

# La legionellosi

## Manuale di epidemiologia, microbiologia e clinica

a cura di P. Benedetti, M. Castellani Pastoris e D. Greco

<sup>2</sup> rapporti ISTATISAN

**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'**

**La legionellosi**  
**Manuale di epidemiologia, microbiologia e clinica**

a cura di  
**P. Benedetti\*, M. Castellani Pastoris\*\* e D. Greco\***

*\* Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica*  
*\*\* Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica*

Istituto Superiore di Sanità, Roma  
**La legionellosi. Manuale di epidemiologia, microbiologia e clinica.**  
P. Benedetti, M. Castellani Pastoris, D. Greco (Ed)  
Giù 91, 116 p. Rapporti ISTISAN 91/20 (In Italiano)

L'interesse del mondo scientifico per le infezioni da *Legionella* spp. è andato progressivamente crescendo negli ultimi anni. A partire dal primo riconoscimento della malattia nella sua forma polmonare, in occasione della grave epidemia di Philadelphia (USA) nel 1976, le conoscenze sulla legionellosi si sono notevolmente estese, sia da un punto di vista epidemiologico sia clinico, ed essa ha acquisito una posizione di notevole rilievo nella patologia polmonare. Parallelamente, il problema della diagnostica e della prevenzione è spesso emerso nel corso di numerosi episodi epidemici avvenuti in varie parti del mondo, tra cui l'Italia. E' opinione degli Autori che nel nostro Paese rivesta particolare urgenza la diffusione di nozioni essenziali in materia di legionellosi, utilizzabili da tutti coloro che agiscono nel settore sanitario. L'infezione da *Legionella* è infatti largamente sottostimata, e spesso difettano adeguati interventi diretti alla sorveglianza ed al controllo. Accanto ad una finalità divulgativa, questo manuale si propone pertanto di accrescere l'interesse per la legionellosi, stimolando una sempre maggiore presenza e collaborazione allo studio di questa infezione.

**Parole chiave:** Legionellosi

Istituto Superiore di Sanità, Rome  
**Legionellosis. Handbook of epidemiology, microbiology and clinical aspects.**  
P. Benedetti, M. Castellani Pastoris, D. Greco (Eds)  
Jun 91, 116 p. Rapporti ISTISAN (ISTISAN Reports) 91/20 (in Italian)

In recent years, the scientific interest in *Legionella* infections has progressively increased. Since the serious epidemic in Philadelphia (USA) in 1976, a great deal of knowledge on the disease has been acquired, both in epidemiology and clinical aspects. Legionellosis has consequently gained remarkable importance in pneumology. Several outbreaks of the infection in various parts of the world, including Italy, have revealed problems concerning diagnosis and prevention. For a number of years, the Istituto Superiore di Sanità (Italian National Health Institute) has coordinated diagnostic efforts and epidemiological surveillance of legionellosis; a diffuse underestimation of this infection has been generally noted, together with a frequent lack of proper surveillance and control interventions. In the light of this experience, the authors consider it particularly urgent to provide physicians and health workers with a handbook dealing with various aspects of the disease. They hope that such an effort will produce renewed interest in this problem and increase cooperation in the study of *Legionella* infections.

**Key words:** Legionellosis

Gli Autori sono grati alla Sig. na Marina Cipollone per l'assistenza tecnica.

## INDICE

|       |                                              | pag. |
|-------|----------------------------------------------|------|
| 1.    | PREMESSA .....                               | 1    |
| 2.    | EPIDEMIOLOGIA .....                          | 2    |
| 2.1   | Cenni Storici .....                          | 2    |
| 2.2   | Geografica della legionellosi .....          | 5    |
| 2.3   | Legionellosi in Italia .....                 | 6    |
| 2.4   | Siti epidemici e sorgenti d'infezione .....  | 11   |
| 2.5   | Rischio d'infezione .....                    | 13   |
| 3.    | CARATTERISTICHE DELLE LEGIONELLE .....       | 15   |
| 3.1   | Introduzione .....                           | 15   |
| 3.2   | Caratteri generali .....                     | 15   |
| 3.3   | Fattori e condizioni di crescita .....       | 16   |
| 3.3.1 | Fattori di crescita e fonti di energia ..... | 16   |
| 3.3.2 | Terreni di coltura .....                     | 17   |
| 3.3.3 | Batteri .....                                | 17   |
| 3.3.4 | Ameba .....                                  | 17   |
| 3.3.5 | Alghe .....                                  | 18   |
| 3.3.6 | Temperatura .....                            | 18   |
| 3.3.7 | Acidità .....                                | 18   |
| 3.4   | Fattori e composti ad azione battericida ..  | 18   |
| 3.4.1 | Temperatura .....                            | 18   |
| 3.4.2 | Disinfettanti .....                          | 19   |

|       |                                                                              | pag. |
|-------|------------------------------------------------------------------------------|------|
| 4     | PRESENZA DI <u>LEGIONELLA</u> NELL'AMBIENTE .....                            | 20   |
| 4.1   | Ambiente naturale .....                                                      | 20   |
| 4.2   | Ambiente artificiale .....                                                   | 21   |
| 4.2.1 | Impianti idrici .....                                                        | 21   |
| 4.2.2 | Impianti di condizionamento dell'aria .....                                  | 21   |
| 4.2.3 | Piscine e idromassaggi. Fontane .....                                        | 22   |
| 4.3   | Valutazione del rischio di infezione per<br>via inalatoria .....             | 23   |
| 5     | IMMUNOPATOLOGIA E PATOGENESI .....                                           | 25   |
| 6     | CLINICA DELLE INFEZIONI DA <u>LEGIONELLA</u> .....                           | 29   |
| 6.1   | Nomenclatura .....                                                           | 29   |
| 6.2   | Aspetti clinici e diagnostici dell'infezio-<br>ne da <u>Legionella</u> ..... | 30   |
| 6.3   | Polmonite da <u>Legionella</u> .....                                         | 30   |
| 6.4   | Complicanze .....                                                            | 34   |
| 6.4.1 | Complicanze respiratorie .....                                               | 34   |
| 6.4.2 | Complicanze cardiache .....                                                  | 34   |
| 6.4.3 | Complicanze neurologiche .....                                               | 35   |
| 6.4.4 | Complicanze renali .....                                                     | 35   |
| 6.4.5 | Altre complicanze .....                                                      | 36   |
| 6.5   | Febbre di Pontiac ed altre manifestazioni<br>non polmonari .....             | 36   |

|      |                                                                              | pag. |
|------|------------------------------------------------------------------------------|------|
| 7    | TERAPIA DELLA LEGIONELLOSI.....                                              | 38   |
| 7.1  | Polmonite da <u>Legionella</u> .....                                         | 38   |
| 7.2  | Febbre di Pontiac.....                                                       | 42   |
| 8.   | DIAGNOSI DI LABORATORIO.....                                                 | 43   |
| 8.1  | Introduzione .....                                                           | 43   |
| 8.2  | Diagnosi colturale .....                                                     | 45   |
| 8.3  | Evidenziazione del microorganismo per<br>mezzo dell'immunofluorescenza ..... | 46   |
| 8.4  | Messa in evidenza dell'antigene nelle<br>urine .....                         | 48   |
| 8.5  | Ibridazione del DNA .....                                                    | 49   |
| 8.6  | Diagnosi sierologica .....                                                   | 49   |
| 9.   | SORVEGLIANZA DELLA LEGIONELLOSI .....                                        | 57   |
| 9.1  | Considerazioni metodologiche .....                                           | 57   |
| 9.2  | Sistema di notifica e registrazione dei<br>casi .....                        | 63   |
| 10.  | MISURE DI PREVENZIONE E CONTROLLO .....                                      | 69   |
| 10.1 | Introduzione .....                                                           | 69   |
| 10.2 | Impianti di distribuzione dell'acqua calda                                   | 70   |

|                                                                                            | pag. |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 10.3      Impianti di condizionamento dell'aria ....                                       | 75   |
| 10.3.1    Torri di raffreddamento e dispositivi<br>di condensazione a refrigerazione ..... | 76   |
| 10.3.2    Dispositivi di umidificazione .....                                              | 80   |
| 10.3.3.   Filtri e bocchette di immissione dell'aria                                       | 81   |
| 11.        CONCLUSIONI E RACCOMANDAZIONI .....                                             | 82   |

## 1. PREMESSA

L'interesse del mondo scientifico per le infezioni da Legionella spp. è andato progressivamente crescendo negli ultimi anni. L'inquadramento nosografico delle varie sindromi cliniche sostenute da questi microorganismi si è via via affinato, e, a partire dal primo riconoscimento della forma polmonare in occasione della grave epidemia di Philadelphia nel 1976, le conoscenze sulla malattia si sono notevolmente estese, sia da un punto di vista epidemiologico che clinico, assegnando alla legionellosi un rango di notevole importanza in ambito pneumologico. Parallelamente, si è imposto all'attenzione, talora in maniera drammatica durante le segnalazioni di focolai epidemici in vari Paesi del mondo - fra cui anche l'Italia- , il problema della diagnostica e della prevenzione delle infezioni da Legionella spp. L'esperienza dell'Istituto Superiore di Sanità, acquisita "sul campo" già in occasione dei primi clusters d'infezione evidenziati in Italia verso la fine degli anni '70, si è consolidata nel decennio scorso attraverso il coordinamento delle attività diagnostico-cliniche, ed in modo particolare di quelle di sorveglianza epidemiologica, avviate nel 1983 con l'istituzione del Registro Nazionale della Legionellosi. Proprio questa esperienza ha fatto avvertire agli Autori, attivamente inseriti nella ricerca scientifica sul "problema Legionella", l'urgente necessità di rendere accessibile a tutti coloro che agiscono nel settore sanitario un distillato di

nozioni essenziali su questa materia; e ciò, nonostante l'esistenza in letteratura di numerose e valide pubblicazioni scientifiche e tecniche sull'argomento, o forse proprio per questo, al fine di fornire almeno un orientamento essenziale. Questo lavoro ha dunque una finalità prevalentemente divulgativa; gli Autori auspicano tuttavia che esso funga da stimolo ed incoraggiamento ad una sempre maggiore presenza e collaborazione nello studio di questa patologia infettiva. La quale - è il caso di non dimenticarlo - è molto spesso sottostimata, e, per le particolari modalità di acquisizione, solleva ad ogni emergenza epidemica problematiche di igiene dell'ambiente, sia naturale che confinato.

## 2. EPIDEMIOLOGIA

### 2.1. Cenni storici

La "Malattia dei Legionari" fu descritta per la prima volta a seguito di una grave epidemia avvenuta nell'agosto del 1976 quando oltre 4.000 persone si riunirono al Bellevue Stratford Hotel di Philadelphia (U.S.A.) per l'annuale congresso dell'American Legion (associazione di ex combattenti) (1).

Dei 221 soggetti ammalatisi in quella circostanza, con quadro clinico prevalentemente configurato da grave polmonite febbrile, 34 (15,4%) vennero a morte per insufficienza respiratoria, spesso associata a deficit acuto della funzionalità renale.

L'esame batteriologico di campioni autoptici di tessuto polmonare portò all'evidenziazione di microorganismi gram negativi, di piccole dimensioni, non identificati in precedenza. L'isolamento poté poi essere effettuato previo inoculo intraperitoneale in cavia, da cui materiale infetto veniva successivamente prelevato e inoculato nel sacco vitellino di uova di pollo embrionate (2).

Il ruolo eziologico del batterio isolato nell'episodio di Philadelphia venne poi confermato mediante dimostrazione della presenza di una risposta immune specifica nei soggetti sopravvissuti.

Nel novembre 1978 si tenne ad Atlanta (USA) il primo simposio internazionale sulla "Malattia dei Legionari", durante il quale al microorganismo di recente scoperta venne dato il nome di "Legionella pneumophila", ed il ceppo isolato dai casi di Philadelphia (Philadelphia 1) venne assunto come ceppo di riferimento.

In seguito alla messa a punto di adeguate tecniche per la diagnosi di laboratorio e ad accurati studi retrospettivi sieroepidemiologici fu possibile individuare altri episodi di legionellosi avvenuti in passato. Si poté dimostrare, ad esempio, che il microorganismo isolato nel 1947 da Elizabeth Jackson da una cavia precedentemente inoculata con sangue di un collega affetto da malattia febbrile di scarso rilievo apparteneva al genere Legionella (3-4), e che buona parte dei 78 casi di polmonite manifestatisi nel 1957 ad Austin, Minnesota (5), e degli 81 casi del St.

Elizabeth Hospital presso Oxon Creek, Washington D.C., nel 1965 (6), erano dovuti al microorganismo di recente scoperta. Entrambe le epidemie, avvenute in periodo estivo, erano state gravate da elevata letalità. Successivamente, nel 1968, a Pontiac (Michigan), 144 persone furono coinvolte in un episodio epidemico, decorso con repentini episodi febbrili e sintomatologia simil-influenzale nel personale e nei visitatori del Dipartimento di Igiene Pubblica della Contea (7). Il ceppo batterico responsabile dell'infezione venne in seguito isolato dalle torri di raffreddamento dell'impianto di condizionamento dell'edificio (8).

L'episodio di Philadelphia del 1976 era stato preceduto, due anni prima, da un analogo episodio di entità più contenuta (9): 20 persone si erano ammalate di polmonite dopo un raduno allo stesso Bellevue Stratford Hotel ove ebbe a manifestarsi in seguito la grande epidemia che portò al riconoscimento definitivo di Legionella spp. Anche questo primo focolaio a Philadelphia si era manifestato nella stagione estiva, e aveva causato 2 decessi (letalità: 10%).

Negli anni '80 l'aumento delle conoscenze specifiche sulla malattia è andato sempre più avvalorando l'ipotesi che la legionellosi nella sua forma polmonare costituisca una proporzione significativa delle polmoniti atipiche (spesso definite "virali") ad eziologia non ben conosciuta.

## 2.2 Geografia della legionellosi

A seguito dell'identificazione di L.pneumophila il riconoscimento di nuovi casi di malattia, sporadici o associati a focolai epidemici, si è fatto sempre più frequente in ogni parte del mondo.

Negli U.S.A., l'incidenza della legionellosi è stata valutata, nei primi studi specificamente condotti, intorno ai 25.000 casi annui (circa l'1% dei casi totali di polmonite, ed il 32% degli 800.000 casi annui diagnosticati come "polmonite atipica") (10). Uno studio basato su più di mille casi sporadici dimostrò inoltre che la legionellosi era presente in tutti gli Stati Uniti, nonostante le differenze climatiche e geografiche, e che l'andamento stagionale era piuttosto uniforme, con una maggior incidenza di casi nel periodo luglio-ottobre (11). La prevalenza di un titolo maggiore o uguale a 1:128 di anticorpi sierici per L.pneumophila sierogruppo 1 nella popolazione fu stimato essere dell'1-5% (12), ed anche più elevata in ristrette popolazioni (13).

Fuori dagli Stati Uniti, epidemie di portata storica per il valore della documentazione si sono avute in Svezia (14) e nel Regno Unito (15); in entrambi i casi gli impianti di condizionamento degli edifici frequentati dai soggetti ammalatisi risultavano grossolanamente contaminati da Legionella.

Si pensa comunque che l'incidenza di legionellosi sporadiche sia considerevolmente più elevata di quella associata ad epidemie.

Per molti di questi casi sporadici è possibile, con dettagliate indagini, identificare nuove aree di endemia o rintracciare aree precedentemente associate a focolai epidemici. Ad esempio, in nove casi apparentemente sporadici manifestatisi in diverse parti degli U.S.A., si poté, da informazioni su viaggi precedenti l'insorgenza della malattia, ricostruire un' esposizione comune a L.pneumophila avvenuta in un edificio dell'Indiana Memorial Union in Bloomington (U.S.A.) (16). In sostanza, Legionella spp è da considerarsi un microorganismo a diffusione cosmopolita, e la malattia da essa provocata è presente in tutte le aree geografiche.

### 2.3 Legionellosi in Italia

Nel decennio giugno 1980 - giugno 1990, 542 casi di legionellosi sono stati notificati e successivamente confermati, presso il Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica dell'Istituto Superiore di Sanità (I.S.S.) a Roma. Per 249 di questi è stata possibile l'incorporazione nel Registro Nazionale della Legionellosi (vedere paragrafo 9.2), dato che la loro segnalazione è avvenuta con un adeguato corredo di dati epidemiologici. Come si vede nella Tabella 1, i soggetti maschi costituiscono il 76% del totale dei pazienti. Appare inoltre evidente una maggiore prevalenza della legionellosi in età presenile o senile (il 51% dei pazienti ha più di 50 anni).

La prima notizia di un'epidemia di Malattia dei Legionari

in Italia si deve ad autori danesi, i quali diedero notizia di 3 casi clinici confermati sierologicamente, e di altri sette verosimilmente riconducibili a legionellosi, in un gruppo di turisti danesi che avevano soggiornato in un albergo sul Lago di Garda nel luglio del 1978 (17).

L'anno seguente, tra giugno e settembre, venne identificata un'epidemia di 23 casi, di cui due ad esito letale, tra villeggianti comaschi in un albergo di Lido di Savio, (Ravenna). Sempre a Lido di Savio, nel luglio del 1981 il Communicable Disease Surveillance Centre (CDSC) di Londra notificò l'accertamento di un nuovo caso di legionellosi verificatori in un turista inglese, associato con un altro albergo italiano. Fu allora avviato ad opera dell'ISS e delle autorità sanitarie locali un programma di sorveglianza territoriale (18). Si rilevarono così, nel corso dello stesso anno, due episodi epidemici ed un "cluster" associati ad alberghi, per un totale di 18 casi. Nel periodo giugno-luglio del 1982 un nuovo "cluster" di due casi in cittadini inglesi venne notificato dal CDSC. In totale, tra il 1980 ed il 1982, a Lido di Savio furono documentati tre episodi epidemici e due "cluster" in tre alberghi distinti; in due di essi, gli episodi furono recidivanti, nonostante le precauzioni prese.

Da allora, le notifiche di caso si sono succedute piuttosto uniformemente nel tempo, praticamente da tutto il territorio nazionale (19).

E' forse opportuno ricordare che più casi d'infezione con-

tratto nel medesimo luogo danno adito ad "epidemie" qualora il numero dei casi ecceda quelli che la stima dei livelli endemici farebbe attendere; in caso contrario è più corretto parlare di "cluster".

La più importante epidemia (1984-85) di polmonite da legionella insorta a seguito di acquisizione nosocomiale venne riconosciuta presso l'Ospedale delle Molinette, Torino, ove si verificarono 18 casi, tra pazienti ricoverati in diversi reparti. La sorgente d'infezione venne identificata nell'acqua dell'impianto idrico (20). Altri 30 casi nosocomiali sono stati notificati da vari ospedali. In tutta la Penisola si sono inoltre avuti diversi focolai epidemici e clusters legati ad acquisizione in abitazioni private o in alberghi (19). Diversi casi, in tutto 54, di infezione da Legionella si sono avuti anche tra viaggiatori e turisti. Gli episodi più significativi sono occorsi nel 1986 a Paestum, nel 1987 a Folgaria (21), e nel 1990 all'Isola d'Ischia (dati in corso di pubblicazione). Un riepilogo dei principali focolai epidemici di legionellosi verificatisi nel nostro Paese è fornito nella Tabella 2.

Tabella 1.

---

DISTRIBUZIONE DI 249 CASI DI LEGIONELLOSI SEGNALATI AL 30-06-1990,  
PER GRUPPO DI ETA' E PER SESSO.

---

| ETA'  | SESSO  |         | Totale | (%)  |
|-------|--------|---------|--------|------|
|       | Maschi | Femmine |        |      |
| 0-19  | 17     | 8       | 25     | 10   |
| 20-29 | 15     | 4       | 19     | 7.5  |
| 30-39 | 29     | 5       | 34     | 13.5 |
| 40-49 | 38     | 6       | 44     | 17.5 |
| 50-59 | 42     | 9       | 51     | 20.5 |
| > 60  | 49     | 27      | 76     | 31   |

---

(da: Castellani Pastoris M., Benedetti P., Greco D. 1991. Dieci  
anni di legionellosi in Italia (giugno 1980-giugno 1990). Ann.Ist.  
Super.Sanità, 27:289-296, 1991.

Tabella 2.

| FOCOLAI EPIDEMICI DI LEGIONELLOSI IN ITALIA (1980-1990) |                    |          |            |    |          |
|---------------------------------------------------------|--------------------|----------|------------|----|----------|
| ANNO/LOCALITA'                                          | LUOGO DI INFEZIONE |          |            |    | NON NOTO |
|                                                         | OSPEDALE           | ALBERGO  | ABITAZIONE |    |          |
| 1980, 1981-82/Lido di Savio (RA)                        |                    | 43 (2+)  |            |    |          |
| 1983/Rimini (FO)                                        | 3 (1+)             |          |            |    |          |
| 1983/Ascoli Piceno                                      |                    |          |            |    | 5        |
| 1984/Torre Pedrera (FO)                                 |                    | 3        |            |    |          |
| 1984-85/Torino                                          | 18 (18+)           |          |            |    |          |
| 1986/Paestum (SA)                                       |                    | 3 (1+)   |            |    |          |
| 1986/Maldola (FO)                                       |                    |          |            | 2  |          |
| 1986/Monza (MI)                                         |                    |          |            | 3  |          |
| 1986/Molveno (TN)                                       |                    | 2        |            |    |          |
| 1987/Roma                                               |                    |          |            | 5  |          |
| 1987/Folgarida (TN)                                     |                    | 6        |            |    |          |
| 1990/Iaola d'Iachia (NA)                                |                    | 4 (2+)   |            |    |          |
| TOTALE CASI:                                            | 97                 | 21 (19+) | 61(5+)     | 10 | 5        |

+ Decesso

(da: Castellani Pastoris M., Benedetti P., Greco D. 1991. Dieci anni di legionellosi in Italia (giugno 1980-giugno 1990). Ann.Ist. Super.Sanità, 27: 289-296, 1991.

#### 2.4 Siti epidemici e sorgenti d'infezione

Evidente è la tendenza dei casi di legionellosi a raggrupparsi in aree geografiche piuttosto ben definite (13, 22, 23) e, nel caso degli edifici, a prediligere quelli con elevata frequenza umana. Episodi sono ad esempio ripetutamente accaduti in ambienti collettivi a residenza temporanea, come ospedali od alberghi (1, 16, 24, 25).

Inizialmente, negli Stati Uniti, venne individuata una possibile fonte di infezione nell'aerosol liberato dagli impianti di raffreddamento dell'acqua dei grandi sistemi centralizzati di condizionamento dell'aria. L'ipotesi è stata dimostrata per certe epidemie americane come quelle avvenute a Pontiac (8), Memphis (26) ed Eau Claire (27); in altri casi l'associazione è più equivoca e l'isolamento di L.pneumophila potrebbe riflettere soltanto una diffusa contaminazione ambientale, di cui gli impianti non sarebbero che occasionali indicatori.

I casi di polmonite da legionella, sia sporadici che epidemici, si manifestano prevalentemente nei mesi estivo-autunnali. Sembra ormai accertata la possibilità di acquisire l'infezione per via inalatoria, mediante inalazioni di microscopiche goccioline o particelle di polvere contenenti i germi (28).

Si è frequentemente rilevata la diffusa presenza di L.pneumophila negli impianti idraulici dell'acqua potabile, sia calda che fredda, ed è stato ripetutamente ipotizzato che l'infezione

avvenga per formazione di aerosols contaminati durante l'uso di docce, rubinetti, idromassaggi, fontane, oppure attraverso la nebulizzazione del germe dai sistemi di condizionamento dell'aria in specie dalle torri di raffreddamento (vedere paragrafo 4.2) (29,30,31,32).

Non è ancora chiaro quali siano e come agiscano i fattori che consentono l'esposizione all'agente eziologico, ma ci sono buone ragioni per credere che siano connessi: clima caldo-umido, venti frequenti e sollevamento di polveri, ad esempio, durante lavori di scavo.

I soggetti portatori di deficit del sistema immunitario sono ovviamente maggiormente suscettibili all'infezione (vedere al capitolo 5).

La trasmissione interumana non è stata mai dimostrata, e viene considerata improbabile.

Legionella fa parte di un gruppo eterogeneo di patogeni polmonari per i quali l'ambiente naturale è la sola sorgente di infezione (33); in particolare, la sua presenza è stata accertata in acque dolci di superficie, ad es. ambienti lacustri e corsi d'acqua (34, 35).

La capacità che questo batterio ha di riprodursi nell'ambiente naturale, in contrasto con la sua estrema difficoltà a crescere su terreni di coltura artificiali, sarebbe in parte spiegata dai rapporti mutualistici che esso intrattiene con alcune specie di alghe verdi-azzurre di acqua dolce (36). Si è osservata

una sopravvivenza di L.pneumophila in acque superficiali per periodi anche maggiori di 250 giorni (36).

Legionella viene anche isolata, con sempre maggiore frequenza, in ambienti artificiali, quali piscine ed idromassaggi, nonché dall'acqua di rubinetti a temperatura maggiore di 20 e inferiore a 58°C (37,38,39).

Anche in Italia, i casi di malattia sembrano prevalentemente correlarsi alla presenza di legionelle nell'acqua degli impianti idrici, mentre i sistemi di condizionamento dell'aria e le torri di raffreddamento degli edifici non sono a tutt'oggi stati individuati come fonti d'infezione, pur essendo da entrambi avvenuto l'isolamento del microorganismo.

## 2.5 Rischio d'infezione

Il rischio di acquisizione della malattia è principalmente correlato a due fattori: la suscettibilità del soggetto esposto ed il grado di intensità dell'esposizione.

Studi condotti sull'animale da esperimento (40) hanno ad es. evidenziato che nella cavia l'inalazione di circa  $10^4$  legionelle provoca polmonite ad esito infausto, mentre la carica batterica richiesta per produrre simile effetto nel ratto è di circa  $10^7$ . Va tuttavia tenuto conto della possibilità che il germe si moltiplichi all'interno dei polmoni fino a livelli di  $10^8$  batteri, stimolando conseguentemente una risposta immune specifica; tale rispo-

sta sembra di notevole efficacia nell'animale, potendo circoscrivere l'infezione allo stadio abortivo. In questo caso, l'infezione è documentata unicamente dal movimento anticorpale.

E' ragionevole pensare che fenomeni simili abbiano luogo anche nell'uomo: una carica batterica anche relativamente bassa può provocare malattia nei soggetti a reattività immunologica compromessa, mentre cariche molto più consistenti devono essere inalate dai soggetti immunocompetenti perchè essi sviluppino la malattia.

L'espressione clinica dell'infezione è legata all'interazione tra le caratteristiche dei microorganismi inalati (virulenza e carica infettante) e suscettibilità individuale dell'ospite (41).

Possono sicuramente aver luogo infezioni sub-cliniche documentate dalla sieroconversione specifica in soggetto precedentemente non immune.

Non si sono finora potuti acquisire dati definitivi sul livello di esposizione in grado di provocare la malattia nell'uomo, come pure sulla significatività di altri fattori quali ad es. le differenze di virulenza tra le varie specie di Legionella.

La suscettibilità nella popolazione è generale, ma solo circa la metà delle infezioni è associata a manifestazioni cliniche evidenti.

La probabilità di ammalarsi di legionellosi aumenta con l'età: la malattia è rara nei primi venti anni, poi la prevalenza aumenta fino a valori 60 volte più elevati tra i 50 e gli 80 anni.

Il rapporto maschi/femmine per le legionellosi sporadiche è 2,6:1 (10,42).

### 3. CARATTERISTICHE DELLE LEGIONELLE

#### 3.1 Introduzione

La causa più frequente di legionellosi risulta essere L.pneumophila, ma diverse altre specie di legionelle sono state associate alla malattia. L'infezione avviene per inalazione di aerosols contaminati, e quindi la presenza di questi microorganismi nell'acqua con cui l'uomo viene a contatto comporta un rischio di infezione. Il livello di esposizione può essere ridotto diminuendo il numero di legionelle nell'ambiente in causa e mantenendolo ai valori più bassi possibili.

Al fine di applicare misure di controllo efficaci è necessario conoscere i fattori che influiscono sul comportamento delle legionelle nell'ambiente associato all'uomo e ne permettono la sopravvivenza e/o la moltiplicazione.

#### 3.2 Caratteri generali

I batteri appartenenti al genere Legionella hanno per lo più forma bastoncellare, con dimensioni varianti da 0,3 a 0,9  $\mu\text{m}$  di diametro e 2-20  $\mu\text{m}$  di lunghezza, ma possono presentarsi anche in

forma coccoide o ovale. Sono aerobi, gram-negativi, mobili, acido resistenti, e non formano spore o cisti. Possono presentare flagelli polari o laterali. Una caratteristica particolare è la presenza di acidi grassi ramificati nella membrana cellulare.

Altri caratteri delle legionelle sono di seguito elencati:

- si sviluppano solo in presenza di cisteina
- non fermentano il glucosio
- non riducono i nitrati
- sono ureasi negative
- sono ossidasasi variabili
- sono catalasi positive
- non idrolizzano l'ippurato, ad eccezione di poche specie
- producono B-lattamasi (la maggioranza delle specie)
- sono autofluorescenti (alcune specie).

A tutt'oggi ne sono state descritte 27 specie, alcune delle quali con due o più sierogruppi. Legionella spp. è stata isolata da materiale organico di pazienti, dall'ambiente confinato (acqua di impianti idrici, di impianti per il condizionamento dell'aria), e dall'ambiente naturale (corsi d'acqua, laghi, suolo, liquami).

### 3.3 Fattori e condizioni di crescita

#### 3.3.1 Fattori di crescita e fonti di energia

Un terreno chimicamente definito che permette la crescita di L.pneumophila contiene almeno 10 aminoacidi, tra cui la L-cistei-

na (43,44). Enzimi e vitamine non sono essenziali; è invece necessaria la presenza di ferro e tracce di altre sostanze inorganiche, comunemente richieste dai microorganismi.

Solo un numero limitato di composti viene utilizzato come unica fonte di carbonio e di energia (principalmente alcuni aminoacidi come ad es. serina, treonina e glutammato). Altri composti possono essere usati come fonte di energia ma con scarso risultato. Il glucosio e gli altri zuccheri semplici non vengono utilizzati. Il ruolo dell'alfa-chetoglutarato non è chiaro.

### 3.3.2 Terreni di coltura

L.pneumophila può raggiungere da 1 a  $2,5 \times 10^9$  UFC/ml in un terreno chimicamente definito contenente 18-20 aminoacidi, o in terreno contenente 15 g/litro di peptone proteosi (44,45).

### 3.3.3 Batteri

Alcuni tipi di batteri, come ad es. Flavobacterium breve, permettono la crescita di L.pneumophila su terreno di coltura privo di cisteina (46).

### 3.3.4 Amebe

L.pneumophila è in grado di moltiplicarsi all'interno di alcune specie di amebe e di altri protozoi vivi, e potrebbe in tal modo sopravvivere nonostante la presenza di sostanze ad azione antibatterica (47).

### 3.3.5 Alghe

L.pneumophila è in grado di moltiplicarsi anche all'interno di alcune specie di alghe. E' stata isolata da organismi raccolti in un impianto idrico (36), e co-culture di legionelle con diverse specie di alghe sono state ottenute sperimentalmente in laboratorio (48). E' probabile che le alghe possano fornire le sostanze necessarie per la crescita delle legionelle.

### 3.3.6 Temperatura

I dati in letteratura riportano limiti di temperatura di crescita piuttosto variabili. L'optimum si ha intorno ai  $36^{\pm} 1^{\circ}\text{C}$ , anche se in certe condizioni la moltiplicazione è più rapida a  $42^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3.7 Acidità

Il pH ottimale per la crescita in terreno di coltura è di circa 7. In natura, tuttavia, Legionella è in grado di moltiplicarsi a valori di pH compresi tra 5,5 e 9,2 (49).

## 3.4 Fattori e composti ad azione battericida

### 3.4.1 Temperatura

Temperature di  $50^{\circ}\text{C}$  e oltre provocano la morte delle legionelle. A  $50^{\circ}\text{C}$  si ha una riduzione di 1/10 del numero di batteri, in tempi di esposizione variabili da 2,4 a 216 minuti per legio-

nelle di specie diverse (50).

### 3.4.2 Disinfettanti

Occorre tenere presente che non è possibile estrapolare i risultati ottenuti in laboratorio (su terreni di coltura) a quanto avviene nell'ambiente naturale, molto più povero di sostanze nutritive.

Cloro e ipocloriti sembrano dotati di maggior attività su Legionella, anche se ne è documentata una relativa resistenza nell'acqua calda.

Il biossido di cloro ( $\text{ClO}_2$ ) ha sulle legionelle un'azione minore che su E.coli.

L'ozono ( $\text{O}_3$ ) a bassa temperatura è notevolmente efficace. I composti di ammonio quaternario sono poco attivi. Una certa attività è stata osservata da parte della luce ultravioletta, anche se inferiore a quella esercitata su altri microorganismi, quali ad es. P.aeruginosa e E.coli.

Il citrato e altre sostanze chelanti il ferro inibiscono la crescita di Legionella; la loro azione si svolge in condizione di non saturazione con ferro di questi composti (51).

Anche l'EDTA ha azione inibente (43).

#### 4. PRESENZA DI LEGIONELLA NELL'AMBIENTE

##### 4.1 Ambiente naturale

Legionella è un microorganismo ubiquitario in natura. E' stata isolata da fango, acqua di laghi e corsi d'acqua a temperature comprese tra 5,7 e 63°C ed a pH compresi tra 5,4 e 8,1, anche a concentrazione di  $10^6$  microorganismo per litro (35).

Alcuni fattori fisici sembrano favorirne la moltiplicazione, quali ad es. le alte temperature (35 - 45°C) che si possono ad esempio realizzare nelle acque termali, oppure in caso di stagnazione, di formazione di sedimento e di presenza di sostanze biodegradabili.

Il suo frequente isolamento da acque condottate a fini di potabilità può spiegarsi in base alla loro provenienza da varie fonti naturali; in questo caso le legionelle sembrano in grado di sopravvivere ai processi di depurazione e potabilizzazione. Alternativamente, esse possono contaminare l'acqua durante lavori di costruzione o di riparazione degli impianti. Inoltre, la presenza nelle acque naturali di alghe, protozoi ed alcune specie di batteri facilita la loro sopravvivenza e moltiplicazione (vedere paragrafo 3.3).

## 4.2 Ambiente artificiale

### 4.2.1 Impianti idrici

Varî studi hanno evidenziato la capacità di Legionella di moltiplicarsi nell'acqua (in particolare calda) di impianti prevalentemente a grandi dimensioni, quali quelli di alberghi e ospedali; è tuttavia possibile la colonizzazione di impianti anche più piccoli, come ad esempio quelli delle abitazioni private.

Le condizioni favorenti la moltiplicazione dipendono da fattori fisici e biologici, quali: adatta temperatura dell'acqua, lungo tempo di ritenzione (come si verifica in caso di stagnazione o ricircolazione), formazione di sedimento, presenza di altra flora microbica che formi sottili strati di mucillagine o biofilm aderendo alla superficie interna di tubature o serbatoi (52), presenza di sostanze biodegradabili derivate da parti in gomma o in silicone (53,54).

Per quanto sopra detto, è importante focalizzare l'attenzione sulla più elevata "pericolosità" degli impianti ove la distanza tra fonte di calore e punto di erogazione dell'acqua è maggiore. Un'altra interessante considerazione riguarda la potenzialità di ristagno dell'acqua negli scaldabagni, ove essa si accumuli a temperatura pressochè costante e non molto elevata.

### 4.2.2 Impianti di condizionamento dell'aria

Legionelle sono state isolate da torri di raffreddamento, da

dispositivi per il condizionamento dell'aria, e da umidificatori dell'aria nei sistemi di ventilazione. Questi dispositivi possono quindi costituire un potenziale serbatoio di infezione per l'uomo (vedere paragrafo 10.3).

#### 4.2.3 Piscine e idromassaggi. Fontane.

Nei casi di colonizzazione da Legionella di piscine e/o idromassaggi, si porrà immediatamente il sospetto di un'inadeguata clorazione e/o pulizia dei filtri; si riconferma importante la presenza di uno o più fattori favorenti la crescita del microorganismo (temperatura, stagnazione, presenza di alghe e flora microbica, materiale usato per la costruzione degli impianti).

Le fontane possono costituire una fonte primaria d'infezione, proporzionalmente al ricircolo dell'acqua ed all'entità della nebulizzazione legata ai getti d'acqua.

Non è a tutt'oggi noto il ruolo epidemiologico svolto da tutti gli impianti sopra citati.

In Italia (19), fin dal 1980, hanno avuto luogo studi sulla presenza di legionella negli impianti idrici di alberghi e ospedali, dei quali numerosi sono risultati colonizzati da una o più specie del microorganismo; tali studi si sono intensificati a partire dal 1983, anno in cui è stata resa obbligatoria la denuncia di malattia, ed è stato istituito presso l'Istituto Superiore di Sanità un Programma Nazionale di Sorveglianza della legionel-

losi (vedere paragrafo 9.2).

Legionelle sono state isolate anche da abitazioni private e dall'acqua di fontanella da giardino (19).

Isolamenti si sono ottenuti soprattutto dall'acqua calda, ma anche dall'acqua fredda degli impianti. Molti di questi siti contaminati erano possibile causa di produzione di aerosols sia direttamente (docce, rubinetti) sia indirettamente (umidificatori a bolle d'ossigeno connessi agli impianti per la respirazione assistita negli ospedali). La temperatura dell'acqua calda era di solito inferiore ai 55-60°C ed il livello di cloro insufficiente (da 0,1 a 0,3 mg/litro di cloro libero).

Sono anche state isolate legionelle da impianti di condizionamento dell'aria, ma senza associazione evidente a casi di infezione nell'uomo.

Non sono riportati in Italia isolamenti da piscine, da vasche per idromassaggio, mentre sono riferiti isolamenti da acque termali (55).

#### 4.3 Valutazione del rischio di infezione per via inalatoria

Le principali fonti di infezione per l'uomo sembrano essere gli impianti idrici che forniscono acqua calda a rubinetti e docce, e gli impianti per il condizionamento dell'aria (torri di raffreddamento, condensatori ad evaporazione, umidificatori dell'aria), anche se, sulla base delle attuali conoscenze, è

difficile quantizzare il rischio che da esse possono scaturire.

L'eventualità che un soggetto contragga una polmonite da legionella può dipendere da diversi fattori, come ad es. la suscettibilità individuale e l'intensità dell'esposizione (vedi paragrafo 2.5). Un fattore importante sono le dimensioni delle goccioline d'acqua (contenenti legionella) sospese nell'aria e formanti l'aerosol; gocce di diametro inferiore a 5  $\mu$  raggiungono più facilmente le basse vie respiratorie (56). La dose infettante può variare tra i singoli soggetti, tuttavia cariche di legionelle comprese tra  $10^2$  e  $10^4$ /litro sono ritenute idonee a provocare il caso di infezione all'anno. Cariche comprese tra  $10^4$  e  $10^6$  possono provocare molteplici casi sporadici (57).

Il rischio è particolarmente elevato in pazienti ospedalizzati, in soggetti debilitati (20), in viaggiatori e turisti (21).

Sulla base di quanto detto, non è quindi improbabile che l'uso della doccia sia causa di infezione se nell'acqua vi sono alte cariche di legionella. Per quanto riguarda i rubinetti, il rischio teorico è lo stesso, e dipende dall'entità del getto di acqua e dalla formazione di spruzzi.

Per quanto riguarda gli impianti di condizionamento dell'aria, la loro possibile implicazione come fonte di infezione dipende dal volume di aria interessato e dal numero relativo di batteri per metro cubo, nonché dalla quantità di acqua circolante nell'impianto. Questa può essere diffusa sia all'interno dell'e-

dificio che nell'ambiente esterno sotto forma di goccioline o di vapore acqueo. Correnti d'aria o particolari condizioni atmosferiche possono a loro volta essere responsabili del trasporto di aerosols contenenti legionelle a distanze variabili da pochi metri a vari chilometri (ad es. aerosols contaminati fuoriuscenti da un impianto possono entrare in un edificio situato nelle vicinanze attraverso le finestre aperte oppure dalla presa d'aria del sistema di ventilazione) (42).

## 5. IMMUNOPATOLOGIA E PATOGENESI

I microorganismi del genere Legionella sono in grado di moltiplicarsi a livello extracellulare e, facoltativamente, intracellulare. Quest'ultima eventualità può verificarsi quando piccole particelle di aerosol, contenenti germi viventi in fase replicativa, vengono inalate da un soggetto recettivo. Il cardine patogenetico della malattia è quindi il contatto tra il microorganismo e le cellule fagocitarie degli alveoli polmonari. L'adesione alle cellule "recettive" (ossia dotate di recettori specifici) è favorita da processi di chemiotassi e/o di motilità attiva legata alla presenza di flagelli e di pili. L'interazione di Legionella con gli elementi polimorfonucleati (PMN) è tuttora oggetto di discussione. Gli studi condotti "in vitro" hanno infatti dimostrato uno scarsissimo grado di attività fagocitaria e di uccisione dei batteri da parte dei PMN e di altri fagociti

professionali, qualora siano assenti gli anticorpi specifici; in presenza di tali anticorpi e di complemento, l'attività fagocitaria viene notevolmente stimolata, ma non aumenta significativamente la quota di uccisione dei batteri (58). Si ipotizza quindi che le legionelle possiedano una resistenza innata ai sistemi battericidi dei PMN, oppure che siano in grado di interferire con la produzione di sostanze battericide da parte di queste cellule. Questi dati non collimano però completamente con quanto si è osservato "in vivo". Dall'analisi delle varie frazioni di essudato alveolare prelevato dall'animale a 48h dall'infezione sperimentale, emerge che la maggior parte dei batteri contenuti nei PMN sono andati incontro a distruzione, mentre numerosi batteri intatti e in fase moltiplicativa sono reperibili nella frazione macrofagica (59). Quest'ultima osservazione si armonizza perfettamente anche con le osservazioni fatte "in vitro" a proposito della interrelazione della legionella con i monociti (o macrofagi). Ad esempio, è stato dimostrato che Legionella è in grado di moltiplicarsi attivamente all'interno dei monociti del sangue periferico (60), con un tempo di raddoppiamento di circa 2 ore; la moltiplicazione porta in definitiva alla lisi della cellula ospite ed alla liberazione del germe nell'ambiente circostante. E' ciò in parallelo al frequente reperto di un grande numero di legionelle in fase replicativa nel citoplasma dei macrofagi alveolari del polmone umano. Legionella appare in effetti molto ben adattata all'ambito macrofagico. In queste cellule, dopo la fagocitosi, il germe si

localizza nei fagosomi (61), e qui si moltiplica senza venire significativamente danneggiato dai sistemi citolitici del macrofago. E' stato tuttavia dimostrato che l'attivazione del macrofago con citochine, in particolare Interferon-gamma, aumenta notevolmente l'uccisione intramacrofagica di Legionella (62).

Studi istochimici su monociti infettati con L.pneumophila hanno dimostrato che il batterio inibisce il meccanismo di fusione dei lisosomi con i fagosomi, prevenendo in tal modo la liberazione degli enzimi battericidi nel vacuolo di digestione (63), analogamente a quanto osservato per Mycobacterium tuberculosis, Toxoplasma gondii e Chlamidia psittaci. La localizzazione intramacrofagica delle legionelle comporta rilevanti implicazioni nella terapia antimicrobica (vedere paragrafo 7.1).

L'induzione del danno organico in corso di legionellosi potrebbe quindi essere ricondotto a quattro momenti patogenetici fondamentali:

- 1) Il germe potrebbe produrre fattori "tossici", in grado di danneggiare sia il parenchima polmonare che le cellule leucocitarie. In effetti sono state isolate in supernatanti di colture, oppure in lisati batterici, varie tossine: ad es., un'emolisina e vari enzimi ad azione proteasica, esterasica, lipasica, fosfatase ed endonucleasica (64, 65, 66). Tuttavia, l'eventuale ruolo di queste molecole nella patologia attiva non è ancora stato del tutto chiarito, anche se è ragionevole ipotizzare che sintomi quali diarrea, confusione mentale, squilibri elettrolitici e

alterazioni transitorie della funzione epatica siano almeno in parte da riferire all'effetto di sostanze ad azione tossica.

2) Produzione di fattori della chemiotassi. Non si conosce nulla di specifico riferito alle legionelle, ma è stato ripetutamente osservato che batteri in fase logaritmica di crescita producono fattori ad azione chemiotattica nei confronti dei leucociti; questi fattori sono anche in grado di provocare la liberazione di enzimi lisosomiali dai leucociti stessi, con conseguente possibile danno tissulare (67).

3) La liberazione di enzimi proteolitici può essere realizzata anche dagli stessi batteri, con conseguente attivazione di alcune frazioni del complemento ( $C_4$  e  $C_5$  in particolare) che agiscono a loro volta come fattori chemiotattici (68).

4) Le legionelle contengono endotossine di natura polisaccaridica (69). Oltre a possedere un'intrinseca attività pirogenica, queste molecole sono in grado di attivare il Fattore XII come pure la via alternativa del complemento (69, 70). L'attivazione del fattore XII spiega la possibile formazione di grosse quantità di essudato fibrinoso durante la legionellosi, come pure il possibile manifestarsi di gravissimi quadri di coagulazione intravasale disseminata (CID). L'innescò della via alternativa del complemento genera invece energiche modificazioni della permeabilità vascolare e ulteriore diffusione di sostanze ad azione chemiotattica: questa somma di fenomeni elementari spiega bene il carattere eminentemente essudativo della flogosi polmonare in caso di legionellosi.

Non è stata finora fornita alcuna prova definitiva del coinvolgimento dell'immunità cellulo-mediata nella difesa contro l'infezione nell'uomo. Prove in tal senso sono però state ottenute in cavia (71). Tale tipo di immunità risulta costantemente coinvolta nella resistenza alla maggior parte delle infezioni batteriche, in particolare verso quei batteri a preminente localizzazione intrafagocitaria per cui è verosimile che si debbono condurre altri studi primi di giungere a conclusioni definitive.

## 6. CLINICA DELLE INFEZIONI DA LEGIONELLA

### 6.1 Nomenclatura

"Legionellosi" è il nome che si dà alla patologia causata da batteri del genere Legionella. Attualmente si riconoscono due forme cliniche fondamentali: una forma polmonare ed una malattia febbrile senza manifestazioni polmonari, la cosiddetta "febbre di Pontiac".

Seguendo le indicazioni del gruppo di lavoro appositamente riunito dall'Ufficio Europeo dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) (72), chiameremo "polmonite da Legionella" qualunque quadro pneumonico provocato da Legionella spp, e "Malattia dei Legionari" la polmonite epidemica dovuta a L.pneumophila sierogruppo 1, quale caratterizzata clinicamente ed epidemiologicamente durante l'epidemia di Philadelphia del 1976 (1).

## 6.2 Aspetti clinici e diagnostici dell'infezione da Legionella

L'infezione da Legionella può presentare un ampio "spettro" di manifestazioni cliniche: dall'infezione asintomatica evidenziata esclusivamente dalla sieroconversione, a blandi quadri respiratori di difficile diagnosi differenziale, fino alla grave polmonite, spesso rapidamente progressiva e con elevata letalità.

## 6.3 Polmonite da Legionella

I caratteri generali di questa pneumopatia sono quelli di una polmonite lobare, in genere di discreta gravità.

Dopo un'incubazione di 2-10 giorni, la forma classica si manifesta repentinamente con febbre spesso accompagnata da brividi, cefalea e mialgie. Caratteristicamente, può mancare una sintomatologia prodromica da interessamento delle alte vie respiratorie. Segni respiratori veri e propri cominciano ad apparire a qualche giorno di distanza, sotto forma di tosse, inizialmente poco produttiva e successivamente accompagnata da espettorato muco-purulento, ed eventualmente dispnea, emoftoe, dolore toracico (42,73).

I principali aspetti clinici della polmonite da Legionella, utili per la diagnosi differenziale con altre pneumopatie lobari, sono elencati nella Tabella 3, basata sui dati della letteratura internazionale più qualificata.

Tabella 3.

| PRINCIPALI MANIFESTAZIONI CLINICHE DELLA MALATTIA DEI LEGIONARI |                                         |             |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------|
| SINTOMI                                                         | CARATTERISTICHE                         | FREQUENZA % |
| FEBBRE                                                          | elevata, > 39°C                         | 75          |
| SINTOMI PNEUMONICI                                              | aspettorazione                          | 40          |
|                                                                 | dolore toracico                         | 30          |
|                                                                 | emoftoe                                 | 20          |
|                                                                 | rumori patologici                       | 75          |
|                                                                 | dispnea                                 | 45          |
| TOSSE                                                           | stizzosa, non produttiva                | 60          |
| BRIVIDI                                                         |                                         | 55          |
| SINTOMI NEUROLOGICI                                             | cefalea                                 | 35          |
|                                                                 | confusione mentale                      | 30          |
|                                                                 | altro                                   | 35          |
| SINTOMI DIGESTIVI                                               | nausea, vomito                          | 20          |
|                                                                 | diarrea                                 | 15          |
|                                                                 | dolori addominali                       | 10          |
|                                                                 | disfunzione epatica                     | 50          |
| MIALGIE                                                         |                                         | 30          |
| SEGNII DI DISFUNZIONE RENALE                                    | albuminuria, cilindruria, mioglobinuria | 30<br>5     |

La diagnosi differenziale con altre pneumopatie infettive può essere di una certa difficoltà, come del resto è dimostrato dalla difficoltà della diagnosi clinica dei casi sporadici di legionellosi. Criteri orientativi per la diagnosi differenziale possono considerarsi la presenza di febbre elevata, confusione mentale non

altrimenti giustificabile, interessamento simultaneo di vari apparati, in un quadro tossinfettivo di una certa entità. La risposta agli antibiotici beta-lattamici ed aminoglicosidici è di norma assai scarsa (74, 75). L'espettorato muco-purulento può non dimostrare alcuna specie microbica prevalente all'esame batterioscopico, e nessun patogeno predominante può emergere all'esame colturale (76).

In sede diagnostico-differenziale, andranno considerate soprattutto la febbre Q, la psittaco-ornitosi, la polmonite pneumococcica, la polmonite da Mycoplasma pneumoniae (77, 78). Di notevole valore l'inquadramento epidemiologico. La legionellosi è assai più frequente nel periodo estivo-autunnale, in soggetti che abbiano di recente soggiornato in ospedale o in strutture alberghiere; potrà essere suggestivo il dato di un contatto con uccelli esotici (psittaco-ornitosi) o con animali domestici (febbre Q). La polmonite da Mycoplasma pneumoniae tende in genere a colpire una fascia di età più giovanile. Inoltre, la presenza di agglutinine fredde ha valore patognomonico per questo agente eziologico.

Nella maggioranza dei casi, la febbre è elevata (attorno a 39.5° C), e vi sono segni di un grave stato tossinfettivo. Talora, il quadro può essere dominato da problemi extra-respiratori, quali obnubilamento del sensorio, delirio, o sindrome diarroica, mascherando il sospetto clinico di un primario interessamento polmonare (79, 80). L'obiettività toracica può essere costituita da rumori, sia secchi che umidi, nel 75% dei casi; più raramente, si possono

evidenziare aree circoscritte di ipofonesi in corrispondenza di zone di addensamento parenchimale o, più raramente, di focolai atelettasici (81).

Nella grande maggioranza dei casi è presente un notevole grado di dissociazione clinico-radiologica: alla scarsità di segni fisici corrisponde cioè un quadro radiologico generalmente rappresentativo. L'opacità ha più frequentemente carattere lobo-segmentario, ma può presentarsi anche sotto forma di ombreggiamento diffuso, o, raramente, di interessamento focale a margini sfumati (82). E' discretamente frequente il coinvolgimento di entrambi i polmoni; talora è possibile documentare, mediante il confronto di più radiogrammi, l'estensione della flogosi al polmone controlaterale. Di estrema rarità il riscontro di adenopatia ilare, oppure di lesioni bronco-cavitarie; quest'ultime si osservano, nella quasi totalità, in soggetti immuno-depressi (83).

Un dato ormai ampiamente acquisito è quello della lenta risoluzione radiografica della polmonite da Legionella, i cui reliquati possono essere ancora visibili vari mesi dopo la guarigione clinica. La persistenza eccessivamente lunga (per periodo > 6-12 mesi) di strie di opacità, oppure di un aspetto irregolare e disomogeneo del parenchima polmonare dovrebbe però suggerire la possibilità di un'evoluzione fibrotica, oppure la presenza di reliquati atelettasici (84, 85).

#### 6.4 Complicanze

L'insorgenza di complicanze è possibile in ogni fase di malattia, a carico di vari organi e apparati. La patogenesi può essere ricondotta ad un effetto tossico (endotossinico?) multisistemico, oppure alla propagazione dell'infezione ad altri distretti, per via linfo-ematogena. Non è stata sinora dimostrata la produzione di esotossine da parte del microorganismo, anche se un'ipotesi in tal senso è stata fatta considerando la comune presenza di disturbi del sensorio, in misura spesso non proporzionata all'entità dello stato febbrile (86).

##### 6.4.1 Complicanze respiratorie

Insufficienza respiratoria acuta può manifestarsi in un'elevata proporzione di casi; si raccomanda pertanto l'avvio di una ventilazione assistita in tutti i pazienti che presentino una preesistente compromissione della funzionalità respiratoria, e soprattutto ai primi segni di ipossia sistemica, documentabile ad esempio attraverso emogasanalisi (87).

Meno frequentemente, possono osservarsi pneumotorace, empiema, ascessualizzazione e reliquati fibrotici (77).

##### 6.4.2 Complicanze cardiache

E' documentato il possibile coinvolgimento della sierosa pericardica, talora con abbondante essudazione e possibile tam-

ponamento cardiaco; la malattia da Legionella può raramente presentare come prevalente quadro viscerale una pericardite ad essudazione massiva (88,89,90).

L'interessamento miocardico (91) ed endocardico è possibile nelle età estreme, o in soggetti a reattività immunitaria compromessa, o in presenza di particolari fattori predisponenti: ad esempio, è relativamente frequente l'impianto del germe su protesi valvolari, mentre non sono sino ad ora stati riportati casi di endocardite valvolare in organi anatomico-patologicamente indenni (92).

#### 6.4.3 Complicanze neurologiche

Disturbi del sensorio sono presenti in almeno 1/3 dei casi. Il reperto più frequente è quello di cefalea, confusione mentale ed anche delirio, talora di grado tale da far sospettare un interessamento encefalitico. Non sono invece stati descritti quadri meningei, e l'esame del liquido cefalo-rachidiano prelevato mediante rachicentesi è sempre risultato nella norma (93,94). Possibili, ma rare, complicazioni quali atassia cerebellare (95) e neuropatia periferica, talora con reliquati permanenti (96).

#### 6.4.4 Complicanze renali

Sono di frequente rilievo lievi anormalità di alcuni parametri ematici di funzionalità renale e dell'esame delle urine; viceversa, è di raro riscontro un'insufficienza renale di grado

tale da richiedere terapia (97).

Di rarissima documentazione una glomerulonefrite focale (da immunocomplessi?) (98), o episodi mioglobinurici (99).

#### 6.4.5 Altre complicanze

Sono state descritte artrite settica, anemia ipoplasica, anemia emolitica autoimmune, porpora trombocitopenica (da immunocomplessi), rash cutanei, pancreatite, sinusite (100,101).

La sovrainfezione o la coinfezione da Legionella spp. con altri agenti patogeni ha un effetto aggravante la prognosi, e andrà sempre sospettata qualora il paziente, in presenza di appropriata terapia specifica, non manifesti un miglioramento sufficientemente rapido.

#### 6.5 Febbre di Pontiac ed altre manifestazioni non polmonari

Deve considerarsi l'espressione acuta, non polmonare, dell'infezione da Legionella. E' così chiamata dalla località dove è avvenuto il primo episodio descritto (7).

A tutt'oggi solo quattro specie, L.pneumophila (7), L.felii (102), L.anisa (103) e L.micdadei (104), sono riportate come agente eziologico di questa forma. Non è ancora stata definita la causa del differente quadro clinico, sostenuto dallo stesso agente eziologico della forma polmonare. In questo caso siamo di fronte ad una condizione autolimitantesi, simil-influenzale, in cui hanno

particolare rilievo i reperti soggettivi di cefalea, sintomi da raffreddamento, dolenzia toracica e mialgie diffuse, e quelli obiettivi di febbre molto elevata ( $39.5^{\circ}\text{C}$  ed oltre) conitata da brividi, e tosse stizzosa (7, 105). L'incubazione è molto breve (in genere 36-48 ore), e la sintomatologia ha in genere inizio brusco. La diagnosi viene per lo più effettuata retrospettivamente, con il rilievo della sieroconversione, e la terapia è esclusivamente sintomatica, data anche la benignità dell'affezione.

Altre manifestazioni non-polmonari della legionellosi possono essere considerate primitive, in quanto decorrono in assenza di qualsiasi interessamento respiratorio, e non possono pertanto essere considerate alla stregua di complicanze della forma polmonare.

E' stato documentato, ad esempio, interessamento isolato del tronco encefalico esprimentesi clinicamente con letargia, diplopia, disartria e parestesie (106). Casi di interessamento miocardico acuto, senza alcun segno di compromissione polmonare, sono stati segnalati in età pediatrica (107). Nota è anche la possibilità di contaminazione, da parte di Legionella spp., delle ferite, anche chirurgiche (108). Questo fatto assume un'importanza particolare, dato che si configura un'acquisizione nosocomiale di tale infezione, in modo particolare nei reparti di dialisi o lungodegenza (109).

## 7. TERAPIA DELLA LEGIONELLOSI

E' opportuno considerare l'ipotesi di trattamento della polmonite da Legionella in presenza di diagnosi conclamata, come pure il caso (più comune) in cui la diagnosi sia soltanto presuntiva, e sussistono problemi di differenziazione con altri quadri respiratori.

### 7.1 Polmonite da Legionella

E' dimostrata la sensibilità "in vitro" delle legionelle a numerosi antibiotici, ad es. rifampicina, eritromicina, aminoglicosidici, tetraciclina (doxaciclina), cefalosporina (cefotaxima), cloramfenicolo, altri antibiotici  $\beta$ -lattamici e cotrimoxazolo (110). Gli studi "in vitro" hanno altresì evidenziato una maggiore sensibilità alla rifampicina (MIC di ca. 0,03 mg/ml), seguita dalla eritromicina (MIC di ca. 0,2 mg/ml). E' dimostrabile la produzione di beta-lattamasi od altri enzimi (74,111); è ipotizzabile che la relativa resistenza agli antibiotici beta-lattamici possa essere dovuta anche ad una scarsa accessibilità del germe, contenuto all'interno dei fagociti (fagosomi) (112).

Nella patologia umana, Legionella è infatti dimostrabile prevalentemente in localizzazione intracellulare; pertanto, il criterio-guida nella valutazione dell'efficacia dei vari antibiotici è la loro diffusibilità, particolarmente a livello di polimorfonu-

cleati neutrofili e macrofagi polmonari (113,114,115). A questo proposito, è stato rilevato che, a differenza della benzil-penicillina, l'eritromicina (ed i suoi derivati più recenti) subisce a livello dei polimorfonucleati un processo di concentrazione attiva (116). Dal confronto di vari studi di pratica clinica, condotti in varie parti del mondo emerge il dato di una maggiore affidabilità della terapia condotta con eritromicina. Il trattamento andrà proseguito per almeno 3 settimane, al fine di non incorrere in ricadute o recidive. Possibili effetti indesiderati possono riscontrarsi in sede gastrointestinale (se la terapia è assunta per via orale: 2 g. eritromicina/die come dose massima) o localmente, con flebite in sede di inoculo, qualora sia stata scelta la terapia parenterale, ossia nei casi di polmoniti di gravità media o elevata (117). Qualora il paziente dimostri intolleranza al farmaco, esso potrà essere vantaggiosamente sostituito con la doxiciclina, che dimostra elevata liposolubilità.

La rifampicina, invece, non deve mai essere somministrata da sola, per la possibile insorgenza di resistenza. Pertanto, verrà associata alla eritromicina nei casi complicati da immunodepressione o dalla presenza di ascessi polmonari (79). Tra gli antibiotici di recente sintesi, sembrano particolarmente promettenti i chinolonici, di cui però non possediamo ancora sufficiente esperienza clinica (118).

Oltre alla terapia specifica, grande valore hanno gli interventi di supporto, in particolare la correzione dell'ipossia con masche-

ra ad ossigeno, o addirittura mediante respirazione assistita. Nei casi a carattere ipertossico e con maggiore compromissione ventilatoria è indicato il ricovero in unità di terapia intensiva.

La prognosi dipende sostanzialmente dalle condizioni di base del paziente e dal tipo di trattamento instaurato: in presenza di terapia opportunamente istituita, la mortalità si aggira tra il 5 ed il 15% in soggetti precedentemente in buone condizioni generali, mentre può raggiungere il 70-80% in soggetti debilitati o immunocompromessi (76,119).

In molte occasioni è necessario, o comunque opportuno, provvedere ad una copertura antibiotica senza l'ausilio di accertamenti diagnostici effettuati in precedenza. La maggior parte dei pazienti con polmonite ad eziologia non specificata, di lieve entità, risponde egregiamente ad antibiotici a largo spettro, quali l'amoxicillina e il cotrimoxazolo. Nei soggetti a grave interessamento pneumonico è indispensabile avviare immediatamente i principali accertamenti batteriologici, al fine di iniziare il più precocemente possibile una terapia mirata; andrà sempre tenuta presente la possibilità di un'infezione da Legionella, impiegando pertanto gli opportuni terreni di coltura. Nella patologia spontanea, le più probabili cause di polmonite grave sono, oltre alla legionellosi, la polmonite pneumococcica, la febbre Q, la psittacco-ornitosi, e la polmonite da Mycoplasma pneumoniae; sono questi i quadri, come si è visto, che pongono più frequentemente problemi di diagnosi differenziale. In tutti questi casi, comunque, dosi

abbondanti di penicillina (4-8 mil U./die) o eritromicina (2-4 g/die), date in associazione, sono in grado di fornire una buona copertura iniziale. Nei pazienti con interessamento polmonare cronico, nei quali è più comune il manifestarsi di sovrainfezioni da Haemophilus influenzae, la penicillina può essere vantaggiosamente sostituita dall'ampicillina (2-4 g/die). In caso di allergia alle penicilline, l'eritromicina (o derivati) andrà somministrata da sola, in dosi maggiorate.

Qualora, in presenza di grave interessamento pneumonico, gli esami routinari di sangue, espettorato ed altri fluidi organici risultino negativi, l'ipotesi di legionellosi dovrà essere riconsiderata, aggiungendo rifampicina alla terapia precedentemente istituita.

Particolari problemi sono posti dalla gestione di una polmonite di acquisizione nosocomiale, sia in termini clinici che preventivi. In questo caso, lo spettro di patogeni potenzialmente in gioco è molto più ampio. Oltre ai germi Gram negativi (oltre il 50% di tutti gli isolamenti), potranno essere implicati tutti i piogeni (più comunemente Staphylococcus aureus), i protozoi (Pneumocystis carinii) ed i miceti (particolarmente Aspergillus e Candida). La precisa definizione eziologica del quadro clinico è della massima importanza; essa andrà ricercata anche con mezzi d'indagine invasivi, qualora i primi accertamenti microbiologici e sierologici abbiano dato risultato negativo: ricorderemo in particolare il valido apporto tecnico del broncolavaggio nella

definizione di molte broncopneumopatie ad eziologia non specificata. In previsione delle difficoltà diagnostiche, sarà inoltre richiesta una copertura antibiotica di ampio spettro, ad es. una cefalosporina di terza generazione, eventualmente associata ad un aminoglicosidico (al esempio la gentamicina).

In alcuni casi (pazienti trapiantati) è stata tentata una chemioprofylassi con eritromicina per os, con buoni risultati (120); l'esperienza in tale campo è comunque limitata, e non è consigliabile l'attuazione di tale presidio su larga scala.

E' forse opportuno ricordare anche in questa sede che, nel caso di acquisizione nosocomiale delle legionellosi, si dovranno concentrare gli sforzi al fine di individuare la sorgente d'infezione, e di effettuarne l'immediata bonifica. Inoltre, nonostante non vi sia tuttora una convincente dimostrazione della trasmissione interumana della malattia, sarà opportuno trattare la materia organica proveniente dal paziente (specialmente nei primi stadi di malattia, e in modo particolare l'aspettorato) come se fosse potenzialmente infettiva.

## 7.2 Febbre di Pontiac

Per questa manifestazione, dato il carattere di assoluta benignità, non è praticamente indicata terapia eziologica (121). Gli interventi saranno volti al trattamento sintomatico della febbre, della cefalea, della mialgie e degli altri disturbi simil-influenzali.

## 8. DIAGNOSI DI LABORATORIO

### 8.1. Introduzione

La diagnosi di laboratorio della legionellosi non è una scienza del tutto esatta; tuttavia, va considerata complemento indispensabile alle prove diagnostiche non di laboratorio. Molti autori hanno accettato come criterio diagnostico un reperto colturale positivo, altri si sono basati su criteri epidemiologici. Gli studi sulla validità dei tests diagnostici sono stati inizialmente ostacolati dalla mancanza di una precisa definizione di caso di malattia. Questo ha reso tra l'altro particolarmente difficile la determinazione della sensibilità e specificità assoluta delle prove di laboratorio.

Poichè la Malattia dei Legionari è una malattia a bassa prevalenza, la specificità delle prove di laboratorio deve essere prossima al 99,9% per permettere una diagnosi attendibile dei casi sporadici.

Prove con una sensibilità apparentemente elevata, come il 75% (ad es. nel caso della massa in evidenza di legionelle nell'espettorato), sono di scarsa utilità quando si tratta di escludere la malattia, a causa della loro relativamente bassa specificità.

La complessità della diagnosi di laboratorio consiste inoltre nella difficoltà di isolare e identificare il germe in tempi relativamente brevi, e nella comparsa sovente molto tardiva degli

anticorpi, per cui talvolta è possibile fare una diagnosi solo retrospettivamente.

Negli ultimi anni, sono stati fatti notevoli progressi, e ognuno dei metodi proposti ha dimostrato vantaggi e svantaggi. L'esistenza di diverse specie e sierogruppi ha reso il metodo colturale sempre più valido, in quanto non dipendente da caratteri immunologici del germe, tuttavia esso richiede tempi lunghi (10-15 giorni). L'evidenziazione del microorganismo con l'immunofluorescenza permette una diagnosi rapida, ma richiede una batteria di antisieri di cui solo un piccolo numero è disponibile in commercio. Metodi descritti in anni più recenti ma ancora allo stato sperimentale, quali la ricerca dell'antigene nelle urine e l'uso delle sonde di DNA, sembrano promettere una semplificazione della diagnosi e la possibilità di tempi brevi. I metodi sierologici invece si sono rivelati più complessi del previsto, a causa sia delle differenze che delle comunanze antigeniche tra legionelle, e della reattività crociata tra legionelle ed altri microorganismi.

Legionella spp è un microorganismo aerobio, gram-negativo, mobile, di forma cilindrica o coccoide, appartenente alla famiglia delle Legionellaceae, genere Legionella. Anche se tra la maggioranza degli Autori è prevalso il concetto dell'esistenza di un unico genere Legionella, alcuni hanno proposto la descrizione di altri due generi: Tatlockia e Fluoribacter (122). In questo testo sarà adottato il concetto di genere unico. A tutt'oggi sono state descritte 27 specie, alcune delle quali presentano più sierogrup-

pi, identificati per mezzo di antisieri iperimmuni monospecifici che reagiscono con la membrana esterna del germe.

Uno schema di subtipizzazione monoclonale è stato messo a punto per L.pneumophila sierogruppo 1 (123); questo schema comprende sottogruppi e sottotipi, alcuni dei quali sembrano essere più virulenti di altri.

## 8.2 Diagnosi colturale

La diagnosi colturale è da 1,5 a 3 volte circa più sensibile dell'immunofluorescenza diretta (IFD) e 1,5 volte più sensibile della diagnosi sierologica, qualificando questo metodo come il più specifico e sensibile dei metodi diagnostici. La sua specificità è molto vicina al 100%. Legionella non cresce sui terreni di coltura normalmente usati in laboratorio, soprattutto a causa della dipendenza dalla L-cisteina per la sua moltiplicazione. Il terreno che attualmente si usa è costituito da agar tamponato contenente carbone attivo, estratto di lievito, L-cisteina, pirofosfato ferrico, L-chetoglutarato, ed è commercializzato con la sigla BCYE agar (124). Il terreno può essere reso selettivo con l'aggiunta di sostanze ad azione antibatterica ed antimicotica. Si trovano in commercio supplementi selettivi contenenti cefamandolo, polimixina B e anisomicina (BMPA) (124) oppure glicina, polimixina B, anisomicina, vancomicina, blu di bromotindolo e porpora di bromocresolo (MWY) (125,126,127). Questi terreni

possono inibire la crescita di alcune specie di Legionella, come ad es. L.micdadei, che producono B-lattamasi.

Per ottenere il migliore risultato conviene utilizzare in parallelo terreno non selettivo e terreno selettivo. Inoltre, il trattamento con calore (128) o con acido (129) del campione da esaminare aumenta la selezione anche se può diminuire la resa.

Caratteristiche colonie grigio-azzurre compaiono da 4 a 10 giorni dopo incubazione a 37°C in camera umida. Le colonie sospette vengono controllate per la loro dipendenza dalla L-cisteina (non crescono in assenza di L-cisteina), e tipizzate per la specie ed il sierogruppo con antisieri specifici. Le caratteristiche biochimiche e la determinazione del profilo di acidi grassi della membrana cellulare possono permettere una ulteriore tipizzazione nell'ambito della specie.

### 8.3 Evidenziazione del microorganismo per mezzo dell'immunofluorescenza

Con l'immunofluorescenza diretta (IFD) o indiretta (IFI) su materiale prelevato ai pazienti è possibile confermare la diagnosi di polmonite da Legionella entro poche ore. La tecnica richiede una certa esperienza ed ha una sensibilità che varia dal 25% al 60% rispetto al metodo colturale. La specificità può essere buona (anche del 99%), ma dipende dal metodo di preparazione degli antisieri, ed è più elevata per L.pneumophila. La ragione della

limitata sensibilità di una IFD rispetto al metodo colturale può dipendere dal fatto che in quest'ultimo caso viene esaminato un campione di volume molto maggiore (rispettivamente, 5 e 100 ul).

Inoltre, la fase della malattia ed il trattamento seguito, l'esperienza nella lettura del preparato, le dimensioni del preparato stesso ed il tempo dedicato alla sua lettura influiscono sul rendimento del metodo. In ogni caso, comunque, un risultato IFD e IFI negativo non esclude la presenza della malattia, nè deve escludere il ricorso al metodo colturale.

In commercio sono disponibili antisieri policlonali per evidenziale L.pneumophila con l'IFD, e un anticorpo monoclonale. I reagenti policlonali possono presentare reazioni crociate con Pseudomonas spp e con Bacteroides fragilis, mentre il reagente monoclonale è più specifico. Inoltre quest'ultimo reagisce con tutti i sierogruppi di L.pneumophila, mentre i reagenti policlonali hanno una reattività più limitata. Tuttavia, poiché l'anticorpo monoclonale non reagisce uniformemente con L.pneumophila in campioni di tessuto fissati in formalina per periodi prolungati, per questo tipo di materiale conviene utilizzare i reagenti policlonali.

I reagenti IFD o IFI usati per evidenziare specie di Legionella non pneumophila presentano alcuni inconvenienti. La loro sensibilità non è stata studiata estesamente in campioni clinici di casi con diagnosi accertata, anche se non vi sono motivi validi per ritenere che siano meno sensibili dei reagenti per L.pneumo-

phila.

Tuttavia, lo scarso numero di casi di polmonite dovuti alle specie non pneumophila confermati batteriologicamente inficia l'esattezza di qualsiasi valutazione. Questi reagenti sembrano inoltre avere una scarsa specificità.

Occorre infine segnalare la possibilità di risultati falsamente positivi dovuti a legionelle o a batteri che abbiano con esse comunanze antigeniche presenti nell'acqua, nei tamponi, nei prodotti usati per fissare i preparati, o nei reagenti.

#### 8.4. Messa in evidenza dell'antigene nelle urine

Almeno l'80% dei pazienti con Malattia dei Legionari causata da L.pneumophila sierogruppo 1 presenta un antigene solubile nelle urine. Diversi metodi quali il metodo immunoenzimatico (ELISA), quello radioimmunologico (RIA), o l'agglutinazione sono di potenziale utilità per una diagnosi rapida (130). ELISA e RIA sembrano avere un elevato grado di specificità, e possono essere usati in uno stadio precoce della malattia. Tuttavia, poiché alcuni pazienti possono eliminare l'antigene per un lungo periodo (in modo intermittente forse anche per 1 anno) dopo che la malattia è stata trattata (131), risulta difficile distinguere tra infezione acuta, fase di convalescenza, o ancora infezione pregressa. Il trattamento antibatterico non sembra ridurre significativamente le possibilità diagnostiche, almeno a breve o medio termine.

### 8.5 Ibridazione del DNA

Permette una diagnosi precoce, ma come l'IFD e la ricerca dell'antigene nelle urine non esclude un contemporaneo controllo colturale. Mediante questa tecnica è possibile mettere in evidenza tutte le specie di Legionella, sia da coltura su piastra che in campioni clinici (132). La sensibilità varia dal 60 al 75% (è maggiore per L.pneumophila che per le altre specie) e la specificità è del 99-100%. Può creare alcune difficoltà in laboratori dove non vi sia pratica di utilizzazione dei radioisotopi, anche se la quantità di radioattività contenuta nel reagente è bassa.

### 8.6. Diagnosi sierologica

La risposta specifica dell'organismo all'infezione da Legionella dà luogo alla formazione di anticorpi evidenziabili nel siero dei pazienti. Un aumento del livello anticorpale di almeno quattro volte, oppure un titolo elevato (ad es.  $\geq 256$ ) in un siero singolo tardivo vengono comunemente considerati diagnostici. Le prove sierologiche, tuttavia, danno sovente solo un contributo retrospettivo alla diagnosi a causa dell'intervallo esistente tra l'inizio dei sintomi e la comparsa degli anticorpi in quantità significativa; detto intervallo può variare da 10 giorni a 6-9 settimane (133,134). Inoltre, nel caso di un campione di siero singolo o di titolo anticorpale costante è difficile distinguere

tra infezione in atto o infezione pregressa poiché livelli anticorpali anche abbastanza elevati possono talvolta persistere per mesi.

La sensibilità di una sierodiagnosi è stata valutata intorno al 70-80%, anche se per legionelle diverse da L.pneumophila sierogruppo 1 non si hanno dati precisi. La risposta anticorpale all'infezione da Legionella può essere multipla per quanto riguarda la classe delle immunoglobuline. Aumenti di titolo verso i vari antigeni specifici ed a reattività crociata possono essere dovuti a diverse classi di immunoglobuline (M, G e A), singolarmente o combinate tra di loro. Poco si conosce circa la comparsa delle diverse immunoglobuline durante il decorso della malattia, e per quanto riguarda L.pneumophila, sembra non esserci differenza di specificità tra le varie classi. In linea generale, come in altre infezioni, le IgM compaiono di solito precocemente, e diminuiscono durante la convalescenza, quando vengono sostituite dalle IgG, che possono persistere anche per anni. Tuttavia, occasionalmente, possono essere presenti solo le IgM o solo le IgG, oppure possono persistere al lungo le IgM. Le IgA possono essere presenti in infezioni recenti, ma vanno rapidamente incontro a degradazione (135). Per questo motivo, qualsiasi metodo diagnostico utilizzato dovrebbe essere in grado di mettere in evidenza sia le IgG che le IgM.

Un altro carattere variabile è il modo in cui si sviluppano gli anticorpi. In molti pazienti la risposta è strettamente

sierogruppo-specifica, altri invece mostrano una risposta più ampia con un aumento anticorpale per più di un sierogruppo della stessa specie o per specie diverse (136,137). E' difficile in questi casi fare una diagnosi precisa, anche se talvolta l'aumento degli anticorpi omologhi è maggiore rispetto agli altri.

Il principale ostacolo connesso ai metodi basati sulla ricerca degli anticorpi è quello dei falsi risultati, negativi o positivi. Per quanto numerosi pazienti con polmonite da Legionella abbiano difese immunitarie compromesse, solo raramente non è possibile evidenziare un aumento significativo del livello anticorpale. Secondo uno studio fatto negli Stati Uniti, invece, questi casi possono arrivare al 20% (138). Vi sono infatti situazioni di Malattia dei Legionari accertata batteriologicamente, cioè con l'isolamento di Legionella, ma senza livelli anticorpali significativi. Anche il periodo talvolta molto lungo necessario per una sieroconversione può dar luogo ad una diagnosi falsamente negativa. Solo in una piccola percentuale di pazienti si è osservato un movimento anticorpale con significato diagnostico nella prima settimana di malattia (139,140,141). Di conseguenza, non si deve scartare il sospetto di legionellosi se non è stato controllato e trovato negativo un campione tardivo di siero (almeno 6 settimane). Inoltre, per quanto detto in precedenza, l'applicazione di un metodo o l'uso di un reagente (es. le Ig fluorescenti) che evidenzia solo una classe di immunoglobuline può erroneamente portare ad un risultato negativo.

La sieroconversione può anche non essere rilevata se viene usato un antigene non omologo. L'esistenza di più di 55 tipi antigenici, e le possibili differenze antigeniche esistenti tra ceppi diversi fanno sì che gli anticorpi verso un ceppo di Legionella possano non essere messi in evidenza, oppure possano dare titoli bassi, se controllati con una sospensione antigenica preparata con un ceppo di tipo diverso (135).

Il secondo aspetto del problema è quello dei risultati falsamente positivi. La specificità di una sieroconversione è elevata ed è del tutto adeguata per gli studi epidemiologici. Tuttavia può essere talvolta causa di errori diagnostici nel caso di malattia sporadica a bassa prevalenza. La specificità della reazione sierologica è più elevata per Legionella pneumophila, soprattutto di sierogruppo 1, e meno buona per altre specie quali ad es. Legionella gormanii, Legionella bozemanii e Legionella micdadei (142,143). Risultati falsamente positivi sono probabilmente dovuti a reazioni crociate con altri microorganismi gram-negativi (143,144,145). Inoltre, anticorpi anti-Legionella dovuti a infezione da Pseudomonas aeruginosa sono stati descritti in pazienti con fibrosi cistica (146,147), e pazienti con tubercolosi possono avere anticorpi che reagiscono con specie di Legionella non-pneumophila (142).

In linea di massima, comunque, si può dire che la specificità di una sierodiagnosi in caso di sieroconversione è variabile dal 96 al 100%.

Vari metodi sono stati proposti per la diagnosi sierologica delle infezioni da Legionella, ma a tutt'oggi l'immunofluorescenza indiretta è il test più comunemente usato e meglio standardizzato (133,139,148,149,150). Diversi fattori possono tuttavia influenzarne i risultati. Piccole differenze di sensibilità e specificità si possono avere a seconda del metodo di preparazione dell'antigene. L'antigene formulato è da alcuni ritenuto più specifico di quello trattato al calore (149,151). L'antigene trattato con fenolo presenta la stessa sensibilità e specificità di quello inattivato al calore, ma il primo dà una lettura più facile (152). In ogni caso, le differenze di specificità nei metodi di preparazione dell'antigene non sono tali da giustificare la comune adozione di uno di essi (153). Altri fattori, quali il tipo di coltura eseguito (ad es. in uova embrionate o su differenti terreni sintetici), i preparati fluorescenti messi in commercio da Ditte diverse, le differenze di manualità attuate nei vari laboratori, possono influire sui risultati, sicchè questi non sono più confrontabili. Con l'immunofluorescenza indiretta si possono evidenziare diverse classi di immunoglobuline. Per poter mettere in evidenza livelli anticorpali di ogni tipo è bene perciò usare reagenti comprendenti tutte e tre le classi di Ig. Per quanto riguarda Legionella pneumophila sierogruppo 1, si considera generalmente accertato un caso in cui vi sia stato un aumento anticorpale di almeno 4 volte fino ad un titolo  $\geq$  128, in campioni di siero prelevati in tempi adeguati. Poichè livelli anticorpali

anche abbastanza elevati possono talvolta persistere per mesi, un titolo singolo oppure costante  $\geq 256$  viene attribuito ad infezione presunta da Legionella in un tempo non determinato. Questa valutazione tuttavia può variare per diversi motivi. In una popolazione dove l'infezione è endemica, il titolo singolo significativo per la diagnosi di legionellosi in atto si innalza, mentre durante un episodio epidemico anche titoli pari a 128 accompagnati da sintomatologia polmonare possono essere considerati significativi. In Italia il livello anticorpale per Legionella pneumophila sierogruppo 1 nella popolazione sana, riferito a due gruppi campione in zone apparentemente non endemiche, è piuttosto basso (154).

Altri metodi di più facile applicazione, e metodi che possono essere automatizzati, stanno ottenendo un certo successo. Sfortunatamente questi metodi non sono stati ancora rigorosamente standardizzati utilizzando sieri epidemici o di casi ben definiti, nè vi sono sufficienti studi sulla loro specificità in pazienti con polmonite non causata da Legionella. Tra questi, la microagglutinazione (MA) (148,155,156,157), che viene ormai applicata con una certa frequenza, e il metodo immunoenzimatico (ELISA) (155, 158,159), piuttosto promettente. Entrambe sono più specifiche per anticorpi anti-Legionella pneumophila di sierogruppo 1 piuttosto che di altri sierogruppi, e per anticorpi verso altre specie di Legionella.

La MA è una prova rapida, semplice ed economica che permette di evidenziare anticorpi appartenenti essenzialmente alla classe M

(IgM) (160). E' una tecnica facilmente eseguibile e dà in genere una risposta corrispondente alla fase iniziale della malattia, anche se vi sono casi in cui si negativizza solo molto tardivamente.

Il metodo immunoenzimatico (ELISA) non viene per ora usato routinariamente ma solo per ricerche particolari. E' stato recentemente utilizzato per la ricerca delle IgM specifiche, in vista di un possibile impiego come metodo di diagnosi rapida. Tuttavia, l'elevata sensibilità della reazione può comportare una discreta frequenza di risposte aspecifiche a causa di antigeni comuni, tra diverse specie di legionelle oltre che con microorganismi appartenenti ad altri generi. L'ideale sarebbe ottenere delle frazioni antigeniche estremamente purificate specie-specifiche e gruppo-specifiche.

Ancora allo stato sperimentale è l'applicazione dell'immunoblotting alla ricerca di anticorpi specifici nei pazienti con polmonite da Legionella (161,162). Con questo metodo viene messa in evidenza prevalentemente la risposta anticorpale verso i componenti lipopolisaccaridici (LPS) di membrana, che sembrano trovarsi quasi esclusivamente nei sieri dei pazienti con la Malattia dei Legionari, mentre si evidenziano scarsamente gli anticorpi verso le componenti proteiche, che si trovano anche in sieri di popolazione normale o in pazienti con infezioni causate da altri batteri Gram-negativi.

Altri metodi quali la fissazione del complemento (163), l'e-

moagglutinazione indiretta (164), l'immunodiffusione (165), l'immuno-elettroforesi (166), ed un metodo immunofluorometrico (167) sono stati descritti per la diagnosi della legionellosi, ma per il momento non hanno avuto seguito.

In conclusione, pur tenendo conto delle limitazioni presentate dai metodi attualmente a disposizione, e del fatto che frequentemente gli anticorpi specifici sono evidenziabili ad un livello significativo solo dopo che il soggetto ammalato è sopravvissuto ad alcuni giorni di malattia, si può ritenere che una diagnosi sierologica di legionellosi sia possibile con un buono, ma non eccellente, grado di sensibilità e specificità, soprattutto in presenza di un quadro clinico sospetto. Tuttavia, poichè sovente il clinico si trova in condizione di dover decidere il trattamento, con ovvie conseguenze sulla evoluzione della malattia, prima di avere a disposizione dei risultati utili, è sempre consigliabile ed opportuno eseguire contemporaneamente anche un esame culturale.

## 9. SORVEGLIANZA DELLA LEGIONELLOSI

### 9.1 Considerazioni metodologiche

L'importanza di una ben organizzata attività di sorveglianza della legionellosi è evidente se si considera che il pronto riconoscimento dei focolai epidemici può consentire una rapida identificazione delle possibili fonti ambientali di contagio e permettere l'attivazione di appropriate misure di controllo dell'infezione. Un efficiente apparato di diagnosi e segnalazione dei casi consente dunque un'adeguata valutazione del "fenomeno legionella", sia da un punto di vista epidemiologico che clinico-nosologico; date inoltre le particolari modalità di acquisizione del microorganismo, un'efficiente sorveglianza della legionellosi comporta interventi di ordine igienico-sanitario, estesi all'ambiente, sia naturale che confinato.

La misura fondamentale da attuare è l'avvio di un sensibile sistema di sorveglianza sui casi, che prevede la conferma diagnostica, secondo le procedure precedentemente discusse, e l'eventuale conferma di situazione epidemica.

Una precisazione diagnostica ai fini della sorveglianza necessita in via preliminare della formulazione di una definizione di caso in senso epidemiologico. Dato che, in linea generale, i sanitari tendono a non far uso di procedure invasive per il prelievo di campioni dalle vie respiratorie inferiori, ed i

tentativi di isolare Legionella dall'espettorato non hanno dato esito soddisfacente, il riconoscimento della malattia è spesso ottenuto attraverso le prove sierologiche. Queste ultime richiedono, come abbiamo visto, un tempo di sieroconversione che ne inficia la significatività soprattutto in situazioni di potenziale epidemia. E' molto importante, quindi, che la definizione di caso sia comprensiva di un certo numero di reperti significativo dal punto di vista clinico. I riferimenti essenziali sono già scaturiti dalla prima, grande epidemia di Philadelphia (1): un'affezione respiratoria grave, a prevalente configurazione pneumonica, caratterizzata da tosse e febbre elevata ( $T > 38.5^{\circ}\text{C}$ ), che non risulta trasmissibile per contatto interpersonale e appare acquisita per via aerogena da una sorgente di contaminazione ambientale dove far porre il sospetto diagnostico di legionellosi, in attesa di riconferma tramite esame radiografico del torace ed altre procedure opportune. Nei pazienti che rispondono alla definizione di caso, si dovrà provvedere alla raccolta di tutte le informazioni utili ai fini epidemiologici e biostatistici: età, sesso, gruppo etnico, tipo di occupazione, livello sociale, viaggi recentemente effettuati, ambienti frequentati per lavoro o a scopo ricreativo, precedenti degenze in ospedale, inizio del ricovero ospedaliero in corso al momento dell'osservazione (168). Soprattutto nelle manifestazioni sporadiche, l'acquisizione di queste informazioni può fare emergere qualche associazione significativa con una possibile sorgente di infezione ed eventuali modalità di

acquisizione. Tali ipotesi potranno poi essere eventualmente saggiate mediante l'impostazione di studi di epidemiologia analitica (es.: caso-controllo). Un'altra importante estensione dell'indagine epidemiologica può essere effettuata mediante la ricerca attiva di eventuali casi ("case-searching"), ai fini di allargare la popolazione oggetto di studio, e assegnare conseguentemente maggior validità alle associazioni di carattere statistico-epidemiologico. Si può pervenire a tale scopo mediante, ad esempio, un attento esame delle cartelle cliniche di ricovero ospedaliero relative alla data corrente, e retrospettive di qualche settimana, oppure attraverso il controllo nel tempo di una coorte di turisti che abbiano soggiornato in un albergo a partire dall'apertura stagionale.

In presenza di un caso sporadico, non è invece previsto l'avvio di una vera e propria indagine di igiene ambientale svolta nell'abitazione o nell'ambiente di lavoro del paziente, dato che la dimostrazione di Legionella negli impianti idrici non ha praticamente significato epidemiologico: come abbiamo visto in precedenza, la presenza del microorganismo è infatti assai comune nella maggior parte degli edifici, sia pubblici che privati.

Il discorso cambia se un caso di legionellosi si manifesta in un soggetto ospedalizzato da almeno 10 giorni; in questa circostanza, è sempre indicato un esame estensivo di tutte le possibili fonti ambientali di contagio, al fine di attivare quanto prima le opportune misure di controllo (169). Possibili obiezioni a questa

linea di condotta sono la scarsa sensibilità delle indagini microbiologiche per l'identificazione della sorgente d'infezione, ed il costo elevato dell'applicazione a lungo termine delle misure di contenimento dell'infezione su tutti i siti ambientali riconosciuti contaminati. Probabilmente, in un futuro non lontano, l'affinamento di tecniche batteriologiche, di subtipizzazione mediante anticorpi monoclonali o isoenzimi, oppure il riconoscimento di sequenze genomiche o di "markers" di infettività, potranno permettere una più rapida individuazione delle possibili fonti di contagio.

L'effettuazione di accurate indagini ambientali s'impone sempre, invece, quando venga riconosciuto un cluster epidemico di malattia da Legionella. Dato che gli apparati di distribuzione della acqua calda sembrano costituire, in Europa, la fonte più comune di epidemie circoscritte, il primo atto da svolgere è il prelievo di campioni dagli impianti idrici. I prelievi dovranno essere possibilmente effettuati lungo tutto il decorso della catena di distribuzione dell'acqua, dalle tubazioni da carico derivanti dall'acquedotto fino ai rubinetti dell'acqua calda o alle cipolle delle docce. Con particolare cura andranno studiati i distretti di possibile ristagno idrico, nei quali la formazione di incrostazione calcaree è più comune: cassoni, serbatoi di distribuzione, caldaie (169,170). Se l'impianto è provvisto di un dispositivo di ricircolazione dell'acqua, il campionamento andrà effettuato in prossimità delle valvole di immissione e di fuoriru-

uscita dell'acqua dallo shunt (ossia più vicino alle resistenze elettriche, dato che lo sviluppo di Legionella è relativamente favorito dalla temperatura) (171). Non è stato ancora unanimamente stabilito il volume ideale del campione da prelevare: nel Regno Unito si tende convenzionalmente a raccogliere quantità di circa 5 litri, e ciò è oltremodo ragionevole in quanto la disponibilità di volumi adeguati di liquido da analizzare facilita le successive indagini microbiologiche (42). Contemporaneamente all'effettuazione del prelievo, si provvederà a registrare la temperatura dell'acqua in corrispondenza di ciascun sito di campionamento; per ciò che riguarda i rubinetti dell'acqua calda, la temperatura andrà registrata immediatamente dopo il prelievo, e dopo circa 3 minuti di scorrimento dell'acqua, al fine di ottenere un valore più rappresentativo della temperatura media del liquido in tutto l'impianto. E' utile anche lo studio delle caratteristiche dell'acqua fredda ai livelli di distribuzione (rubinetti e docce). Inoltre, poichè le piscine termali, gli idromassaggi o gli umidificatori dell'aria possono costituire un potenziale serbatoio microbiologico sarà utile effettuarne una campionatura mirata, specialmente in corrispondenza dei tubi di raccordo, dei gorgogliatori d'acqua o di eventuali filtri.

Uno degli aspetti maggiormente discussi in ambito di legionellosi è l'opportunità dell'attuazione sistematica di procedure di sorveglianza ambientale, ricercando routinariamente la presenza di Legionella spp. negli impianti idrici mediante esami colturali.

Per quanto già detto in precedenza, infatti, emerge con una certa continuità una notevole discrepanza tra il numero di casi di malattia incidenti in un dato periodo, ed il numero di segnalazioni di positività dai campioni prelevati in contemporaneità. Si può pertanto concludere che la presenza di un serbatoio ambientale è la "conditio sine qua non" per il verificarsi di casi d'infezione, ma occorre sempre considerare il concorso di altri fattori, quali: virulenza del ceppo batterico, adeguato incremento della carica batterica (importanza dei meccanismi "amplificanti"), efficace distribuzione e trasmissione del microorganismo ad un ospite provvisto di buona recettività individuale (168; vedere anche paragrafo 2.5). Effettivamente, è di comune accettazione che la recettività alla legionellosi sia soggetta a notevoli variazioni individuali; del resto, la dinamica della risposta immune specifica non è stata ancora sufficientemente chiarita (vedere anche al capitolo 5). La ricerca sistematica di Legionella negli impianti idrici ha quindi valore controverso sia in ambito squisitamente epidemiologico che in sede di ragionamento preventivo: la negatività della ricerca potrebbe suscitare una tranquillità non giustificata, mentre la positività di alcuni campioni non è sufficiente per poter deliberare sulla presenza di un effettivo sito ambientale a rischio.

E' invece sempre auspicabile una maggiore sensibilizzazione al "problema Legionella" da parte del personale sanitario: un atteggiamento più vigile in tale senso potrebbe, se non eliminare,

senza dubbio attenuare i problemi di sottonotifica attualmente assai evidenti nel nostro Paese, i quali sono a loro volta responsabili di potenziali, gravi distorsioni nell'elaborazione epidemiologica dei dati provenienti dalla popolazione.

## 9.2 Sistema di notifica e registrazione dei casi

I primi casi di legionellosi sono stati riconosciuti in Italia nel 1980, anno in cui avvenne anche il riconoscimento del primo focolaio epidemico, sulla costa adriatica (172,173). A partire da quella data, il problema è stato portato alla conoscenza dei sanitari dei centri clinici, e, parallelamente alle difficoltà di riconoscimento clinico della malattia, è emersa l'esigenza di una appropriata conferma di laboratorio delle ipotesi diagnostiche eventualmente formulate. L'Istituto Superiore di Sanità (Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica), in qualità di organo consultivo dell'Amministrazione Sanitaria Centrale, ha presto assunto compiti di coordinamento e di riferimento diagnostico-microbiologico su scala nazionale. I Centri clinici provvedono all'invio al Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica di campioni organici (siero, espettorato, materiale biotico e/o autotico, broncoaspirati, etc.), utilizzati, quando necessario, per la diagnosi di prima istanza, o, più in generale, per la conferma di un'ipotesi diagnostica formulata su base clinica e accertata mediante le prove sierologiche e coltu-

rali. Vengono anche inviati all'Istituto Superiore di Sanità sospetti ceppi di legionelle per la tipizzazione, e materiale ai fini dell'isolamento del germe.

Da tale attività di ricerca centralmente coordinata è scaturita una sempre maggiore consapevolezza al problema, che divenne presto oggetto dell'attenzione ministeriale. Nel 1983 (DM 7.02.83) il Ministero della Sanità provvedeva all'incorporazione della legionellosi tra le malattie infettive soggette ad obbligo di denuncia. Quasi contemporaneamente, si veniva a configurare il ruolo centrale dell'Istituto Superiore di Sanità anche nell'ambito dell'attività di sorveglianza e di studio epidemiologico, attraverso l'avvio di un Programma Nazionale di Sorveglianza della Legionellosi, presso il Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica (LEB), ove veniva anche istituito il Registro Nazionale della Legionellosi.

Il nucleo centrale della sorveglianza epidemiologica delle legionellosi nel nostro Paese è quindi la notifica del caso, riconosciuto e confermato, al Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, mediante un'apposita scheda di segnalazione, della quale è riportato un fac-simile nelle pagine seguenti. La scheda di segnalazione contiene in primo luogo i dati anagrafici del paziente, ed alcune informazioni di fondamentale interesse biostatistico, come il luogo di residenza, l'occupazione, l'indirizzo del luogo di lavoro. Una sezione del formulario è poi dedicata agli aspetti clinici del caso: vengono riportate, nel-

l'ordine, la data di insorgenza dei primi sintomi di malattia, quella del ricovero ospedaliero, e quella di dimissione. Accanto all'esito della malattia (guarigione, miglioramento, decesso, o dato non disponibile) sono inoltre registrate le principali manifestazioni cliniche del caso, concedendo particolare rilievo a quelle di classico valore diagnostico (febbre, brividi, tosse, dolori toracici, diarrea, dolori addominali, confusione mentale, etc.), ma prevedendo anche la possibilità di una descrizione per esteso di altri eventuali sintomi di rilievo. Altri spazi sono previsti per informazioni di carattere terapeutico, in particolare relative ai farmaci antibiotici impiegati. La sezione successiva del questionario prevede un ulteriore approfondimento epidemiologico del caso: eventuali cure dentarie ricevute nelle due settimane precedenti l'insorgenza della malattia, eventuali ricoveri ospedalieri, o soggiorni avvenuti nello stesso periodo in luoghi estranei alla propria abitazione. Si è ritenuto di raccogliere anche altri dati considerati di una certa importanza nella valutazione delle abitudini del paziente, quali ad esempio l'assunzione di farmaci o il fumo. In calce alla scheda è riportato uno schema riepilogativo del materiale spedito dal medico notificatore all'Istituto Superiore di Sanità, con a lato i relativi responsi forniti dal personale tecnico del Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica.

Tutte le informazioni contenute nel formulario possono essere facilmente trasportate su apparato informatico appositamente

predisposto, ossia "software" di personal computer, che consente l'immagazzinamento delle informazioni in una specifica banca-dati. Ciò rende possibile un'agevole elaborazione, la produzione di periodici rapporti o pubblicazioni sullo stato della legionellosi nel nostro Paese, nonché la gestione del Registro contenente la totalità dei casi nazionali, debitamente diagnosticati e confermati, di cui siano giunti anche gli opportuni dettagli di carattere clinico-statistico-epidemiologico.

Tra l'Istituto Superiore di Sanità ed i Centri clinici e diagnostici periferici è attivo un rapporto di collaborazione "a doppia mandata", che prevede anche lo scambio di informazioni relative al caso e di materiali e reattivi per la conferma diagnostica, nonché la consulenza dei tecnici dell'Istituto qualora ne venga richiesto l'intervento da parte dell'Autorità Sanitaria. Tale intervento avviene anche in occasione delle eventuali manifestazioni epidemiche, ai fini di un approfondimento delle misure di sorveglianza e di un coordinamento iniziale delle misure di controllo da adottare, decise in concerto con le Autorità Sanitarie Locali.

NON COMPIARE

N. scheda \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

N. schede \_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'  
SORVEGLIANZA DELLA LEGIONELLOSI

1. COGNOME E NOME DEL PAZIENTE: \_\_\_\_\_
2. DATA DI NASCITA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ 3. SESSO (1)M. (2)F.
4. INDIRIZZO ABITAZIONE: \_\_\_\_\_
5. OCCUPAZIONE: \_\_\_\_\_
6. INDIRIZZO DEL LUOGO DI LAVORO: \_\_\_\_\_
7. DATA DI INSORGENZA DEI PRIMI SINTOMI: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
8. DATA DI RICOVERO IN OSPEDALE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
9. DATA DI DIMISSIONE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
10. IL PAZIENTE E': (1) guarito  
(2) migliorato  
(3) morto in data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
(4) non so
11. IL PAZIENTE HA AVUTO LE SEGUENTI MANIFESTAZIONI CLINICHE:
 

|                                         |        |        |            |
|-----------------------------------------|--------|--------|------------|
| Febbre                                  | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Brividi                                 | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Tosse                                   | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Dolori toracici                         | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Diarrea                                 | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Dolori addominali                       | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Confusione mentale                      | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Polmonite                               | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Infiltrato                              | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Funzionalità epatica alterata           | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Funzionalità renale alterata            | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
| Altre rilevanti manifestazioni cliniche | (1) Si | (2) No | (3) Non so |
- Se si, specificare \_\_\_\_\_
- Malattie concomitanti \_\_\_\_\_
12. ANTIBIOTICO PRINCIPALE USATO PER LA TERAPIA: \_\_\_\_\_
13. IL PAZIENTE HA RICEVUTO CURE DENTARIE NELLE DUE SETTIMANE  
PRECEDENTI L'INSORGENZA DELLA MALATTIA: (1) Si (2) No (3) Non so

14. IL PAZIENTE E' STATO IN OSPEDALE PER QUALSIASI MOTIVO DURANTE LE DUE SETTIMANE PRECEDENTI L'INSORGENZA DELLA MALATTIA:

(1) Si (2) No (3) Non so

Se si, specificare in quale ospedale: \_\_\_\_\_

Specificare il periodo: dal \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ al \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

15. NELLE DUE SETTIMANE PRECEDENTI L'INSORGENZA DELLA MALATTIA E'

STATO FUORI CASA PER ALMENO UNA NOTTE: (1) Si (2) No (3) Non so

Se si, specificare (albergo, campeggio, terme, ecc.) ed indicare il luogo: \_\_\_\_\_

specificare il periodo: dal \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ al \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

16. IL PAZIENTE PRENDEVA FARMACI PRIMA DELL'INSORGENZA DELLA MALATTIA: (1) Si (2) No (3) Non so

17. IL PAZIENTE FUMA: (1) Si (2) No (3) Non so

Se si, specificare cosa (sigarette, pipa, ecc.) e la quantità giornaliera: \_\_\_\_\_

Se no, specificare se il paziente ha fumato in passato e per quanti anni: \_\_\_\_\_

NOME, COGNOME, INDIRIZZO E RECAPITO TELEFONICO DEL MEDICO CHE HA FORNITO QUESTE INFORMAZIONI: \_\_\_\_\_

\*\*\*\*\* MATERIALE INVIATO: \*\*\*\*\*

|              | Data prelievo      | Titolo IFA |
|--------------|--------------------|------------|
| Siero ( ) 1° | ____ / ____ / ____ | 1: ____    |
| ( ) 2°       | ____ / ____ / ____ | 1: ____    |
| ( ) 3°       | ____ / ____ / ____ | 1: ____    |
| ( ) 4°       | ____ / ____ / ____ | 1: ____    |

Risultati ISS:

| IFA     | MA      |
|---------|---------|
| 1: ____ | 1: ____ |
| 1: ____ | 1: ____ |
| 1: ____ | 1: ____ |
| 1: ____ | 1: ____ |

Altro, specificare (sputo, aspirato, tessuto) \_\_\_\_\_

Data prelievo: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Isolamento \_\_\_\_\_ fluorescenza diretta \_\_\_\_\_

NOME DEL MEDICO CHE HA INVIATO I CAMPIONI \_\_\_\_\_

Data compilazione presente scheda e/o invio campioni:

## 10. MISURE DI PREVENZIONE E CONTROLLO

### 10.1 Introduzione

Una necessaria premessa alla discussione sulle misure da adottare in materia di prevenzione e controllo della legionellosi è il maggior risalto conferito in questa sede ai problemi connessi agli impianti idrici e di umidificazione dell'aria. Nel nostro Paese, infatti, non è finora emerso il rischio di disseminazione di Legionella spp. attraverso le torri di raffreddamento ("cooling towers") degli impianti di condizionamento. Proprio questo fatto potrebbe contribuire a spiegare il mancato verificarsi, in Italia, di esplosioni epidemiche di una certa entità. Sono gli impianti di condizionamento e gli umidificatori, infatti, a favorire maggiormente la formazione e la dispersione di aerosol potenzialmente contaminati.

In Italia, uno dei "cluster" di casi più ampio (e gravato da maggiore mortalità) si è invece manifestato in ambito ospedaliero per la contaminazione dell'impianto idrico e conseguentemente di alcuni umidificatori a bolle di ossigeno (174). Questa constatazione ci dà modo di sottolineare nuovamente l'importanza di un'accurata valutazione epidemiologica del grado di rischio relativo a determinati edifici o impianti: la scelta delle eventuali misure di prevenzione e controllo dovrà necessariamente tener conto, infatti, del supposto grado di rischio infettivo,

dell'efficacia delle misure, della loro facilità di realizzazione e della possibilità di associarne diverse, dei costi, della possibile presenza di effetti collaterali.

Si aggiunga che fino ad ora non è stato possibile dimostrare un'efficacia costante delle misure preventive, soprattutto a medio e lungo termine.

#### 10.2 Impianti di distribuzione dell'acqua calda

Le misure di controllo attuabili a questo livello comprendono: a) aumento della temperatura dell'acqua, b) aggiunta di disinfettanti al serbatoio centrale, c) interventi atti a ridurre le possibilità di ristagno dell'acqua e di bonifica a serbatoi e tubazioni (175).

a) E' stato ampiamente dimostrato (176) che il mantenimento di una temperatura media dell'acqua a 60°C è sufficiente a produrre una drastica diminuzione del numero di batteri in tubazioni e rubinetterie.

Gli impianti possono essere costruiti per rifornire un unico rubinetto (direttamente dallo scaldabagno) oppure, più comunemente, per alimentarne vari. Nel primo caso non dovrebbero esservi significativi rischi di moltiplicazione delle legionelle, dato che il tragitto di scorrimento dell'acqua è minimo, e praticamente assenti le possibilità di ristagno. Nel caso, invece, di un'ero-

gazione multicentrica dell'acqua, l'impianto prevede in genere un dispositivo di ricircolazione (vedere Figura 1). La funzione di tale dispositivo è quello di consentire una relativa stabilizzazione della temperatura dell'acqua su valori elevati, dato che essa viene distribuita anche a notevole distanza dalla fonte di calore.

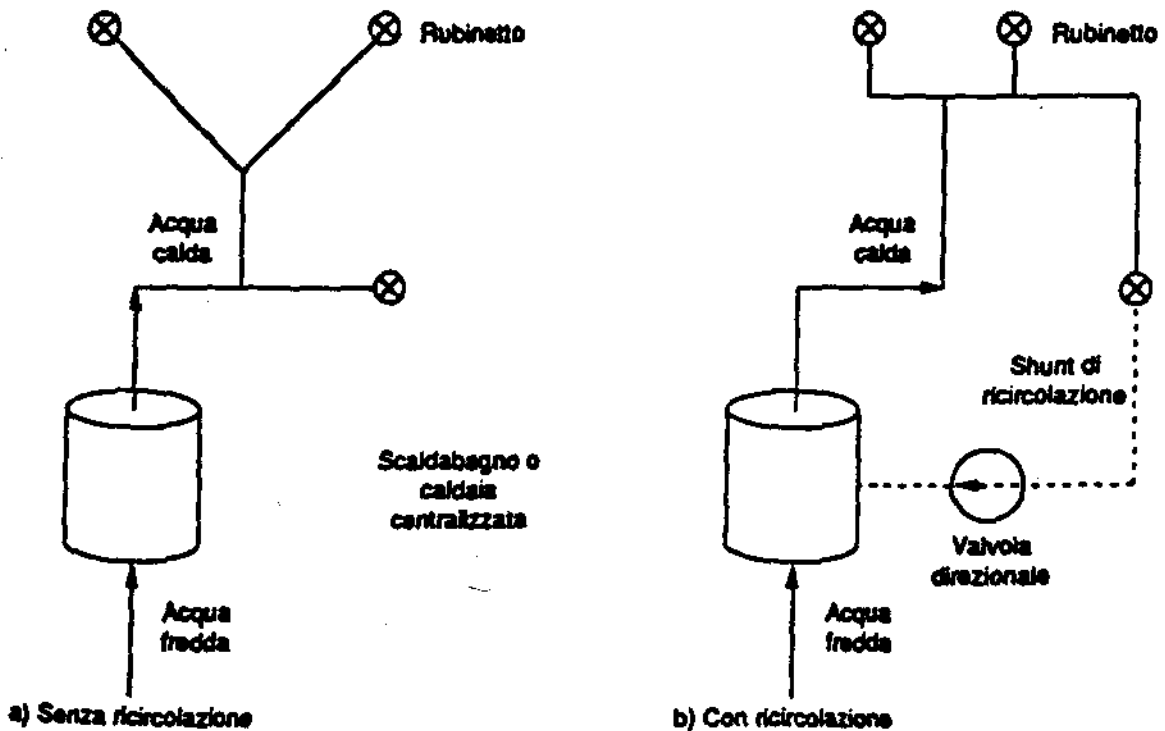


Figura 1. Impianti di distribuzione dell'acqua calda

Il volume di acqua ricircolante e la velocità di flusso dipendono prevalentemente dalle differenze di temperatura misurate agli estremi del circuito e dalle caratteristiche tecniche dell'impianto; esso può essere infatti provvisto di un sistema di pompaggio attivato dalla pressione negativa eventualmente creatasi a monte degli apparati valvolari che assicurano unidirezionalità al flusso idrico. E' evidente che in un impianto costruito con criteri obsoleti possono realizzarsi grossi squilibri di temperatura tra i vari segmenti, e zone di vera e propria dispersione termica, favorendo inoltre la formazione di incrostazioni e la moltiplicazione dei microorganismi; in questo caso è evidente la necessità di effettuare periodicamente interventi di bonifica, oppure di instaurare un "relais" di controllo termostatico collegato con una fonte di calore supplementare.

Per quanto riguarda i dispositivi di riscaldamento dell'acqua, essi comprendono essenzialmente i sistemi a flusso continuo, in cui l'acqua aumenta di temperatura durante lo scorrimento attraverso la fonte di calore, e quelli nei quali l'acqua, accumulata in appositi serbatoi, viene riscaldata tramite resistenza elettrica o fiamma a gas. La necessità di mantenere la temperatura dell'acqua calda pari o maggiore di 60°C potrebbe comportare seri rischi di ustioni (soprattutto nei bambini e nelle persone mentalmente handicappate), a meno che non si provveda all'installazione di dispositivi particolari, ad esempio un sistema di miscelazione automatica dell'acqua (appena a monte del punto di

erogazione) termostaticamente controllato (177). Qualora il tentativo di elevare la temperatura dell'acqua a 60°C incontri gravi problemi di ordine tecnico, si dovrebbe provvedere periodicamente ad effettuare controlli sul sistema ai fini di svelare la eventuale presenza di Legionella spp.; in caso di negatività persistente ai primi due controlli, effettuati a breve intervallo di tempo, le indagini possono poi essere spaziate di circa un semestre. Se invece il controllo risultasse positivo, dovrebbe essere immediatamente effettuato un "lavaggio" completo dell'impianto con acqua ad elevata temperatura (come minimo 60°C al punto di erogazione), lasciandola defluire per almeno 15 minuti. Questa procedura è però notevolmente costosa, e può comportare dei danni soprattutto se realizzata su impianti di vecchia data.

b) In alternativa all'elevazione termica, si può ricorrere alla disinfezione chimica dell'impianto mediante clorazione. In questo caso, sarà necessario vigilare affinché si realizzi un'adeguata concentrazione di cloro libero anche (e soprattutto) in quei distretti dell'impianto idrico ove è maggiore la possibilità di ristagno dell'acqua. Altri problemi connessi a questa procedura sono la relativa resistenza delle legionelle al cloro (178), la possibile sgradevolezza del sapore dell'acqua potabile esposta a concentrazioni di cloro sicuramente batteriostatiche, e la potenziale corrosione delle tubazioni (179).

L'impiego di biossido di cloro ( $\text{ClO}_2$ ) ovvia in parte a questi

inconvenienti, ma trattandosi di un composto in forma gassosa espone al rischio di potenziali esplosioni, e richiede quindi opportune misure cautelative.

c) Una accurata pulizia dei serbatoi dell'acqua, mediante eliminazione dei sedimenti e successivo lavaggio, concorrerà ad evitare una possibile contaminazione dell'impianto.

La riduzione del ristagno idrico nell'impianto può essere ottenuta mediante opportuni interventi volti prevalentemente al rimpiazzo degli apparati valvolari, dei giunti idraulici e degli snodi. Non è invece ancora stata chiarita l'eventuale relazione tra tipo di materiale impiegato nella costruzione dell'impianto ed eventuale incremento nello sviluppo di Legionella spp.; di conseguenza, l'unica raccomandazione da effettuarsi in caso di interventi idraulici su impianti preesistenti è l'uso di ricambi per quanto possibile termorefrattari, in modo da consentire la circolazione dell'acqua a temperature elevate.

In conclusione, è opportuno provvedere periodicamente (con frequenza da stabilire a seguito di attento esame delle caratteristiche tecniche dell'impianto) al monitoraggio della concentrazione di cloro libero, e della temperatura dell'acqua ai rubinetti.

Interventi di pulizia, di controllo, ed eventualmente di bonifica, sono raccomandabili, oltre che per ospedali e grandi alberghi, per

gli impianti che rimangono inattivi parte dell'anno, come ad es. gli alberghi ad apertura stagionale.

Nei casi in cui una soddisfacente elevazione della temperatura dell'acqua non possa essere ottenuta, bisognerà effettuare un controllo batteriologico dell'impianto, con frequenza almeno biennale.

### 10.3 Impianti di condizionamento dell'aria

Scopo di un impianto di condizionamento è la regolazione dell'ambiente atmosferico di un luogo confinato (microclima).

Le funzioni da esso espletate possono comprendere: 1) la sola ventilazione dell'ambiente; 2) filtrazione, riscaldamento o raffreddamento, umidificazione o essiccamento, con miscelazione e ridistribuzione di aria riciclata e fresca; 3) condizionamento vero e proprio, ossia regolazione di temperatura e umidità atmosferica ottenuta per mezzo di idonee apparecchiature.

In caso di raffreddamento, il calore sottratto all'aria viene scaricato all'esterno da una "unità raffreddante", che può essere costituita da una torre di raffreddamento o da un condensatore a refrigerazione. Se, invece, l'aria viene riscaldata, appositi dispositivi di umidificazione ripristinano le adeguate caratteristiche microclimatiche.

Il maggior rischio di disseminazione di microorganismi è connesso alla possibile dispersione di aerosols contaminati,

provenienti dalle torri di raffreddamento, dai condensatori a refrigerazione e dagli umidificatori.

### 10.3.1 Torri di raffreddamento e dispositivi di condensazione a refrigerazione

Nelle torri di raffreddamento l'acqua viene nebulizzata ed in parte si disperde nell'ambiente come vapore; il calore sottratto per evaporazione provoca il raffreddamento dell'acqua residua. L'aria ambiente aspirata nella torre è restituita all'esterno riscaldata ed umidificata, e può contenere legionelle in concentrazione tale da costituire un rischio per l'uomo (180,181) (Figura 2).

Collegato alla torre di raffreddamento vi è poi un condensatore a refrigerazione, raffreddato ad acqua. L'acqua dei bacini naturali (fiumi, mare, etc.) può essere utilizzata mediante unico scorrimento attraverso il dispositivo, e in questo caso il consumo di acqua è elevato, oppure ricircolare in seguito ad abbassamento della temperatura ottenuto nella torre (vedere figura alla pagina successiva).

I condensatori possono anche essere raffreddati ad aria; il loro impiego è sempre più diffuso, considerata la possibilità di risparmio idrico e l'obiettivo maneggevolezza. In questi dispositivi, aria è insufflata direttamente nella spirale di raffreddamento.

Infine, nei condensatori ad evaporazione, viene realizzata una

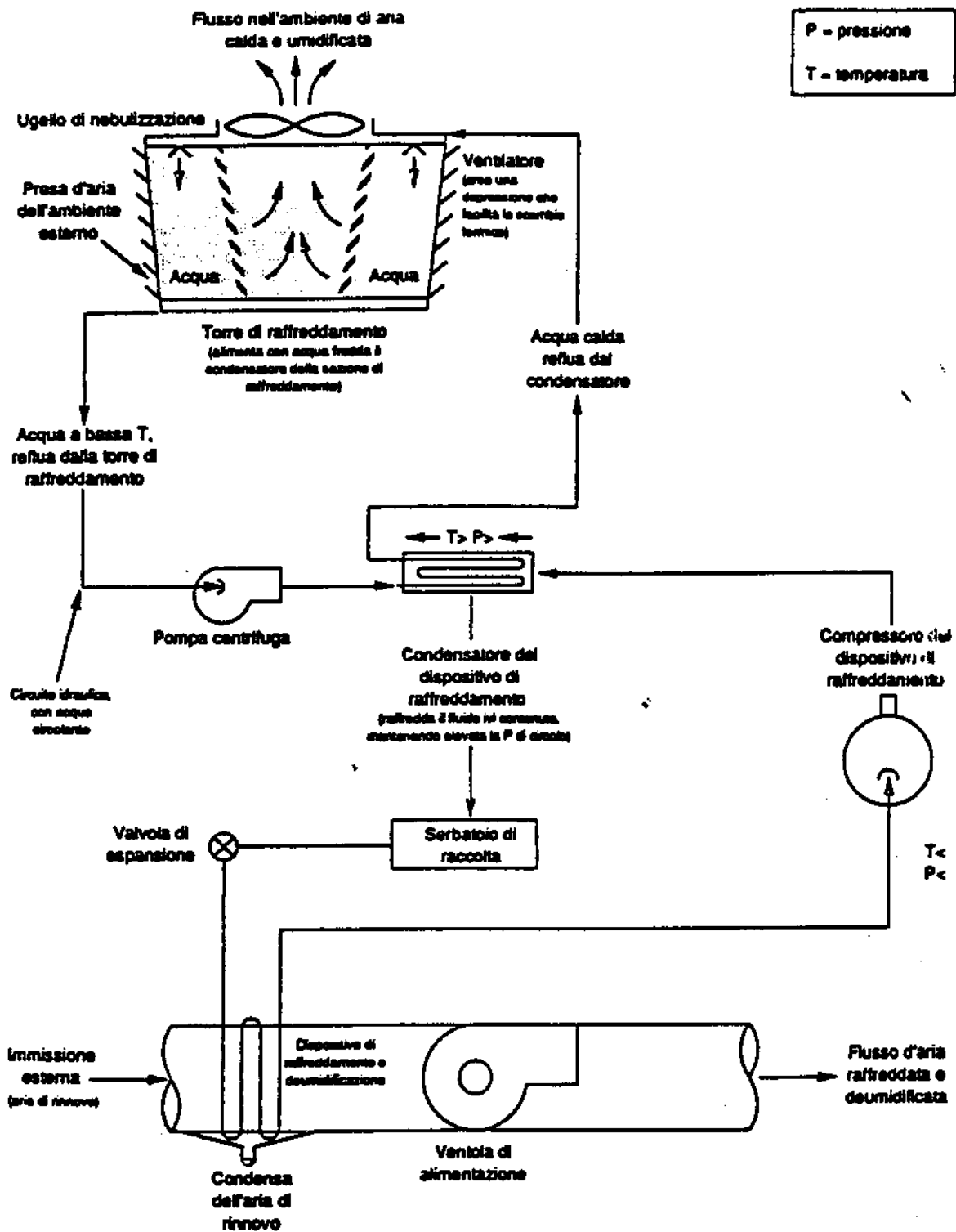


Figura 2.

Torre di raffreddamento ("COOLING TOWER"): dispositivo di espulsione del calore della sezione di raffreddamento degli impianti di condizionamento dell'aria

combinazione tra condensatori ad aria, torre di raffreddamento, e sistema di ricircolazione, riducendo in tal modo lo spreco di acqua. L'acqua, proveniente da una vasca di raccolta, viene nebulizzata tramite appositi ugelli in testa al dispositivo di condensazione, bagnando in questo modo l'interno; successivamente viene raccolta in un collettore e ridistribuita mediante dispositivo di ricircolo. L'aria viene immessa sotto pressione nel sistema, al fine di superarne le resistenze. La quantità di acqua perduta per evaporazione è molto piccola, e l'immissione di aria sotto pressione è necessaria solamente quando la temperatura dell'ambiente esterno sia decisamente più elevata rispetto a quella del dispositivo di condensazione; ciò consente di aggirare il problema di una refrigerazione attiva.

Nei limiti del possibile, la progettazione di questi impianti deve essere effettuata prevedendo un facile accesso alle parti componenti, al fine di una loro agevole manutenzione ed eventuale sostituzione (182). Dovrebbe essere in ogni caso evitata la ricircolazione in altri impianti delle acque di scarico provenienti da questi dispositivi.

Un'accurata pulizia delle componenti, asportando eventuale fanghiglia o alghe, dovrebbe essere effettuata con cadenza almeno biennale, per esempio in marzo e in settembre, ossia prima e dopo il periodo di accensione di questi impianti. Tale revisione va comunque compiuta dopo ogni periodo di inattività dell'impianto,

specie se di discreta durata (183).

Non vi è ancora uniformità di vedute circa il miglior composto da impiegare ai fini di una disinfezione di queste apparecchiature (175). Teoricamente, il disinfettante ideale dovrebbe rispondere a requisiti di rapidità d'azione, di stabilità a diversi valori di temperatura e pH, di economicità, di sicurezza e maneggevolezza. Da un punto di vista pratico, nessun composto è naturalmente in grado di soddisfare tutti questi requisiti. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (184), in conformità all'orientamento generale della letteratura specifica, consiglia l'impiego del cloro sotto forma di ipoclorito di sodio; l'entità dell'effetto battericida è ovviamente in relazione, oltre che alla concentrazione di cloro attivo sviluppatasi, alla temperatura dell'acqua, al pH, e, in modo inversamente proporzionale, alla quantità di residui organici presenti nel sistema (178).

I possibili valori di riferimento, 5 mg/litro come cloro attivo, delle concentrazioni di cloro impiegate per la disinfezione sono quindi forniti al minimo utile.

E' opportuno, in sintesi, concentrare la maggior parte degli sforzi preventivi sia nella costruzione che nella manutenzione dei dispositivi:

- 1) Ogni impianto dovrà essere munito di un dispositivo di eliminazione delle acque reflue ben funzionante, evitando qualsiasi ricircolazione in altro impianto di fluidi potenzialmente contaminati. Dovrebbe essere evitato il posizionamento dei dispositivi

in prossimità di finestre o di aperture di aerazione, per ridurre il rischio di contaminazione di ambienti diversi.

Le componenti dell'impianto dovrebbero essere facilmente accessibili e smontabili.

2) Interventi di drenaggio ed eventuale bonifica dovrebbero essere effettuati almeno all'inizio e alla fine dei periodi di inattività degli impianti, specie se questi periodi sono di lunga durata. Inoltre, i serbatoi andrebbero periodicamente svuotati e lavati a getto d'acqua, eventualmente con aggiunta di sostanze anticorrosive e battericide. La procedura di clorazione richiede particolari cautele, sia al fine di garantire un effettivo raggiungimento e mantenimento di concentrazioni battericide, sia per evitare possibili incidenti durante la manipolazione del cloro.

#### 10.3.2 Dispositivi di umidificazione

L'umidificazione dell'aria può essere effettuata con apparecchiature variamente concepite. Negli umidificatori a vapore, questo viene insufflato nella corrente d'aria attraverso ugelli opportunamente orientati; un apposito congegno riduce la formazione di gocce di condensa.

Nei dispositivi a disco rotante, piccole goccioline vengono proiettate nel flusso d'aria dall'apparecchio in veloce rotazione.

Esistono infine umidificatori a nebulizzazione. In quelli ad elevata atomizzazione, l'acqua viene convertita in getto di aerosol, mentre altri apparecchi sono congegnati in modo che

l'aria attraversi una cortina di goccioline d'acqua emesse da tubicini o ugelli disposti in sequenza.

In pratica, in tutti i tipi di apparecchi, l'accumulo di vapore può produrre ristagno di condensa a vari livelli del circuito, favorendo così la crescita e la riproduzione dei microorganismi. Nei dispositivi a nebulizzazione questa possibilità è ulteriormente rafforzata dalla presenza di meccanismi di ricircolazione dell'acqua in eccesso. In questo caso, si rende necessario lo svuotamento giornaliero del serbatoio idrico, con sostituzione dell'acqua, associando un controllo settimanale volto ad escludere la presenza di alghe o fanghiglia. Con periodicità semestrale, oppure all'inizio e alla fine di ogni periodo di inattivazione, andrà anche effettuata una pulizia completa dell'impianto con cloro attivo ad almeno 5 mg/l.

#### 10.3.3. Filtri e bocchette di immissione dell'aria

L'uso di filtri appropriati e l'opportuna localizzazione delle bocchette di immissione dell'aria, oltre a migliorare la qualità dell'aria condizionata, limitano il rischio di dispersione nell'ambiente di particolati e microorganismi, tra cui le legionelle. Non è possibile stabilire, in via definitiva, quale sia il miglior genere di filtro da impiegare in questi impianti. La preferenza sarebbe da assegnare a filtri meccanici a maglie strette, non umidificati (i quali non forniscono un adeguato terreno di crescita e moltiplicazione ai microorganismi); questi

dispositivi rendono inoltre superfluo l'impiego di presidi battericidi di natura chimica e/o fisica lungo il decorso dell'aria a monte del filtro stesso. Tuttavia, il loro costo è inversamente proporzionale al diametro dei fori, e quindi assai elevato per gli apparecchi di maggior affidabilità. Ciò ne spiega la scarsa diffusione, soprattutto in impianti di concezione obsoleta, e giustifica comunque l'applicazione su vasta scala delle strategie di decontaminazione degli impianti.

## 11. CONCLUSIONI E RACCOMANDAZIONI

Desideriamo ancora una volta sottolineare, anche in sede di commiato, che uno dei maggiori problemi igienico-sanitari connessi alle infezioni da Legionella spp. è quello di una ormai ampiamente dimostrata situazione di sottostima dei casi: il contributo reale della legionellosi alla globalità dei quadri polmonari nei Paesi sviluppati permane ancora assai poco conosciuto.

Facciamo quindi nostre le considerazioni esposte in un recente Memorandum dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (184), unitamente ad alcune raccomandazioni essenziali, rivolte in particolare al personale sanitario. Vi è un'imprescindibile esigenza di promuovere la sorveglianza attiva di queste infezioni, ossia di incoraggiare nei clinici e nei chirurghi il sospetto diagnostico di legionellosi, stimolando quindi una ricerca attiva

dei casi nell'ambito delle forme pneumoniche tipiche e atipiche, nonché in presenza di situazioni epidemiche a carattere influenzale ("febbre di Pontiac"). L'eziologia di ogni caso di polmonite andrebbe accuratamente investigata, possibilmente in ambito ospedaliero, ove è possibile un eventuale isolamento del paziente ed è facilitato l'approfondimento diagnostico; in presenza di caso riconosciuto, andrà inviata al centro di coordinamento della sorveglianza un'apposita scheda di notifica, unitamente agli eventuali stipiti di Legionella isolati o ai campioni (siero, tessuto, secrezioni) che si siano dimostrati significativi per l'evidenziazione del microorganismo. Una sorveglianza dell'infezione condotta in modo adeguato ha positive conseguenze anche in ambito preventivo, e consente una valutazione almeno approssimativa del rapporto "costo-beneficio" del periodo di ospedalizzazione, nonché del costo socio-sanitario delle morti potenzialmente evitabili e dei possibili reliquati invalidanti degli episodi acuti (particolarmente della sfera neurologica). E' implicito il grandissimo valore di una fattiva collaborazione tra periferia e centro di coordinamento e, in seno al centro di coordinamento, tra gli operatori di laboratorio e gli epidemiologi.

Un'attenzione particolare è volta a sottolineare il rischio di acquisizione della malattia legato ai viaggi; e ciò accresce l'esigenza di avviare in un futuro prossimo un piano di sorveglianza internazionale dell'infezione. Tale tipo di sorveglianza è attualmente di portata alquanto ristretta, a causa delle notevoli

differenze geografiche in disponibilità diagnostica, affidabilità dei sistemi di notifica, ed applicazione di una definizione operativa di caso.

A questo proposito, crediamo di fare cosa utile nel ricordare l'enunciato della definizione di caso di Malattia dei Legionari utilizzabile ai fini di sorveglianza internazionale fornita dall'organizzazione Mondiale della Sanità (184): infezione acuta delle vie respiratorie con segni di polmonite focale all'esame clinico e/o evidenza radiologica di interessamento pneumonico, accompagnata da uno od entrambi dei seguenti eventi:

- 1) isolamento di Legionella spp. dalle secrezioni respiratorie, dal tessuto polmonare o dal sangue.
- 2) Aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico contro L.pneumophila sierogruppo 1, rilevato nel siero del paziente tramite test di immunofluorescenza indiretta o microagglutinazione.

Un aumento di tale entità relativo a sierogruppi o specie diverse da L.pneumophila sierogruppo 1, rilevato mediante un test appropriato, configura una diagnosi presuntiva. La presunzione diagnostica è ugualmente consentita dal riconoscimento dell'antigene specifico nelle secrezioni respiratorie o nelle urine, oppure dalla positività all'immunofluorescenza indiretta con anticorpi monoclonali condotta sul materiale patologico.

Un'ultima raccomandazione riguarda le eventuali misure di controllo da attivare sull'ambiente, in caso di epidemia o "clu-

ster". Sarebbe altamente auspicabile la realizzazione di studi appropriati, ai fini di determinare la proporzione di casi sporadici conseguenti ad esposizione domiciliare o professionale.

In ambito ospedaliero (185), sforzi particolari dovrebbero essere dedicati a fini preventivi soprattutto nei reparti che accolgono pazienti portatori di uno stato di immunosoppressione più o meno severo (trapiantati, emopatici, marantici, etc.).

Infine, un'accurata revisione igienica dello stato degli impianti di distribuzione dell'acqua calda andrà condotta periodicamente, in modo particolare nei sistemi che consentono un prolungato ristagno dell'acqua, facilitando la formazione di sedimento o di concrezioni calcaree. Gli eventuali interventi andranno comunque realizzati con la dovuta cautela, evitando di dare adito a condizioni che siano a loro volta di potenziale danno alla salute, ad esempio per la diffusione nell'atmosfera e nelle acque di sostanze chimiche attive, per l'innalzamento eccessivo della temperatura dell'acqua (che potrebbe provocare ustioni all'utente, come pure facilitare la crescita di patogeni termofili), e per il possibile eccessivo dispendio di energia chimica, termica o elettrica.

## BIBLIOGRAFIA

1. FRASER, D.W., TSAI, T.F., ORENSTEIN, W., et al., 1977.  
Legionnaires' disease - Description of an epidemic of pneumonia. N.Engl.J. Med. 297:1189-1197.
2. McDADE, J.E., SHEPARD, C.C., FRASER, D.W., et al., 1977.  
Legionnaires' disease - Isolation a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N.Engl.J.Med. 297:1197-1203.
3. JACKSON, E.B., CROCKER, T.T. & SMADEL, J.E., 1952.  
Studies on two rickettsia-like agents probably isolated from guines pigs. Bacteriol.Proc. p. 119.
4. McDADE, J.E., BRENNER, D.J. & BOZEMAN, F.M., 1979.  
Legionnaires' disease bacterium isolated in 1947. Ann.Intern. Med. 90: 659-661.
5. OSTERHOLM, M.T., CHIN, T.D.Y., OSBORNE, D.O., et al., 1983.  
A 1957 outbreak of Legionnaires' disease associated with a meat packing plant. Am.J.Epidemiol. 117: 60-67.
6. THACKER, S.B., BENNETT, J.V., TSAI, T.F., et al., 1978.  
An outbreak in 1965 of severe respiratory illness caused by the Legionnaires' disease bacterium. J.Infect.Dis. 138: 512-519.
7. GLICK, T.H., GREGG, M.B., BERMAN, B. et al., 1978.  
Pontiac fever. An epidemic of unknown etiology in a health department: I. Clinical and epidemiologic aspects. Am.J.Epi-

- demiol. 107: 149-160.
8. KAUFMANN, A.F., McDADE, J.E., PATTON, C.M. et al., 1981.  
Pontiac fever: isolation of the etiologic agent (Legionella pneumophila) and demonstration of its mode of transmission. Am.J.Epidemiol. 144: 337-347.
  9. TERRANOVA, W., COHEN, M.L. & FRASER, D.W., 1978.  
1974 outbreak of Legionnaires' disease diagnosed in 1977. Clinical and epidemiological features. Lancet 11: 122-124.
  10. BLACKMON, J.A., CHANDLER, F.W., CHERRY, W.B. et al., 1981.  
Legionellosis (review article). Am.J.Path. 103: 428-465.
  11. ENGLAND III, A.C., FRASER, D.V., PLIKAYTIS, B.D. et al., 1981.  
Sporadic legionellosis in the United States: the first thousand cases. Ann.Intern.Med. 94: 164-170.
  12. STORCH, G., BAINE, W.B., FRASER, D.W. et al., 1979.  
Sporadic community-acquired Legionnaires' disease in the United States. Ann.Intern.Med. 90: 596-600.
  13. HELMS, C.M., RENNER, E.D., VINER, J.P., et al. 1980.  
Indirect immunofluorescence antibodies to Legionella pneumophila: frequency in a rural community. J.Clin.Microbiol. 12: 326-328.
  14. NORDSTROM, K., KALLINGS, I., DAHNSJÖ, M., et al. 1983.  
An outbreak of Legionnaires' disease in Sweden: report of sixty-eight cases. Scand.J.Infect.Dis. 15: 43-55.
  15. Centers for Disease Control, 1985. Legionellosis. Stafford-

- shire, England, and Wayne County, Michigan. Morbidity Mortality Weekly Report. 34: 344-350.
16. POLITI, B.D., FRASER, D.W., MALLISON, G.F., et al. 1979.  
A major focus of Legionnaires' disease in Bloomington, Indiana. Ann.Intern.Med. 90: 587-591.
  17. JØRGENSEN, K.A., KORSAGER, B., JOHANNSEN, G., et al. 1981.  
Legionnaires' disease imported to Denmark from Italy. Scand. J.Infect.Dis. 13: 133-136.
  18. Istituto Superiore di Sanità. 1982.  
Legionellosi I parte - Sorveglianza della legionellosi a Lido di Savio (RA), 1981. Bollettino Epidemiologico Nazionale 82/37: 1-4.
  19. CASTELLANI PASTORIS, M., BENEDETTI, P. & GRECO, D. 1991.  
Dieci anni di legionellosi in Italia (giugno 1980- giugno 1990). Ann.Ist.Super. Sanità 27: 289-296.
  20. MOIRAGHI RUGGENINI, A., CASTELLANI PASTORIS, M., DENNIS, P.J., et al. 1989.  
Legionella pneumophila in a hospital in Torino, Italy. A retrospective one-year study. Epidemiol.Infect. 102: 21-29.
  21. PASSI, C., MADDALUNO, R. & CASTELLANI PASTORIS, M. 1990.  
Incidence of Legionella pneumophila infection in tourists: Italy. Public Health 104: 183-188.
  22. CORDES, L.G., GOLDMAN, W.D., MARR, J.S., et al. 1980.  
Legionnaires' disease in New York city, August-September 1978. Bull N.Y. Acad. Med. 56: 467-482.

23. Istituto Superiore di Sanità. 1983.  
Prevalenza di anticorpi per Legionella pneumophila nella popolazione sana. Bollettino Epidemiologico Nazionale 83/12: 1-4.
24. FISCHER-HOCH, S.P., BARTLETT, C.L.R., TOBIN, J.O'H., et al. 1981.  
Investigation and control of an outbreak of Legionnaires' disease in a district general hospital. Lancet i: 932-936.
25. LAWSON, J.H. 1978  
Legionnaires' disease - The Benidorm episode. Scott.Med.J. 23: 121-124.
26. DONDERO, T.J., RENDTORFF, R.C., MALLISON, G.F., et al. 1980.  
An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. N.Engl.J.Med. 302: 365-370.
27. BAND, J.D., LA VENTURE, M., DAVIS, J.P., et al. 1981.  
Epidemic Legionnaires' disease airborne transmission down a chimney. JAMA 245: 2404-2407.
28. BASKERVILLE, A. 1984.  
Pathology and Pathophysiology, In: Legionella, Proceedings of the 2nd International Symposium. Thornsberry, C., Balows, A., Feeley, J.C. & Jakubowski, W. (Eds.) American Society for Microbiology, Washington D.C., p.p. 136-141.
29. TOBIN, J.O'H., BEARE, J., DUNNIL, M.S., et al. 1980.  
Legionnaires' disease in a transplant unit: isolation of the

- causative agent from shower baths. *Lancet* ii: 118-21.
30. STOUT, J., Yu, V.L., VICKERS, R.M., et al. 1982.  
Ubiquitousness of Legionella pneumophila in the water supply of a hospital with endemic Legionnaires' disease. *N.Engl.J. Med.* 306: 466-468.
  31. TOBIN, J.O'H., BARTLETT, C.L.R., WAITKINS, S.A., et al. 1981.  
Legionnaires' disease: further evidence to implicate water storage and distribution systems as sources. *Br.Med.J.* 282: 573.
  32. CORDES, L.G., FRASER, D.W., SKALIY, P., et al. 1980.  
Legionnaires' disease outbreak at an Atlanta, Georgia country club: evidence for spread from an evaporative condenser. *Am.J.Epidemiol.* 111: 425-431.
  33. FRASER, D.W. 1984.  
Sources of Legionellosis. In: Legionella, Proceedings of the 2nd International Symposium. Thornsberry, C., Balows, A., Feeley, J.C. & Jakubowski, W. (Eds.). American Society for Microbiology, Washington D.C., pp. 277-280.
  34. FLIERMANS, C.B., CHERRY, W.B., ORRISON, L.H. & THACKER, L. 1979.  
Isolation of Legionella pneumophila from nonepidemic-related aquatic habitats. *Appl.Environ.Microbiol.* 37: 1239-42.
  35. FLIERMANS, C.B., CHERRY, W.B., ORRISON, L.H., et al. 1981.  
Ecological distribution of Legionella pneumophila. *Appl.Environ.Microbiol.* 41: 9-16.

36. TISON, D.L., POPE, D.H., CHERRY, W.B. & FLIERMANS, C.B. 1980.  
Growth of Legionella pneumophila in association with blue-green algae (Cyanobacteria). Appl.Environ.Microbiol. 39: 456-459.
37. BORNSTEIN, N., MARMET, D., SURGOT, M., et al. 1989.  
Exposure to Legionellaceae at a hot spring spa: a prospective clinical and serological study. Epidemiol.Infect. 102: 31-36.
38. DUTKA, B.J. & EVANS, P. 1986.  
Isolation of Legionella pneumophila from Canadian hot springs. Can.J.Public Health, 77: 136-138.
39. ARNOW, P.M., WEIL, D. & PARA, M.P. 1985.  
Prevalence and significance of Legionella pneumophila contamination of residential hot-tap water systems. J.Infect.Dis. 152: 145-151.
40. DAVIS, G.S., WINN, W.C.Jr, GUMP, D.W. et al. 1982.  
Legionnaires' pneumonia after aerosol exposure in guinea pigs and rats. Am.Rev.Respir.Dis. 126: 1050-1057.
41. WEINBAUM, D.L., BAILEY, J. & BENNER, R.R. 1983.  
The contribution of human serum and neutrophils to host defence against Legionella micdadei. J.Infect.Dis. 148: 510-517.
42. BARTLETT, C.L.R., MACRAE, A.D. & MACFARLANE, J.T. (Eds.) 1986.  
Legionella Infections. Edward Arnold, London.
43. PINE, L., GEORGE, J.R., REEVES, M.W. & HARRELL, W.K. 1979.

- Development of a chemically defined liquid medium for growth of Legionella pneumophila. J.Clin.Microbiol. 9: 615-626.
44. RISTROPH, J.D., HEDLUND, K.W. & GOWDA, S. 1981.  
Chemically defined medium for Legionella pneumophila growth. J.Clin.Microbiol. 13: 115-119.
45. WARREN, W.J. & MILLER, R.D. 1979.  
Growth of Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) in a chemically defined medium. J.Clin.Microbiol. 10: 50-55.
46. WADOWSKY, R.M. & YEE, R.B. 1985.  
Effect of non-Legionellaceae bacteria on the multiplication of Legionella pneumophila in potable water. Appl.Environ.Microbiol. 49: 1206-1210.
47. ROWBOTHAM, T.J. 1986.  
Current views on the relationships between amoebae, legionellae and man. Isr.J.Med.Sci. 22: 678-689.
48. POPE, D.H., SORACCO, R.J. & GILL, H.K. 1982.  
Growth of Legionella pneumophila in two-membered cultures with green algae and cyanobacteria. Curr. Microbiol. 7: 319-322.
49. WADOWSKY, R.M., WALFORD, R., McNAMARA, A.M. & YEE, R.B. 1985.  
Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring Legionella pneumophila in potable water. Appl.Environ.Microbiol. 49: 1197-1205.

50. DENNIS, P.J., GREEN, D. & JONES, B.P.C. 1984.  
A note on the temperature tolerance of Legionella. J.Appl. Bacteriol. 56: 349-350.
51. GOLDONI, P., VISCA, P., CASTELLANI PASTORIS, M. et al. 1991.  
Growth of Legionella spp. under conditions of iron restriction. J.Med.Microbiol. 34: 113-118.
52. COLBOURNE, J.S. & DENNIS, P.J.L. 1988.  
Legionella: a biofilm organism in engineered water system?  
In: Houghton D.R., Smith R.N. & Eggins H.O.W. (Eds). Barking Elsevier. Biodeterioration, 7: 36-42.
53. COLBOURNE, J.S., PRATT, D.J., SMITH, M.G. et al. 1984.  
Water fittings as sources of Legionella pneumophila in a hospital plumbing system. Lancet 1: 210-213.
54. SCHOFIELD, G.M. & WRIGHT, A.E. 1984.-  
Survival of Legionella pneumophila in a model hot water distribution system. J.Gen.Microbiol. 130: 1751-1756.
55. ADEMOLLO, B., BELLI, A., DONATO, R. et al. 1987.  
Appunti per una mappa delle caratteristiche microbiologiche di acque termali della Toscana. Nota 3: Micobatteri e legionelle. Riv.It.Ig. 47: 127-134.
56. FITZGEORGE, R.B., BASKERVILLE, A., BROSTER, M. et al. 1983.  
Aerosol infection of animals with strains of Legionella pneumophila of different virulence: comparison with intraperitoneal and intranasal routes of infection. J.Hyg.Camb. 90: 81-89.

57. EZZEDDINE, H., VAN OSSEL, C., DELMEE, M. & WAUTERS, G. 1989.  
Legionella spp. in a hospital hot water system: effect of control measures. J.Hosp.Inf. 13: 121-131.
58. HORWITZ, M.A. & SILVERSTEIN, S.C. 1980  
Interaction of the Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) with human phagocytes: I L.pneumophila resists killing by polymorphonuclear leukocytes, antibody and complement. J.Exp. Med. 153: 386-397.
59. DAVIS, G.S., WINN, W.C.Jr., Gump, D.W. et al. 1983.  
The kinetics of early inflammatory events during experimental pneumonia due to Legionella pneumophila in guinea pigs. J.Infect.Dis. 148: 823-835.
60. HORWITZ, M.A. & SILVERSTEIN, S.C. 1980.  
Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) multiplies intracellularly in human monocytes. J.Clin.Invest. 66: 441-450.
61. HORWITZ, M.A. 1983.  
Formation of a novel phagosome by the Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) in human monocytes. J.Exp.Med. 158: 1319-1331.
62. BHARDWAJ, N., NASH, T.W. & HORWITZ, M.A. 1986.  
Interferon-gamma-activated human monocytes inhibit the intracellular multiplication of Legionella pneumophila. J.Immunol. 17: 2662-2669.

63. HORWITZ, M.A. 1983.  
The Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) inhibits phagosome-lysosome fusion in human monocytes. J.Exp.Med. 158: 1319-1331.
64. BAINE, W.B. 1985.  
Cytolytic and phospholipase C activity in Legionella species. J.Gen.Microbiol. 131: 1383-1391.
65. MUELLER, H.E. 1981.  
Enzymatic profile of Legionella pneumophila. J.Clin.Microbiol. 13: 423-426.
66. THORPE, T.C. & MILLER, R.D. 1981.  
Extracellular enzymes of Legionella pneumophila. Infect.Immun. 33: 632-635.
67. WARD, P.A., LEPOW, I.H. & NEWMAN, L.J. 1968.  
Bacterial factors chemotactic for polymorphonuclear leukocytes. Am.J.Pathol. 52: 725-736.
68. BOCK, B.V., KIRBY, B.D., EDELSTEIN, P.H. et al. 1978.  
Legionnaires' disease in renal-transplant recipients. Lancet 1: 410-413.
69. WONG, K.H., MOSS, W.C., HOCHSTEIN, D.H. et al. 1979.  
"Endotoxicity" of the Legionnaires' disease bacterium. Ann.Intern.Med. 90: 624-627.
70. SHOWELL, H.J., FREER, R.J., ZIGMOND, S.H. et al. 1976.  
The structure-activity relations of synthetic peptides as chemotactic factors and inducers of lysosomal enzyme secre-

- tion for neutrophils. J.Exp.Med. 143:1154-1169.
71. BLANDER, S.J. & HORWITZ, M.A. 1989.  
Vaccination with the major secretory protein of Legionella pneumophila induces cell-mediated and protective immunity in a guinea pig model of Legionnaires' disease. J.Exp.Med. 169: 691-705.
  72. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981.  
Working Group on Legionnaires' Disease. Summary Report. Baden, 19-21 October.
  73. KIRBY, B.D., SNYDER, K.M., MEYER, R.D. & FINEGOLD, S.M. 1980.  
Legionnaires' disease: report of sixty-five nosocomially acquired cases and review of the literature. Medicine (Baltimore) 59: 188-205.
  74. FU, K.P. & NEU, H.C. 1979.  
Inactivation of B-lactam antibiotics by Legionella pneumophila. Antimicrob.Agents Chemother. 16:561-564.
  75. EDELSTEIN, P.H. & MEYER, R.D. 1980.  
Susceptibility of Legionella pneumophila to twenty antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother. 18: 403-408.
  76. COTTON, L.M., STRAMPFER, M.J. & CUNHA, B.A. 1987.  
Legionnaires' disease. A community hospital experience. Clin.Chest.Med. 8: 441-453.
  77. DAVIS, G.S., WINN, W.C. & BEATY, H.N. 1981.  
Legionnaires' disease. Clin. Chest Med. 2: 145-166.

78. DOMARADZKI, M.D., HAUSSER, J.L. & GOSSELIN, F. 1984  
Coexistence of Legionnaires' disease and Q fever in a single patient. *Can.Med.Assoc.J.* 130:1022-1023.
79. WINN, W.C. Jr & MYEROWITZ, R.L. 1981.  
The pathology of the Legionella pneumonias: a review of 74 cases and the literature. *Human Pathol.* 12: 401-422.
80. WHITE, H.J., FELTON, W.W. & CHAO, N.S. 1980.  
Extrapulmonary histopathologic manifestations of legionnaires' disease. *Arch.Pathol.Lab.Med.* 104: 287-289.
81. EDELSTEIN, P.H. & MEYER, R.D. 1984.  
Legionnaires' disease. A Review. *Chest.* 85: 114-120.
82. FAIRBANK, T.A., MAMOURIAN, A.C., DIETRICH, P.A. & GIROD, J.C. 1983.  
The chest radiograph in Legionnaires' disease. *Radiology* 147: 33-34.
83. LAKE, K.B., VAN DYKE, J.J., GERBERG, E. et al. 1979.  
Legionnaires' disease and pulmonary cavitation. *Arch.Intern.Med.* 139: 485-486.
84. KIRBY, B.D., PECK, H. & MEYER, R.D. 1979.  
Radiographic features of Legionnaires' disease. *Chest* 76: 562-565.
85. CHASTRE, J., RAGHU, G., SOLER, P. et al. 1987.  
Pulmonary fibrosis following pneumonia due to acute Legionnaires' disease. *Chest* 91: 57-62.

86. WOODHEAD, M.A. & MACFARLANE, J.T. 1985.  
The protean manifestations of Legionnaires' disease. J.R. Coll.Phys. London 19: 224-230.
87. DONOWITZ, G.R. & MANDELL, G.L. 1983.  
Empiric therapy for pneumonia. Rev.Infect.Dis. 5: 40-51.
88. MAYOCK, R., SKALE, B. & KOHLER, R.B. 1983.  
Legionella pneumophila pericarditis proved by culture of pericardial fluid. Am.J.Med. 75: 534-536.
89. HARRIS, L.F. 1981.  
Legionnaires' disease associated with massive pericardial effusion. Arch.Intern.Med. 141: 1385.
90. COTO, V., ANTONIELLO, S., LUCARIELLO, A. et al. 1988.  
Legionella bozemanii infection associated with massive pericardial effusion. Case-report. Pan.Med. 30: 118-120.
91. GROSS, D., WILLENS, H. & ZELDIS, S.M. 1981.  
Myocarditis in Legionnaires' disease. Chest 79: 232-234.
92. MCCABE, R.S., BALDWIN, J.C. & MCGREGOR, C.A. 1984.  
Prosthetic valve endocarditis by Legionella pneumophila. Ann.Intern.Med. 100: 525-527.
93. JOHNSON, J.D., RAFF, M.J. & VAN ARSDALL, J.A. 1984.  
Neurological manifestations of Legionnaires' disease. Medicine (Baltimore) 63: 303-310.
94. WEIR, A.I., BONE, I. & KENNEDY, D.H. 1982.  
Neurological involvement in legionellosis. J.Neurol.Neu-rosurg. Psychiatry 45: 603-608.

95. NIGRO, G., CASTELLANI PASTORIS, M., FANTASIA MAZZOTTI, M. & MIDULLA, M. 1983.  
Acute cerebellar ataxia in pediatric legionellosis. *Pediatrics* 72: 847-849.
96. HOLLIDAY, O.L., CULLIS, P.A. & GILROY, J. 1982.  
Motor neuropathy in a patient with Legionnaires' disease. *Ann.Neurol.* 12: 293-294.
97. WILLIAMS, M.E., WATANAKUNAKORN, C., BAIRD, I.M. et al. 1980.  
Case report: Legionnaires' disease with acute renal failure. *Am.J.Med.Sci.* 279: 177-183.
98. WEGMULLER, E., WEIDMANN, P., HESS, T. et al. 1985.  
Rapidly progressive glomerulonephritis accompanying Legionnaires' disease. *Arch.Intern.Med.* 145: 1711-1713.
99. JOHNSON, D.A. & ETTER, H.S. 1984.  
Legionnaires' disease with rhabdomyolysis and acute reversible myoglobinuric renal failure. *Schn.Med.J.* 77: 777-779.
100. STRAMPFER, M.J. & CUNHA, B.A. 1987.  
Clinical and laboratory aspects of Legionnaires' disease. *Seminars Resp.Infect.* 2: 228-234.
101. ARNEBORN, P., & KALLINGS, I. 1985.  
Acute pancreatitis possibly caused by Legionella micdadei. *Scand. J.Infect.Dis.* 17: 229-231.
102. HERWALDT, L.A., GORMAN, G.W., McGRATH, T. et al. 1984.  
A new Legionella species, Legionella feeleyi species nova, causes Pontiac fever in an automobile plant. *Ann.Intern.Med.* 100: 333-338.

103. FIELD, B.S., BARBAREE, J.M., SANDEN, G.N. & MORRILL, W.E.

1990.

Virulence of a Legionella anisa strain associated with Pontiac fever: an evaluation using protozoan, cell culture, and guinea pig models. *Infect.Immun.* 58: 3139-3142.

104. GOLDBERG, D.J., COLLIER, P.W., FALLON, R.J. et al. 1989.

Lochgillhead fever: an outbreak of non-pneumonic legionellosis due to Legionella micdadei. *Lancet* i: 316-318.

105. MANGIONE, E.J., REMIS, R.S., TAIT, K.A. et al. 1985.

An outbreak of Pontiac Fever related to whirlpool use, Michigan 1982. *JAMA* 253: 535-539.

106. HEATH, P.D., BOOTH, L., LEIGH, P.N. & TURNER, A.M. 1986.

Legionella brainstem encephalopathy and peripheral neuropathy without preceding pneumonia (letter). *J.Neurol.Neurol.sur.Psych.* 49: 216-219.

107. CASTELLANI PASTORIS, M., NIGRO, G. & MIDULLA, M. 1985.

Arrhythmia or myocarditis: a novel clinical form of Legionella pneumophila infection in children without pneumonia. *Eur.J.Pediatr.* 144: 157-159.

108. BRABENDER, W., HINTHORN, D.R., ASHER, M. et al. 1983.

Legionella pneumophila wound infection. *JAMA* 250: 3091-3092.

109. KALWEIT, W.H., WINN, W.C. Jr, ROCCO, T.A. et al. 1982.

Hemodialysis fistula infections caused by Legionella pneumophila. *Ann.Int.Med.* 96:173-175.

110. THORNSBERRY, C.L., BAKER, C.N. & KIRVEN, L.A. 1978.  
 "In vitro" activity of antimicrobial agents on Legionnaires' disease bacterium. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 13: 78-80.
111. THORPE, T.C. & MILLER, R.D. 1981.  
 Extracellular enzymes of Legionella pneumophila. *Infect. Immun.* 33: 632-635.
112. WEISMOLTZ, S. & TOMASZ, A. 1985.  
 Response of Legionella pneumophila to B-lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16: 561-564.
113. EDELSTEIN, P.M., CALARCO, K. & YASUI, U.K. 1984.  
 Antimicrobial therapy of experimentally induced Legionnaires' disease in guinea pigs. *Am.Rev.Respir.Dis.* 130: 849-856.
114. PASCULLE, A.W., DOWLING, J.N., FROLA, F.N. et al. 1985.  
 Antimicrobial therapy of experimental Legionella micdadei pneumonia in guinea pigs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28: 730-734.
115. JOHNSON, J.D., HAND, W.L., FRANCIS, J.B. et al. 1980.  
 Antibiotic uptake by alveolar macrophages. *J.Lab.Clin.Med.* 95: 429-439.
116. MILLER, M.F., MARTIN, J.R., JOHNSON, P. et al. 1984.  
 Erythromycin uptake and accumulation by human polymorphonuclear leukocytes and efficacy of erythromycin in killing ingested Legionella pneumophila. *J.Infect.Dis.* 149: 714-718.
117. MACFARLANE J.T., FINCH, R.G., WARD, M.J. & ROSE, D.H. 1983.  
 Erythromycin compared with a combination of ampicillin and

- amoxycillin as initial therapy for adults with pneumonia including Legionnaires' disease. J.Infect. 7: 111-117.
118. DOURNON, E., RAJAGOPALAN, P., VILDE, J.L. et al. 1986.  
Efficacy of pefloxacin in comparison with erythromycin in the treatment of experimental guinea pig legionellosis. J.Antimicrob.Chemother. 17: 41-48.
119. HELMES, C.M., VINER, J.P., WEISENBURGER, D.D. et al. 1984.  
Sporadic Legionnaires' disease. Clinical observations on 87 nosocomial and community acquired cases. Am.J.Med.Science 288: 2-12.
120. VEREERSTRAETEN, P., STOLEAR, J.C., SCHOUTENS-SERRUYS et al. 1986.  
Erythromycin prophylaxis for Legionnaires' disease in immunosuppressed patients in a contaminated hospital environment. Transplantation, 41: 52-54.
121. SHANDS, K.N. & FRASER, D.W. 1980.  
Legionnaires' disease. In: Disease - a - Month. Year Book Medical, Chicago, 27: 7-35.
122. GARRITY, G.M., BROWN, A. & VICKERS, R.M. 1980.  
Tatlockia and Fluoribacter: two new genera of organisms resembling Legionella pneumophila. Int.J.Syst.Bact., 30: 609-614.
123. JOLY, J.R., MCKINNEY, R.M., TOLIN, J.O. et al. 1986.  
Development of a standardized subgrouping scheme for Legionella pneumophila serogroup 1 using monoclonal antibodies.

- J.Clin.Microbiol. 23:768-771.
124. EDELSTEIN, P.H. 1981.
- Improved semiselective medium for isolation of Legionella pneumophila from contaminated clinical and environmental samples. J.Clin.Microbiol. 14: 298-303.
125. EDELSTEIN, P.H. 1982.
- Comparative study of selective media for isolation of Legionella pneumophila from potable water. J.Clin.Microbiol. 16: 697-699.
126. WADOWSKY, R.M. & YEE, R.B. 1981.
- Glycine containing selective medium for isolation of Legionellaceae from environmental specimens. Appl.Environ.Microbiol. 42: 768-772.
127. VICKERS, R.M., BROWN, A. & GARRITY, G.M. 1981.
- Dye-containing buffered charcoal-yeast extract medium for differentiation of members of the family Legionellaceae. J.Clin.Microbiol. 13: 380-382.
128. EDELSTEIN, P.H., SNITZER, J.B. & BRIDGE, J.A. 1982.
- Enhancement of recovery of Legionella pneumophila from contaminated respiratory tract specimens by heat. J.Clin.Microbiol. 16: 1061-1065.
129. BOPP, C.A., SUMNER, J.W., MORRIS, G.K. & WELLS, J.G. 1981.
- Isolation of Legionella spp. from environmental water samples by low-pH treatment and use of a selective medium. J.Clin.Microbiol. 13: 714-719.

130. KOHLER, R.B. & SATHAPATAYAVONGS, B. 1983.

Recent advances in the diagnosis of serogroup 1 L.pneumophila pneumonia by detection of urinary antigen. Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg. (A), 255: 102-107.

131. KOHLER, R.B., WINN, W.C. & WHEAT, L.J. 1984.

Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. J.Clin.Microbiol. 20: 605-607.

132. SAUNDERS, N.A. & HARRISON, T.G. 1988.

The application of nucleic acid probes and monoclonal antibodies to the investigation of Legionella infections. In: A Laboratory Manual for Legionella. Harrison, T.C. and Taylor, A.G. (Eds.). John Wiley & Sons Ltd., pp. 137-153.

133. EDELSTEIN, P.H. MEYER, R.D. & FINEGOLD, S.A. 1980.

Laboratory diagnosis of Legionnaires' disease. Amer.Rev. Resp.Dis. 121: 317-327.

134. WILKINSON, H.W. 1982.

Serologic diagnosis of legionellosis. Lab.Med. 13: 151-157.

135. WILKINSON, H.W. REINGOLD, A.L., BRAKE, B.J. et al. 1983.

Reactivity of serum from patients with suspected legionellosis against 29 antigens of Legionellaceae and Legionella-like organisms by indirect immunofluorescence assay. J.Infect.Dis. 147: 23-31.

136. COLLINS, M.T., ESPERSEN, F., HOIBY, N. et al. 1983.

Cross-reactions between Legionella pneumophila (serogroup 1) and twenty-eight other bacterial species, including other

- members of the family Legionellaceae. Infect.Immun. 39: 1441-1456.
137. PELAZ, C., ALBERT, L.G. & MARTIN BOURGON, C. 1987.  
Cross-reactivity among Legionella species and serogroups.  
Epidem.Infect. 99: 641-646.
138. EDELSTEIN, P.H. 1987. The Laboratory diagnosis of Legionnaires' disease. Semin.Respir.Infect. 2: 235-241.
139. DOURNAN, E., BRUNOD, M. & MEYOLAS, M.C. 1981.  
Formolised yolk sac antigen in early diagnosis of Legionnaires' disease caused by Legionella pneumophila serogroup 1.  
Lancet ii: 750.
140. NAGINGTON, J., WREGHITT, T.G., TOBIN, J. O'H., MACRAE, A.D. 1979.  
The antibody response in Legionnaires' disease. J.Hyg. 83: 377-381.
141. TAYLOR, A.G. & HARRISON, T.G. 1981.  
Formolised yolk sac antigen in early diagnosis of Legionnaires' disease caused by Legionella pneumophila serogroup 1.  
Lancet ii: 591-592.
142. BORNSTEIN, N., JANIN, N., BOURGUIGNON, G. et al. 1986.  
Prevalence of anti-Legionella antibodies in a healthy population and in patients with tuberculosis or pneumonia.  
Isr.J.Med.Sci. 22: 740-744.
143. SOMPOLINSKY, D., BOLDUR, I., GOLDWASSER, R.A. et al. 1986.  
Serological cross-reaction between Rickettsia typhi, Proteus

- vulgaris OX19, and Legionella bozemanii in a series of febrile patients. Isr.J.Med.Sci. 22: 745-752.
144. EDELSTEIN, P.H., MCKINNEY, R.M., MEYER, R.D. et al. 1980.  
Immunologic diagnosis of Legionnaires' disease: cross-reactions with anaerobic and microaerophilic organisms and infections caused by them. J.Infect.Dis. 141: 652-655.
145. WILKINSON, H.W., FARSHY, C.E., FIKES, B.J. et al. 1979.  
Measure of immunoglobulin G-,M- and A-specific titers against Legionella pneumophila and inhibition of titers against nonspecific, gram-negative bacterial antigens in the indirect immunofluorescence test for legionellosis. J.Clin.Microbiol. 10: 685-689.
146. COLLINS, M.T., McDONALD, J., HOIBY, N. & AALUND, O. 1984.  
Agglutinating antibody titers to members of the family Legionellaceae in cystic fibrosis patients as a result of cross-reacting antibodies to Pseudomonas aeruginosa. J.Clin. Microbiol. 19: 757-762.
147. KATZ, S.M. & HOLSCLOW, D.S.Jr. 1982.  
Serum antibodies to Legionella pneumophila in patients with cystic fibrosis. J.Am.Med.Ass. 248: 2284-2288.
148. LIND, K., COLLINS, M.T. & AALUND, O. 1984.  
Comparison of a micro-agglutination test and the indirect immunofluorescence test for Legionella antibodies in patients. Acta Pathol.Microbiol.Scand. (B) 92: 195-199.

149. TAYLOR, A.G. & HARRISON, T.G. 1983.

Serological tests for Legionella pneumophila serogroup 1 infections. Zbl.Bakt.Mikrobiol.Hyg. (A) 255: 20-26.

150. WILKINSON, H.W. 1983.

Status of serological tests for Legionella antigen and antibody at the Centers for Disease Control. Zbl.Bakt.Mikrobiol.Hyg. (A) 255: 3-7.

151. TAYLOR, A.G., HARRISON, T.G., DIGHERO, M.W. & BRADSTREET, C.M.P. 1979.

False positive reaction in the indirect fluorescent antibody test for Legionnaires' disease eliminated by use of formalin-killed yolk-sac antigen. Ann.Intern.Med. 90: 686-689.

152. CASTELLANI PASTORIS, M., CIARROCCHI, S., DI CAPUA, A. & TEMPERANZA, A.M. 1984.

Comparison of phenol-and heat-killed antigens in the indirect immunofluorescence test for serodiagnosis of Legionella pneumophila serogroup 1 infections. J.Clin.Microbiol. 20: 780-783.

153. WILKINSON, H.W. & BRAKE, B.J. 1982.

Formalin-killed versus heat-killed Legionella pneumophila serogroup 1 antigen in the indirect immunofluorescence assay for legionellosis. J.Clin.Microbiol. 16: 979-981.

154. DI CAPUA, A., TEMPERANZA, A.M., CIARROCCHI, S. & CASTELLANI PASTORIS M. 1985.

Upper limit of normal titer for Legionella pneumophila group

1 by indirect immunofluorescence and microagglutination tests in healthy population in Italy. Boll.Ist.Sieroter.Milan. 64: 475-478.

155. FARSHY, C.E., KLEIN, G.C. & FEELEY, J.A. 1978.

Legionnaires' disease organism by microagglutination and microenzyme-linked immunosorbent assay tests. J.Clin.Microbiol. 7: 327-331.

156. HARRISON, T.G. & TAYLOR, A.G. 1982.

A rapid microagglutination test for the diagnosis of Legionella pneumophila (serogroup 1) infection. J.Clin.Pathol. 35: 1028-1031.

157. TEMPERANZA, A.M., DI CAPUA, A., CIARROCCHI, S. et al. 1985.

More experience on the microagglutination test in the diagnosis of Legionella pneumophila infection. Microbiologica 9: 101-111.

158. ELDER, E.M., BROWN, A., REMINGTON, J.S. et al. 1983.

Microenzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G and immunoglobulin M antibodies to Legionella pneumophila. J.Clin.Microbiol. 17: 112-121.

159. HERBRINK, P., MEENHORST, P.L., GROOTHUIS, D.G. et al. 1983.

Detection of antibodies against Legionella pneumophila serogroups 1 to 6 and the Leiden-1 strain by micro ELISA and immunofluorescence assay. J.Clin.Pathol. 36: 1246-1252.

160. FARSHY, C.E., CRUCE, D.D., KLEIN, G.C. et al. 1979.

Immunoglobulin specificity of the microagglutination test for

- the Legionnaires' disease bacterium. Ann.Intern.Med. 90: 690.
161. BROWN, A., LEMA, M.W. & BROWN-SCHLUMPF, M.S. 1986.  
Antigenic specificity of antibody response in humans during legionellosis. Infection 14: 108-114.
162. SAMPSON, J.S., PLIKAYTIS, B.B. & WILKINSON, H.W. 1986.  
Immunologic response of patients with legionellosis against major protein-containing antigens of Legionella pneumophila serogroup 1 as shown by immunoblot analysis. J.Clin.Microbiol. 23: 92-99.
163. HORWITZ, M.A. & SILVERSTEIN, S.C. 1981.  
Interaction of the Legionnaires' disease bacterium (Legionella pneumophila) with human phagocytes. I. L.pneumophila resists killing by polymorphonuclear leukocytes, antibody, and complement. J.Exp.Med. 153: 336-397.
164. LENNETTE, D.A., LENNETTE, E.T., WENTWORTH, B.B. et al. 1979.  
Serology of Legionnaires' disease: comparison of indirect fluorescent antibody, immune adherence hemagglutination, and indirect hemagglutination tests. J.Clin.Microbiol. 10: 876-879.
165. SORIANO, F., AGUILAR, L. & GOMEZ GARCES, J.L. 1982.  
Simple immunodiffusion test for detecting antibodies against Legionella pneumophila serotype 1. J.Clin.Microbiol. 15: 330-331.
166. HOLLIDAY, M.G. 1980.  
The diagnosis of Legionnaires' disease by counterimmunoelec-

- trophoresis. J.Clin.Pathol. 33: 1174-1178.
167. BLACK, C.M., PINE, L., REIMER, C.B. et al. 1982.  
Characterization of antibody responses in legionellosis with an immunofluorometric assay. J.Clin.Microbiol. 15: 1077-1084.
168. MOIRAGHI RUGGENINI, A., CASTELLANI PASTORIS, M. & BENEDETTI, P. 1990.  
Epidemiologia e prevenzione della legionellosi in Italia. Federazione Medica 9: 721-726.
169. BARBAREE, J.M., GORMAN, G.W., MARTIN, W.T. et al. 1987.  
Protocol for sampling environmental sites for Legionellae. Appl.Environ.Microbiol. 53: 1454-1458.
170. GORMAN, G.W., BARBAREE, J.M. & FEELEY, J.C. 1985.  
Procedures for the recovery of Legionella from water. Developmental manual. Centers for Disease Control, Atlanta, U.S.A.
171. WADOWSKY, R.M., YEE, R.B., MEZMAR, L. et al. 1985.  
Hot water systems as sources of Legionella pneumophila in hospital and nonhospital plumbing fixtures. Appl.Environ.Microbiol. 49: 221-228.
172. CASTELLANI PASTORIS, M., FANTASIA MAZZOTTI, M., MONDELLO, F. et al. 1981.  
Antibody reacting with Legionella pneumophila in sera of Italian patients with respiratory illness of unknown cause. Microbiologica 4: 205-214.
173. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. 1981.  
Follow-up on legionellosis. Italy. MMWR 30: 198-199.

174. MOIRAGHI, A., CASTELLANI PASTORIS, M., BARRAL, C. et al.  
1987.  
Nosocomial legionellosis associated with use of oxygen bubble humidifiers and underwater chest drains. J.Hosp.Inf. 16: 47-50.
175. MURACA, P.W., YU, V.L. & GOETZ, A. 1990.  
Disinfection of water distribution systems for Legionella: a review of application procedures and methodologies. Infect. Control Hosp.Epidemiol. 11: 79-88.
176. STOUT, J., BEST, M. & YU, V.L. 1986.  
Susceptibility of members of the family Legionellaceae to thermal stress: implications for heat eradication methods in water distribution systems. App.Environ.Microbiol. 52: 396-399.
177. BEST, M.G., GOETZ, A. & YU, V.L. 1984.  
Heat eradication measures for control of nosocomial Legionnaires' disease: implementation, education, and cost analysis. Am.J.Infect.Control 12: 26-30.
178. MURACA, P., STOUT, J.E. & YU, V.L. 1987.  
Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing Legionella pneumophila within a model plumbing system. Appl.Environ.Microbiol. 53: 447-453.
179. HEAD, P & LAWSON, J.M. 1988.  
Chlorination of water supplies to control Legionella may corrode the pipes. JAMA 260: 2216. Letter.

180. DONDERO, T.J., RENDTORFF, R.C., MALLISON, G.F. et al. 1980.  
An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated cooling tower. N.Engl.J.Med. 302: 365-370.
181. GARBE, P.L., DAVIS, B.J., WEISFELD, J.S. et al. 1985.  
Nosocomial Legionnaires' disease: epidemiologic demonstration of cooling towers as a source. J.Am.Med.Assoc. 254: 521-524.
182. AGER, B.P. & TICKNER, J.A. 1983.  
The control of microbiological hazards associated with air-conditioning and ventilation systems. Am.Occup.Hyg. 27: 341-358.
183. PARSONS, G.T., ANDERSON, P. & HARPER, D. 1984.  
Legionnaires' disease - an unusual outbreak and its implications. Environmental Health 92: 208-213.
184. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1990.  
Epidemiology, prevention and control of legionellosis: Memorandum from a WHO meeting. Bulletin of the World Health Organization, 58: 155-164.
185. MAISONNET, M. 1985.  
Les recommandations du Conseil de l'Europe en matière d'hygiène hospitalière et leur mise en pratique. N. 481: 25-36.

*Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità  
e Responsabile scientifico: Francesco Antonio Manzoli*

*Direttore responsabile: Vilma Alberani*

*Stampato dal Servizio per le attività editoriali  
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN  
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988*

*Roma, giugno 1991 (n. 2) 5° Suppl.*

***La responsabilità dei dati scientifici e tecnici  
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori***