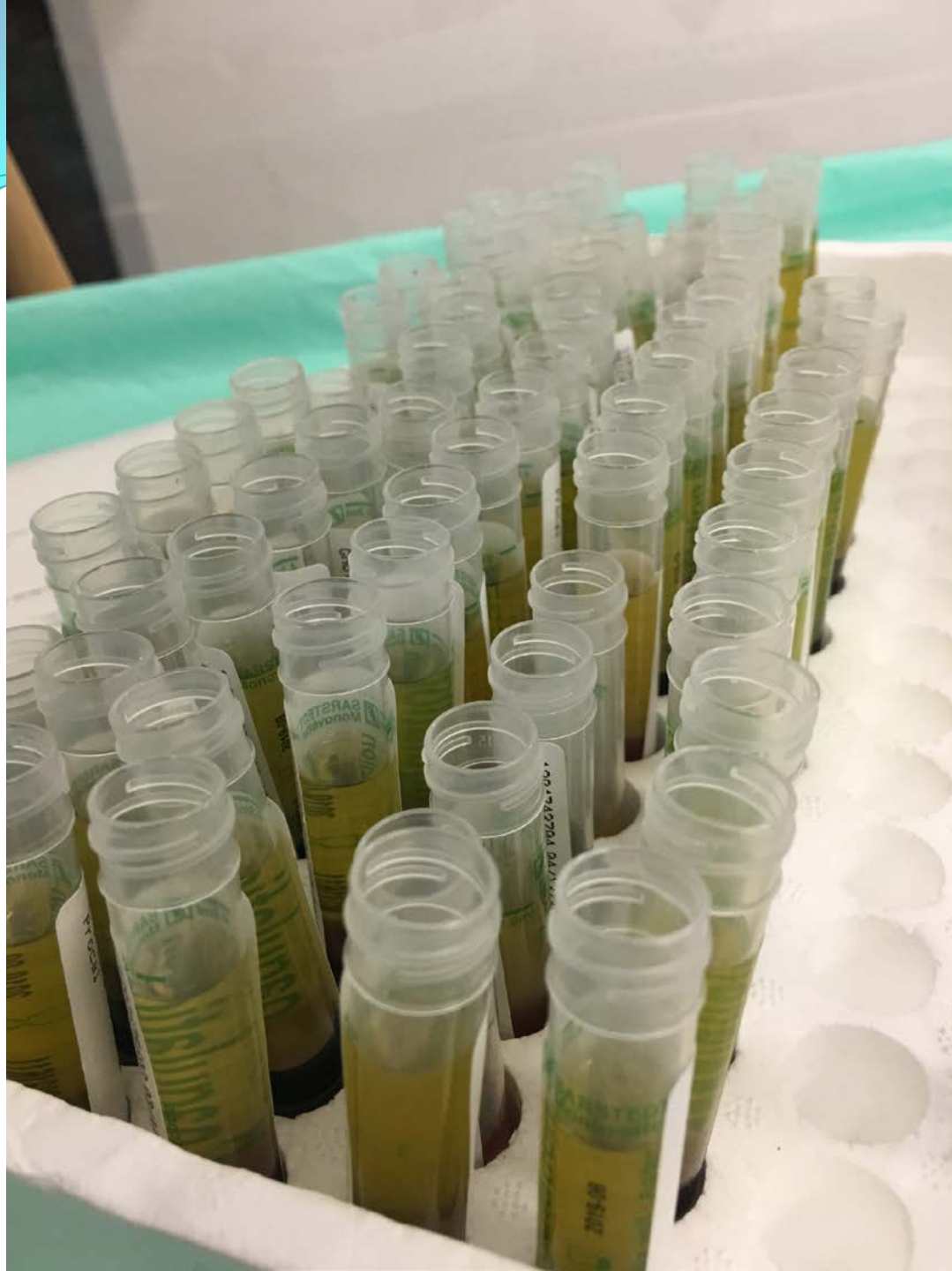




La legionella viene tipizzata con metodiche di agglutinazione mediante antisieri specifici per i sierotipi 1 e 2-14

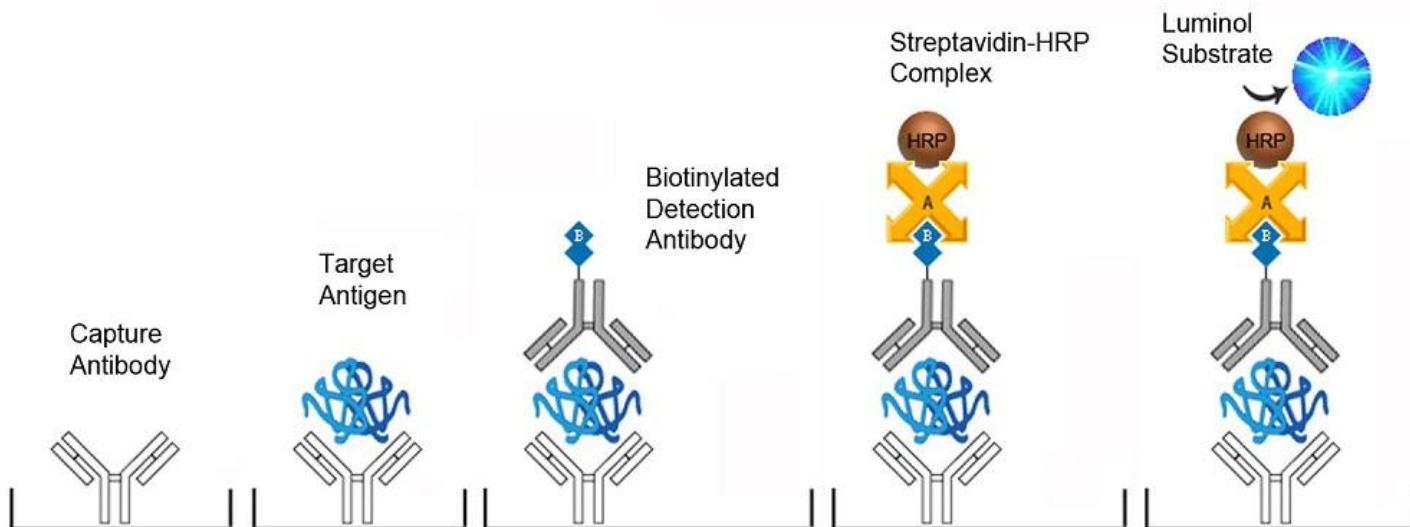
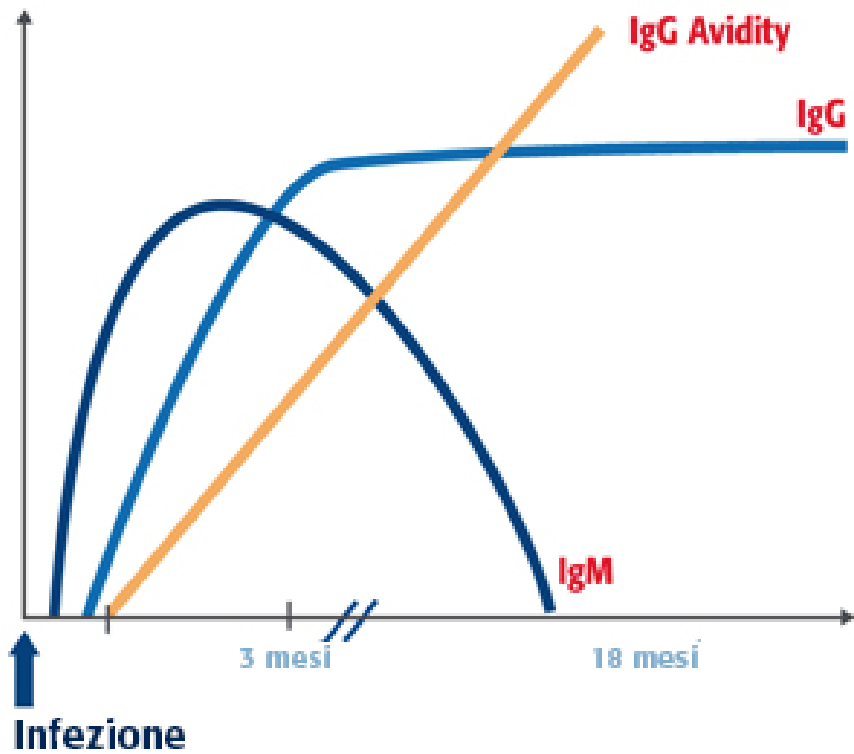
**Vantaggi:**

Con il ceppo isolato e vitale si possono eseguire altri accertamenti, tra i quali l'antibiogramma



# Sierologia

(Diagnosi di certezza eziologica)



# Percorso diagnostico per la Legionellosi

- Test urinario (si renderà necessario utilizzare in futuro nuovi test che catturino antigeni di più sierogruppi di *L. pneumophila*);
- Test molecolare (valida alternativa in caso di forte sospetto in paziente con test degli antigeni urinari negativo);
- Isolamento batterico (di difficile attuazione e con bassissima probabilità di successo);
- Indagine sierologica (diagnosi a posteriori, utile solo a fini epidemiologici).

A microscopic view of numerous rod-shaped bacteria, likely Bacillus subtilis, scattered across a textured, light-colored surface. The bacteria are rendered in shades of blue and purple, with a detailed, textured surface. A blue, cloud-like speech bubble is positioned in the upper left quadrant, containing the Italian text "Grazie per l'attenzione" in white serif font. The background shows a repeating pattern of small, rounded, textured cells, possibly representing a skin surface or a specific material.

Grazie per  
l'attenzione