

# CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* ISOLATA IN FRIULI VENEZIA GIULIA

Iacumin L.<sup>1\*</sup>, Felice A.<sup>2</sup>, Franchi M.<sup>2</sup>, De Martin S.<sup>2</sup>, Vitacolonna N.<sup>3</sup>, Ortali A.<sup>2</sup>, Ballus V.<sup>2</sup>, Civilini M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze AgroAlimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine, via Sondrio 2/A, 33100 Udine, Italy

<sup>2</sup>ARPA FVG, Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente del Friuli Venezia Giulia, Laboratorio Alimenti e Microbiologia

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Matematiche, Informatiche e Fisiche, Università degli Studi di Udine, via delle Scienze 208, 33100 Udine

\*Corresponding author: lucilla.iacumin@uniud.it phone +39 0432 558126, fax +39 0432 558130

## INTRODUZIONE

Il Laboratorio dell'ARPA FVG in collaborazione con le Aziende per l'Assistenza Sanitaria della Regione svolge dal 2002 un'intensa attività di monitoraggio su tutto il territorio regionale per garantire un'adeguata sorveglianza epidemiologica della legionellosi.

In Friuli Venezia Giulia nel 2017 sono stati notificati 32 casi di legionellosi pari a 26,2 casi/milione di abitanti.

Per questo studio sono stati impiegati **146 ceppi isolati** da campioni d'acqua raccolti durante indagini ambientali e procedure di monitoraggio in Friuli Venezia Giulia.

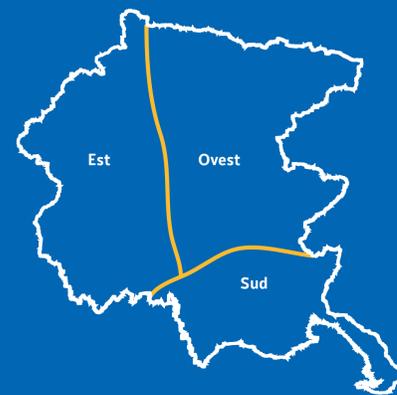
## FINGERPRINT GENETICO

la caratterizzazione ha previsto l'uso di tecniche di *fingerprint* genetico, quali la Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD-PCR) (Zeybek *et al.*, 2009; Alexandropoulou *et al.*, 2015) e Sau-PCR (Iacumin *et al.*, 2006), previa estrazione del DNA con metodo enzimatico

I profili ottenuti sono stati analizzati tramite un software specifico che utilizza gli algoritmi di correlazione di Pearson e Dice e l'UPGMA.

L'elaborazione ha consentito la costruzione del dendrogramma.

TRE ZONE DEL FRIULI VENEZIA GIULIA CONSIDERATE PER L'ANALISI



## OBIETTIVO

studiare la **variabilità genetica** tra i ceppi di *Legionella pneumophila* isolati in Friuli Venezia Giulia dall'ARPA FVG, al fine di comprenderne meglio la distribuzione e l'evoluzione nello spazio e nel tempo

## RISULTATI

Considerando una percentuale di similarità dell'80 %, dall'analisi dei dendrogrammi ottenuti sono stati evidenziati **38 gruppi**, mentre 38 ceppi risultano diversi da ogni altro, dimostrando un'elevatissima variabilità genetica fra i ceppi testati.

Negli ultimi 3 anni dell'indagine i ceppi di *Legionella pneumophila* si sono distribuiti in un numero maggiore di cluster, questo potrebbe indicare un aumento della variabilità genetica fra i ceppi isolati.

In generale, i risultati mostrano che, nella regione FVG, la distribuzione dei ceppi di *Legionella pneumophila* è stata influenzata dalla **posizione geografica**. In particolare, è stata evidenziata la relazione tra la presenza di isolamenti e gli alti tassi di umidità di alcune aree geografiche.

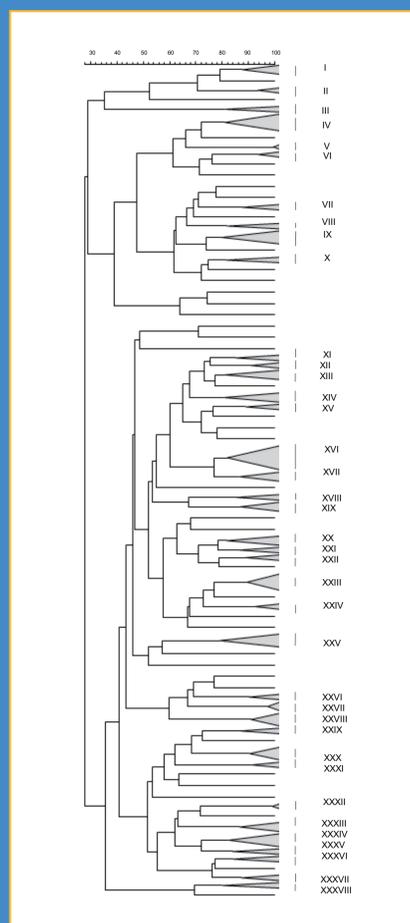
La distribuzione dei ceppi non ha però permesso di trovare una correlazione considerando il periodo e il luogo del campionamento.

VALUTAZIONE DELLA COMPOSIZIONE DEI 38 CLUSTER

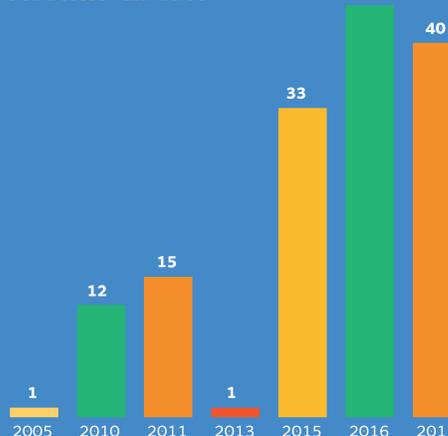
Cluster	N° Isolati	Anno					Tipologia di Struttura			Zona		
		2010	2011	2015	2016	2017	Privata	Recettiva	Sanitaria	Sud	Est	Ovest
I	3			3				3			3	
II	2			3				2			2	
III	2					2	2					2
IV	5				5		5					5
V	2				2			2		2		
VI	2				2			2		2		
VII	2	2						1	1	1	1	
VIII	2	2						2	1	1	1	
IX	4					4	2	1	1	3	1	
X	2	2						2	1	1	1	
XI	2				2		1	1	1	1	1	
XII	2				2			1	1	1	1	
XIII	3		1		2			1	2	1	2	
XIV	3				3		1	2		1	2	
XV	2			1	1		1	1	1	1	1	1
XVI	7					7	6	1	2	2	3	
XVII	3					3	2	1	1	1	2	
XVIII	2		2				1	1	1	1	1	
XIX	3				3		2	1		1	2	
XX	3		3					1	2		3	
XXI	2		2					2			2	
XXII	2		2					2	2			
XXIII	5				5			5			1	4
XXIV	2		2					2	1	1	1	
XXV	4				4		4				4	
XXVI	2			2			2					2
XXVII	3			3				3				3
XXVIII	4			4			3	1				4
XXIX	2			2					2			2
XXX	4			4				4				4
XXXI	2			2			2					2
XXXII	2				2		2					2
XXXIII	3				3		3				2	1
XXXIV	4				4		1	3	1		3	
XXXV	2				2		1	1	1	1	1	
XXXVI	2				2		2			1	1	
XXXVII	2				2		1	1			2	
XXXVIII	2		1	1			1	1			1	

### ANALISI DEL DENDROGRAMMA ALL'80%

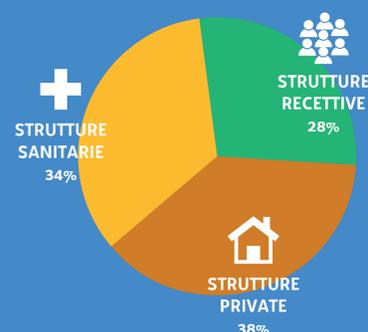
I 38 cluster sono espressi in numeri romani



### CEPPI RIVITALIZZATI E ANALIZZATI (TOTALE 146) SUDDIVISI PER ANNO



### PERCENTUALE DI ISOLATI RAGGRUPPATI PER TIPOLOGIA DI STRUTTURA



## CONCLUSIONI

- Elevata variabilità genetica
- Plasticità di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1
- Elevato numero di cluster anche a percentuale di ridotta similarità

## BIBLIOGRAFIA

Alexandropoulou, I. G., Ntougias, S., Konstantinidis, T. G., Parasidis, T. A., Panopoulou, M., & Constantinidis, T. C. (2015). Environmental surveillance and molecular epidemiology of waterborne pathogen *Legionella pneumophila* in health-care facilities of Northeastern Greece: a 4-year survey. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 7628-7640.

Zeybek, Z., Türetgen, I., Erdem, A. K., Filoğlu, G., & Çotuk, A. (2009). Profiling of environmental *Legionella pneumophila* strains by randomly amplified polymorphic DNA method isolated from geographically nearby buildings. *Environmental Monitoring and Assessment*, 149(1-4), 323-327.

Iacumin, L., Comi, G., Cantoni, C., Cocolin, L. (2006) Molecular and technological characterization of *Staphylococcus xylosum* isolated from naturally fermented Italian sausages by RAPD, Rep-PCR and Sau-PCR analysis. *Meat Science*, 74 (2), 81-288.