

Progetto

*Sostegno al potenziamento delle capacità laboratoristiche locali per approntare la  
diagnosi microbiologica di legionellosi*

g

pe

## ANALISI STRUTTURATA DEL PROBLEMA

### *Problema*

L'aumento di dieci volte del numero casi di legionellosi notificati al Registro Nazionale di Sorveglianza dell'Istituto Superiore di Sanità nell'ultimo decennio, ha sollecitato le istituzioni sanitarie del nostro paese a porre una maggiore attenzione verso questa malattia infettiva, in termini di aggiornamento delle linee guida diffuse nel 2000, progetti dedicati al potenziamento delle capacità laboratoristiche, come già sancito con provvedimento del 13 gennaio 2005 nell'Accordo, ai sensi dell'articolo 4 del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, tra il Ministero della salute e i presidenti delle regioni e delle province autonome, avente ad oggetto «Linee guida recanti indicazioni ai laboratori con attività di diagnosi microbiologica e controllo ambientale della legionellosi» (Gazzetta Ufficiale N. 29 del 5 Febbraio 2005), corsi di formazione presso ASL ed ARPA, supporto tecnico centrale alle Regioni nelle indagini epidemiologiche al fine di garantire un'adeguata e precoce risposta per l'identificazione, il controllo e la prevenzione dei casi. Tuttavia, nonostante le numerose azioni intraprese e l'attività del sistema di sorveglianza, la distribuzione di questo microrganismo nell'ambiente presenta punti ancora oscuri, come risulta dal rapporto annuale della legionellosi (1), in cui viene riportato che **nel 69% dei casi non è nota l'origine dell'infezione.**

Un esempio eclatante di tale problema, è rappresentato dall'epidemia in corso in un piccolo Comune della Lombardia, in cui si sono verificati 33 casi di legionellosi con 4 decessi, e della quale, nonostante le incessanti indagini ambientali effettuate dalle autorità sanitarie sui numerosi siti possibili, ancora non si conosce la fonte dell'infezione.

### *Spiegazioni plausibili*

Questo "gap" informativo è ascrivibile principalmente al metodo diagnostico utilizzato per la legionellosi che, nella maggior parte dei laboratori, è rappresentato solo dalla ricerca dell'antigene urinario. Questo test, è rapido, semplice, altamente sensibile e relativamente economico, ed ha soppiantato gli altri metodi diagnostici usati, in particolare l'esame colturale, che consente invece l'isolamento del germe e l'eventuale identificazione di altri sierogruppi o specie di legionella non rilevati attraverso l'antigenuria. L'orientamento diagnostico verso la determinazione dell'antigene urinario è da attribuire anche ai costi piuttosto sostenuti dei terreni di coltura, che si utilizzano in laboratorio esclusivamente per legionella e non per altri microrganismi.

Tutto ciò ha ridotto pesantemente il numero di ceppi isolati dall'uomo, ostacolando la possibilità di individuare la fonte di infezione ambientale relativa al caso di malattia attraverso il "matching" molecolare tra il ceppo umano e i ceppi ambientali.

A questo proposito, sempre in riferimento all'epidemia in corso in Lombardia, ciò che non ha ancora consentito l'individuazione della fonte dell'infezione è la presenza di un solo ceppo di origine umana da confrontare con i ceppi ambientali isolati nei diversi siti.

Questo scenario, preoccupante nel caso si verifichi un'epidemia, si ripresenta allo stesso modo con la frequenza sopra riportata (69% dei casi) quando ci sono cluster epidemici o casi sporadici.

### *Soluzioni proposte*

Al fine del potenziamento delle capacità laboratoristiche del Paese, per approntare una

diagnosi di legionellosi basata sul metodo colturale nei laboratori ospedalieri di microbiologia, si propone di valutare il grado di recepimento ed attuazione dei contenuti del sopraccitato Accordo da parte delle Regioni e PP.AA., con un censimento dei laboratori, di base e regionali di riferimento, individuati, per creare una solida rete per la diagnosi microbiologica di legionellosi, migliorando le conoscenze sull'origine dell'infezione, sull'incidenza di casi di legionellosi dovuti ai diversi sierogruppi e specie di legionella e, in ultimo, contribuire a ridurre la sottostima di casi notificati.(1)

Tra i laboratori individuati dalle Regioni e PP.AA., il Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle dell'ISS, individuerà ospedali con laboratori di microbiologia, distribuiti sul territorio nazionale, che accolgano un maggior numero di malati con infezioni respiratorie.

Il programma d'azione prevede, in primo luogo, una fase di formazione rivolta ai medici, in cui verrà indicato un protocollo operativo che indichi le modalità di reperimento dei campioni clinici nei pazienti affetti da polmonite. Un training teorico pratico verrà impartito ai microbiologi laboratoristi, cui verranno distribuite procedure operative validate dall'ISS per l'analisi dei campioni.

Tra i laboratori selezionati verrà individuato un singolo ospedale nel quale sarà condotto uno studio pilota per massimizzare la diagnosi di legionellosi da secrezioni respiratorie su tutte i casi di polmonite ricoverati, saggiando, mediante Real-time PCR, sia le secrezioni respiratorie che i sieri dei pazienti.

I laboratori che selezionati riceveranno terreni di coltura e reagenti per l'espletamento di tale attività.

Complementare alla ricerca di legionella su campioni clinici, il laboratorio nazionale di riferimento dell'ISS raccoglierà i risultati che deriveranno dalle analisi su campioni ambientali, effettuati dai competenti laboratori, relativi ai casi umani presi in esame, al fine di ottenere i ceppi ambientali da confrontare con quelli isolati dall'uomo.

Il Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle dell'ISS, inoltre, fornirà, ove le caratteristiche epidemiche lo richiedano, in accordo con le Autorità Regionali e su mandato del Ministero della Salute, diretto supporto tecnico alle indagini microbiologiche in caso di epidemie a livello locale.

### *Fattibilità*

Per questo studio verranno individuati grandi ospedali, rappresentativi per il nord, centro e sud Italia, che svolgeranno anche funzione di riferimento per la raccolta di campioni clinici dagli altri ospedali che non entreranno a far parte della rete.

### *Criticità*

L'unica criticità è quella relativa alla difficoltà nel reperire le secrezioni respiratorie dai pazienti, in special modo quelli affetti da legionellosi, poiché, come noto dalla letteratura, essi presentano una tosse non produttiva.

### *Bibliografia*

La legionellosi in Italia nel 2006. Notiziario Istituto Superiore di Sanità. In corso di stampa

**OBIETTIVO GENERALE:** Potenziamento delle capacità laboratoristiche regionali, al fine di costituire una rete di laboratori per la diagnosi microbiologica della legionellosi.

**OBIETTIVO SPECIFICO 1:** Confronto dei ceppi isolati dall'uomo e quelli isolati dall'ambiente per risalire all'origine dell'infezione

**OBIETTIVO SPECIFICO 2 :** Misura dell'efficienza del metodo colturale rispetto alla Real time PCR.

**OBIETTIVO SPECIFICO 3:** Revisione delle Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi del 4 aprile 2000.

**OBIETTIVO SPECIFICO 4.** Supporto tecnico alle indagini microbiologiche per epidemie locali, ove richiesto

*el*

*fe*

## PIANO DI VALUTAZIONE PER OGNI OBIETTIVO SPECIFICO

<b>Obiettivo generale</b>	Potenziamento delle capacità laboratoristiche regionali, al fine di costituire una rete di laboratori per la diagnosi microbiologica della legionellosi.	
<b>Obiettivo specifico 1</b>	Confronto dei ceppi isolati dall'uomo e quelli isolati dall'ambiente per risalire all'origine dell'infezione.	
<b>Obiettivo specifico 2</b>	Misura dell'efficienza del metodo colturale rispetto alla Real time PCR.	
<b>Obiettivo specifico 3</b>	Revisione delle Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi del 4 aprile 2000.	
<b>Obiettivo specifico 4</b>	.Supporto tecnico alle indagini microbiologiche per epidemie locali, ove richiesto	
<b>Standard di risultato</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Zero trimestri con ceppi non provenienti dai laboratori selezionati che partecipano alla sorveglianza;</li> <li>- Confronto molecolare di tutti i ceppi umani ed ambientali al fine di risalire all'origine dell'infezione.</li> <li>- Misura dell'efficienza della Real-time PCR per la diagnosi di legionellosi.</li> <li>- Aggiornamento delle linee guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi e stesura di un nuovo documento.</li> <li>- Intervento in tutti gli eventi epidemici che si verificano sul territorio nazionale.</li> </ul>	
<b>Azione</b>	<b>Indicatore/i di processo</b>	<b>Standard di processo</b>
Individuare un certo numero di laboratori italiani per garantire la diagnosi microbiologica di legionellosi	Numero di laboratori della rete che inviano ceppi	Almeno 7 suddivisi in Nord, Centro e Sud Italia
	Numero di ceppi ricevuti dai laboratori partecipanti	>=90% dei ceppi dei ceppi isolati dal laboratorio partecipante
Corso di formazione con	corsi di formazione effettuati	Almeno 1 ogni anno

*a*

*pe*

stesura e distribuzione di protocolli operativi ai medici e microbiologi	Numero di microbiologi e medici formati sul totale dei microbiologi che partecipano alla sorveglianza durante tutto l'anno	$\geq 80\%$
Confronto dei ceppi umani ed ambientali	Numero di casi di legionellosi con identificazione della fonte di infezione	$\geq 50\%$ dei casi per i quali è stato isolato il ceppo
Analisi delle secrezioni respiratorie e dei sieri mediante Real-time PCR	Numero di secrezioni respiratorie e di sieri pervenuti	$\geq$ al 80%
Diffondere i risultati	Realizzazione di reports trimestrali	4 per anno
	Diffusione dei dati a livello internazionale	
	Meeting nazionale per la presentazione dei risultati	1 per anno
Convocazione mensile di un gruppo di lavoro rappresentato dai diversi esperti nel campo della legionella e legionellosi	Revisione delle Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi del 4 aprile 2000.	Pubblicazione su G.U.
Organizzazione di piani di azione e protocolli operativi nel caso in cui si verifichi un evento epidemico	Supporto tecnico - scientifico alle indagini microbiologiche per epidemie locali.	Intervento nel 100% dei casi

*el*

*pe*

Mese	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Censimento dei laboratori (accordo Ministero della salute/Regioni e PP.AA.) e selezione facenti parte della rete																									
Formazione di microbiologi e medici																									
Distribuzione di protocolli operativi																									
Inizio della raccolta ed analisi di campioni clinici da tutti i casi di polmonite da parte dei laboratori																									
Invio al laboratorio dell'ISS di parte dei campioni clinici per analisi Real-time PCR																									
Analisi dei dati																									
Definizione del gruppo di lavoro per la stesura della revisione delle linee guida e suddivisione degli argomenti da aggiornare e/o modificare																									
Incontri mensili per la revisione delle linee guida																									

*[Handwritten signature]*



PIANO FINANZIARIO

Unità Operativa 1	Referente	Compiti			
	Maria Luisa Ricci	Coordinamento			
<b>Risorse</b>					
	<b>Compiti e prodotti attesi</b>	<b>1° anno</b>	<b>2° anno</b>		<b>Totale</b>
<b>Personale</b>					
1 biologo molecolare	Analisi mediante Real- time PCR	43000			43000
<b>Beni e servizi</b>					
Kit di identificazione e/o tipizzazione e pagamento servizio sequenze per tipizzazione	Tipizzazione fenotipica e genomica dei ceppi Isolamento di Legionella dall'ambiente e dall'uomo				
Attrezzature per il campionamento, terreni di coltura, reagenti,etc	Intervento "sul campo" in caso di eventi epidemici ed analisi dei campioni nel laboratorio Nazionale di Riferimento o nel laboratorio Regionale di Riferimento.	30000	10000		40000
Spese di pubblicazione e organizzazione workshop nazionale	Presentazione e diffusione dei risultati				
Spese postali	Invio campioni				
<b>Missioni</b>					
Riunioni con medici e microbiologi partecipanti alla rete	Coordinamento e sviluppo delle attività	5000	2000		7000
Partecipazioni a convegni e congressi	Presentazione e diffusione dei risultati				

el

he

Missioni per supporto in caso di eventi epidemici					
<b>Spese generali</b>					
spese generali		5000	5000		10000
<b>Totale</b>					100000

