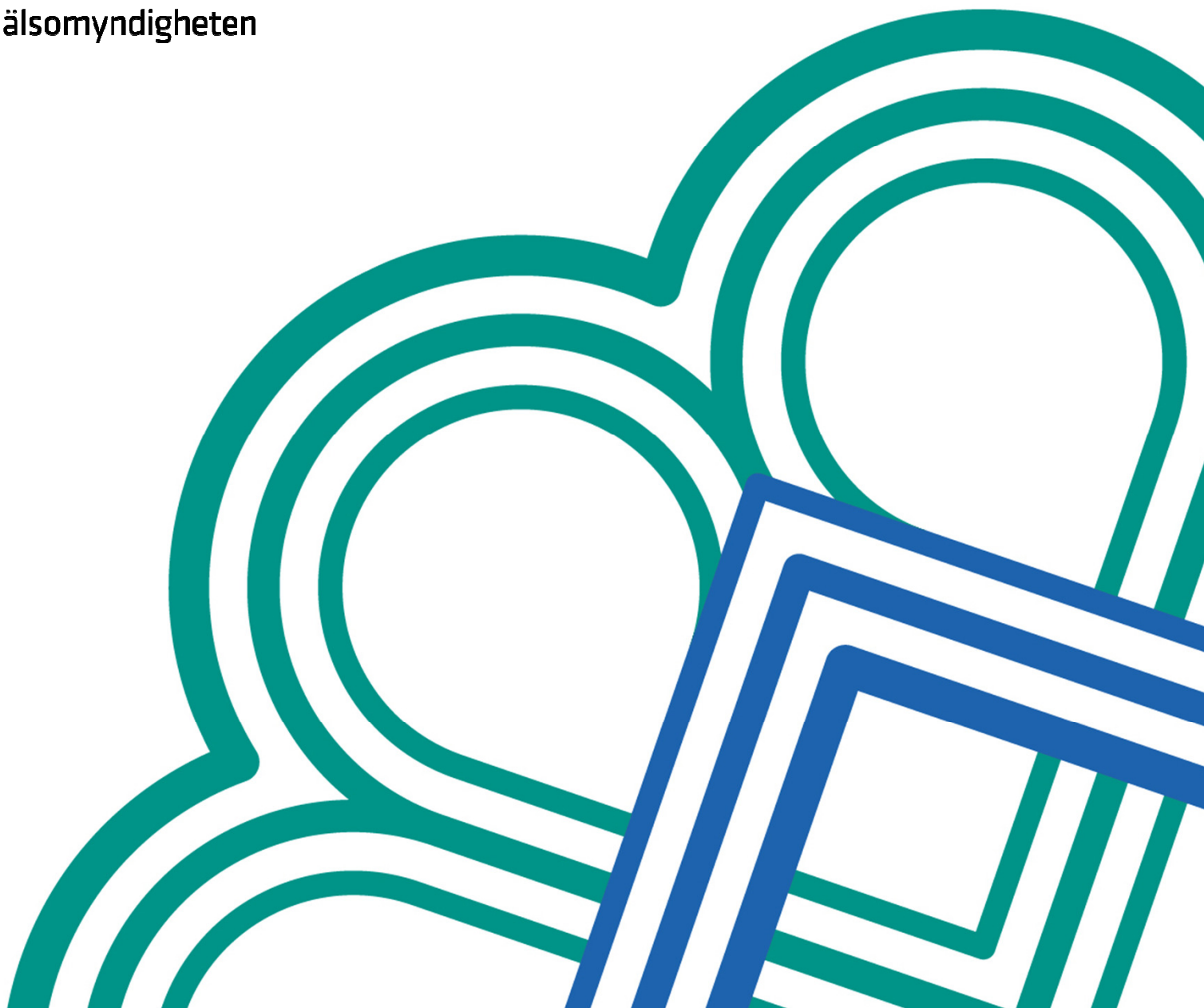


Folkhälsomyndigheten



Typning av Legionella på Folkhälsomyndigheten

**Görel Allestam & Caroline Schönning,
Folkhälsomyndigheten**

Hygiendagarna i Umeå, 17 april 2015

Familjen Legionellaceae - 59 arter varav 26 har associerats med sjukdom

L. birminghamensis

L. sainthelensi

★ *L. norrlandica*

L. bozemanii sg 1-2

L. anisa

L. erythra sg 1-2

L. tunisiensis o *L. massiliensis*
(2012)

L. dumoffi

L. wadsworthii

L. jordanis

L. oakridgensis

L. longbeachae sg 1-2

L. pneumophila sg 1-15

80-90%

L. micdadei

L. hackeliae

L. tusconensis

L. pneumophila



Folkhälsomyndigheten

Vanligast vid sjukdom

L. pneumophila sg 1 (85%)

L. pneumophila sg 2-15

L. bozemanii sg 1 och 2

L. longbeachae sg 1 och 2

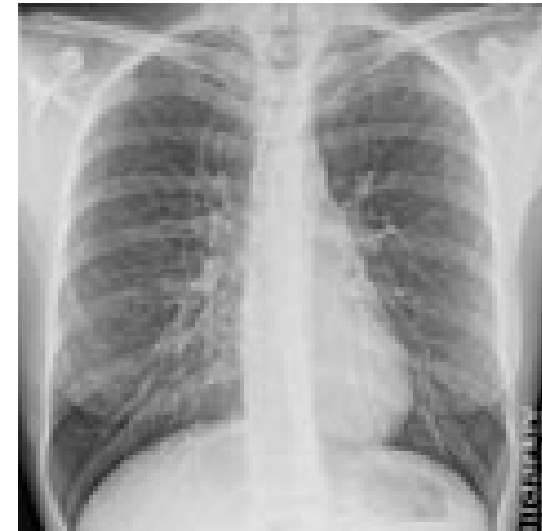
L. micdadei

L. anisa

L. dumoffi

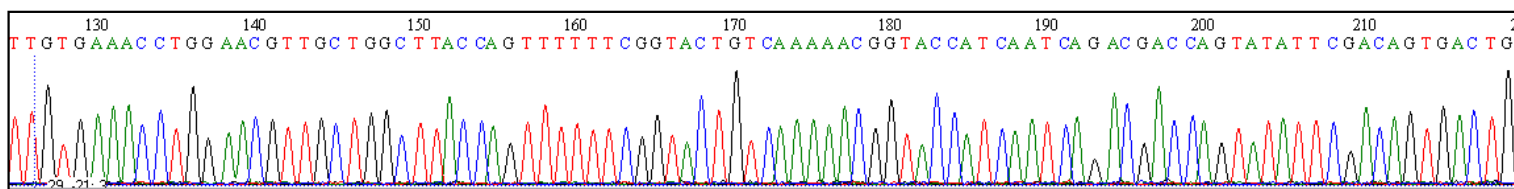
L. gormanii

L. jordanis



Epidemiologisk typning av Legionella

- Fastställa likhet mellan patient och miljöisolat
= fastställa smittkälla
 - Serotypning, latexagglutination m. m.
 - Subtypning av L pn sg 1, Dresdenpanelen
 - Artbestämning med MALDI TOF eller sekvensering av *mip*-genen
 - Sekvenstypning (ST) av 7+1 genfragment (alleler)



Nationella mikrobiella övervakningsprogram 2014

Bakterier

Legionella pneumophila

Löpande

SBT (Sequence based typing)

Årlig rapportering

- <http://www.folkhalsomyndigheten.se/documents/laboratorieanalys/sammanstallning-mikrobiella-overvakningsprogram20nov2014.pdf>

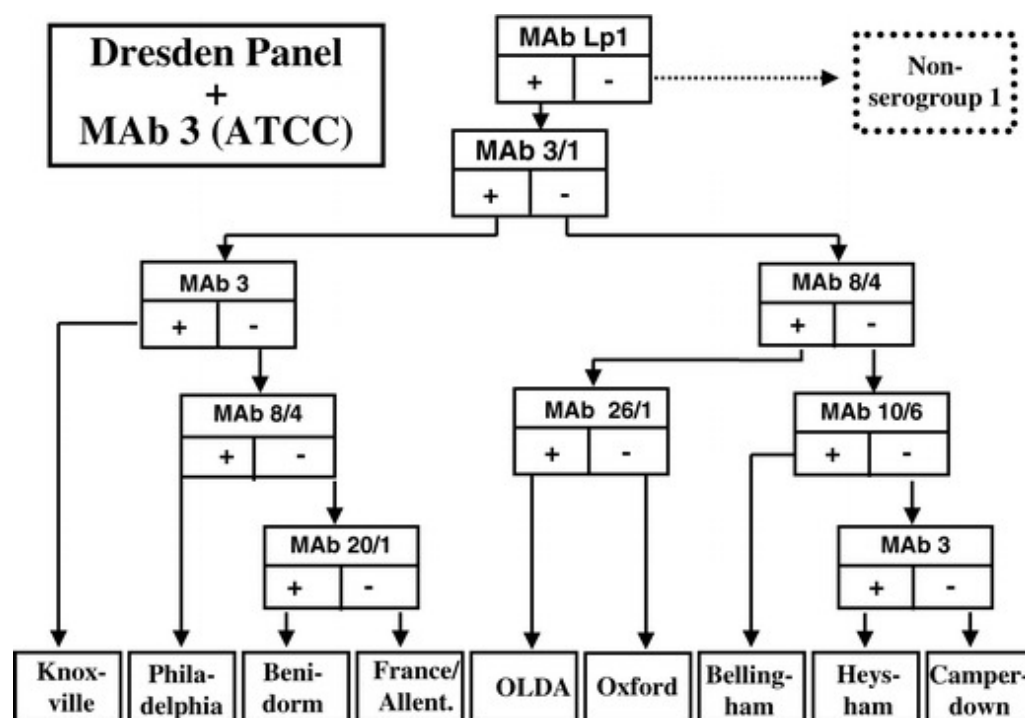
Serotypning av Legionella



Latexagglutination (Dryspot , Oxoid)

- *Legionella pneumophila* sg 1
- *Legionella pneumophila* sg 2-14
- *Legionella* species

Subtypning av L. pn sg 1 enligt Dresdenpanelen av virulensepitopen MAb 3/1



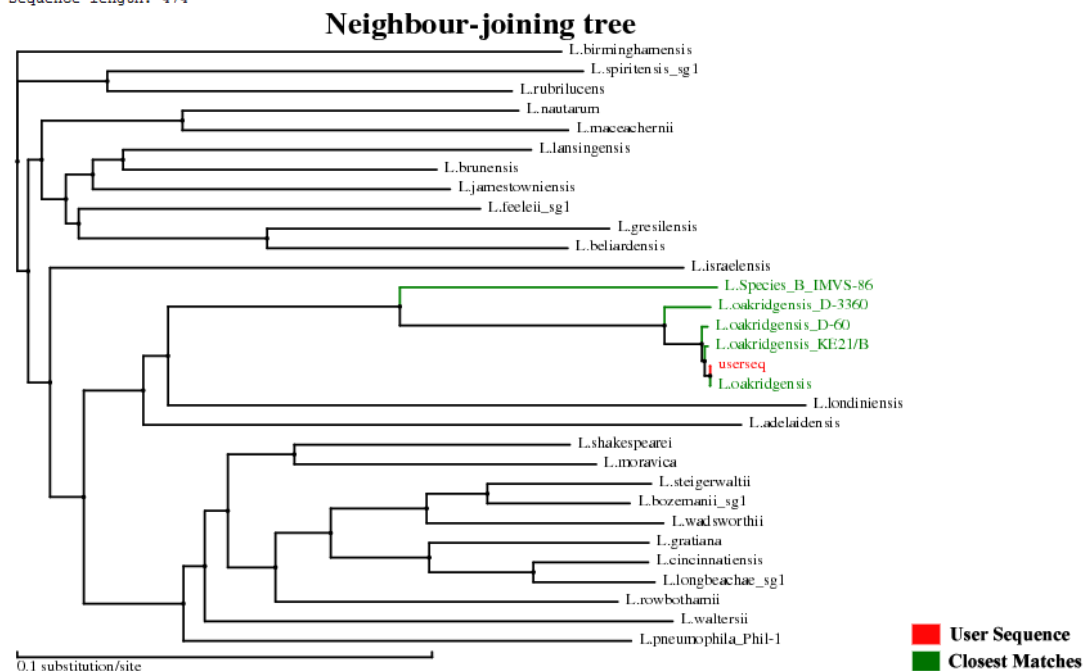
Monoclonal subtype	n	%
Allentown	52	27
Benidorm	34	18
Knoxville	53	27
Philadelphia	26	13
Subtotal MAb 3/1 positive ^a	165	85
Bellingham	8	4
OLDA	20	11
Subtotal MAb 3/1 negative	28	15
Total	193	100

Table 13. Legionnaires' disease in Europe 2012, Surv. report

Artbestämning med sekvensering av *mip*-genen

Typningsresultat: *Legionella oakridgensis* Figur 1 G75C kol 1

Your sequence is extracted from a text format. There is no associated quality information. We suggest you check that the quality of your source sequence is good for at least the first 300 bases in order to have confidence in the result.
Sequence length: 474



Sekvens:

```
GATGCTTCATCATTAACACGACACAGACAAGCTGTCTTACAGTATTGGTATTGATCTTGGCAAAAATTTT
AAACGGCAAGGCATTGAAATCAACCCGCAAGCAATGGTTCAAGGGTTGCAAGATGGTATCAGTGGCAATA
AGCAACAATTGACTGAAGAACAATGAAAGATGTTCTCACTAAATTTCAACGTGATCTGATGACGAAGCGTA
CGGCTGAATATAATAAAAAAGCAGAAGACAATAAAAAAGAAAGGCCGAAGAATTTCTGGAGCAAAAATAATCCA
AAGAAGGGGTAGTGACCTTACCCAGTGGATTACAATATAAAATTCCTAAAGCAGGGGATGGCCAAAAACCT
GTAAAGAAGATACCGTGACAGTGGAGTATACTGGTTCGGTTGATTAATGGTGAAGTATTTGACAGTACGGA
AAAAATGGAAAACCGCCAGTTTAACTGTCTCAAGTCATTCCA
```

Sid .



Folkhälsomyndigheten

Artbestämning med MALDI-TOF MS (masspektrofotometri)

- Bruker databas 33 arter
- Kompletterat med nya isolat från 43 arter
- Funnit en ny legionellaart som är mest lik *L. pneumophila* (Rizzardi, et al. 2014)
- Förstahandsval vid artbestämning

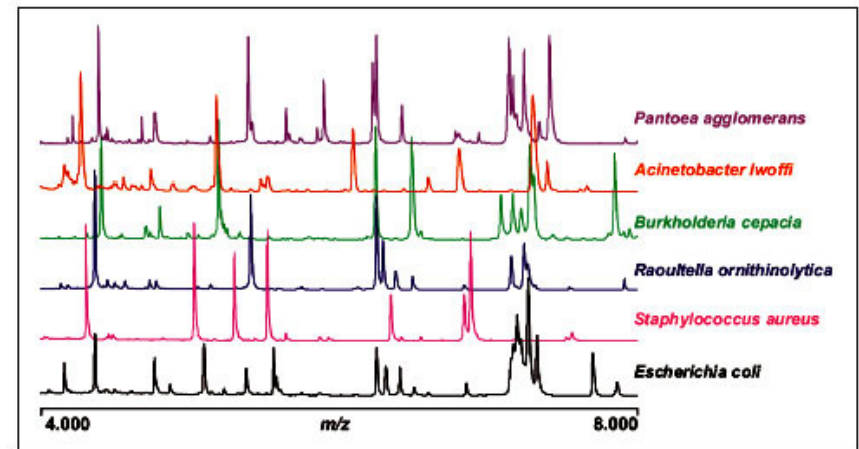
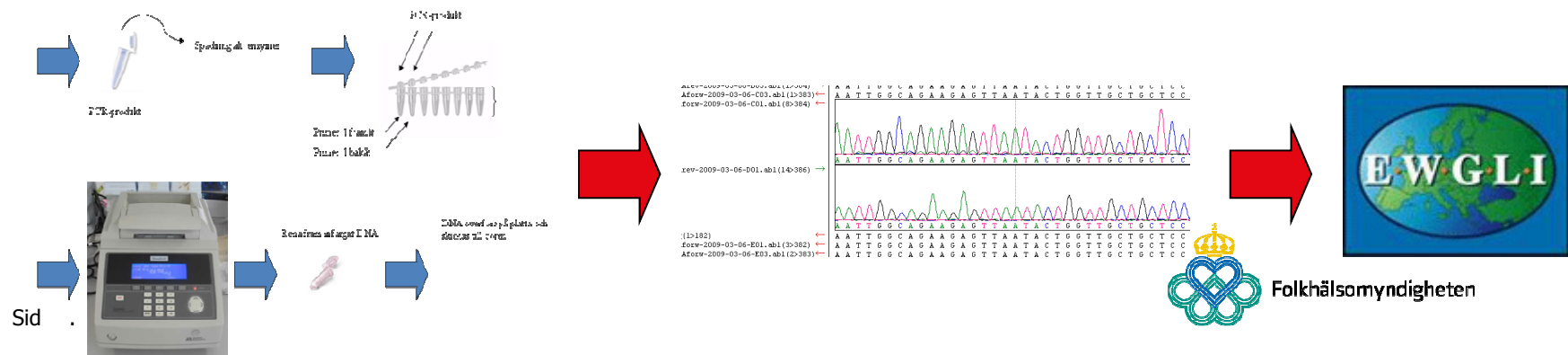
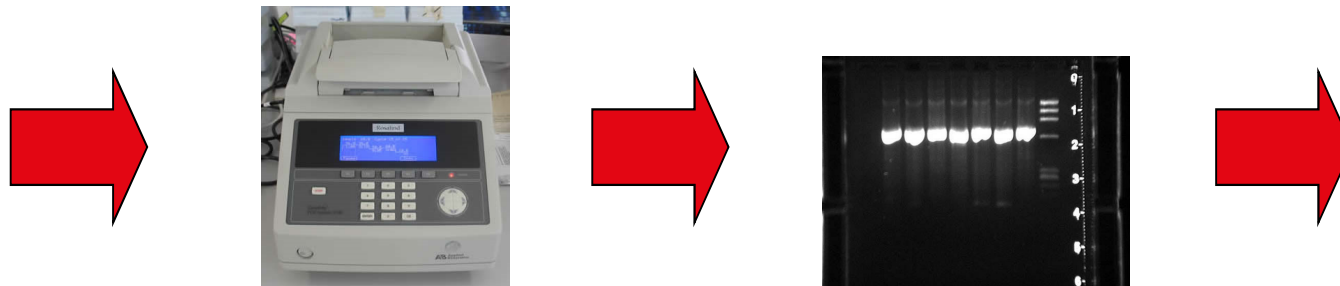
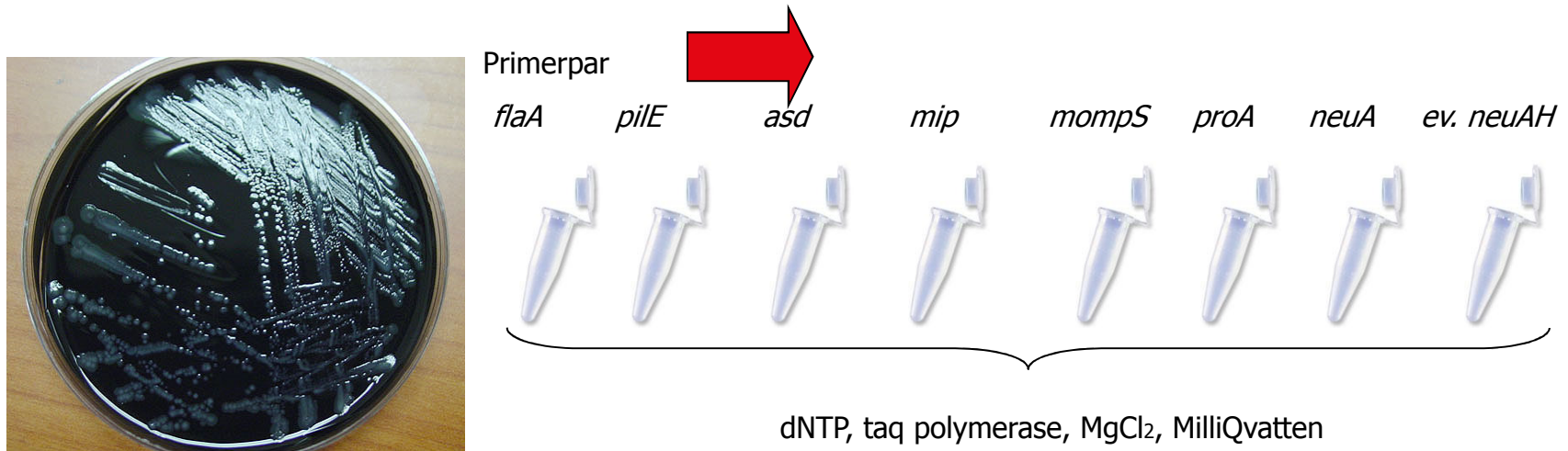


Figura 1. Diferentes perfiles de proteínas obtenidas para diferentes bacterias por MALDI-TOF MS (cortesía bioMérieux).

Sekvensbaserad typning för att fastställa samband patient - miljö



Sekvensbaserad typning (SBT)

- Jämför olika gener, får en sekvenstyp (ST) beroende på kombinationen av 7+1 olika gener
- "Standardmetod" i Europa
- Exempel:
 - Två patienter i Sverige diagnostiserade med *Legionella pneumophila* sg 1, ST 42
 - Prover tagna i hemmen negativa i odling
 - Epidemiologisk utredning ledde till bubbelpool på hotell i Ungern
 - Prov från bubbelpoolen skickat till SMI och typat till samma ST



<http://www.bing.com/images/search?q=bubbelpool&qpv=bubbelpool&FORM=IGRE#view=detail&id=81E9554D330D56FCF58ED04AC557EFB1C4638E508selectedIndex=2>



Databas för SBT

http://bioinformatics.phe.org.uk/legionella/legionella_sbt/php/sbt_homepage.php

Total number of entries:	9923
Number of Sequence Types :	1985
Number of <i>flaA</i> alleles:	38
Number of <i>pilE</i> alleles:	48
Number of <i>asd</i> alleles:	66
Number of <i>mip</i> alleles:	75
Number of <i>mompS</i> alleles:	91
Number of <i>proA</i> alleles:	52
Number of <i>neuA</i> alleles:	56
Number of <i>neuAh</i> alleles:	29

Sample source, total number of records 9923



Register över isolat per land

Identifier	Strain	Profile	ST	Serogroup	mAb	Isolation date	Source	Town	Region	Country	Inv. Context
EULV9766	14-36579	6,10,15,28,17,14,207	1916	2-14	NA	2014-10-01	Environmental	Karlstad	Norra Mellansverige	SWE	Nosocomial
EULV9764	14-36874	2,10,3,1,9,4,3	1915	1	NT	2014-10-30	Clinical	Unknown	Norra Mellansverige	SWE	Community-acquired
EULV7698	SMI 13-35836	3,6,1,6,14,9,13	1568	2-14	NA	2013-07-19	Environmental	Landskrona	Sydsverige	SWE	Community-acquired
EULV7699	SMI 13-35955	3,6,1,6,14,9,13	1568	2-14	NA	2013-07-17	Clinical	Landskrona	Sydsverige	SWE	Community-acquired
EULV6424	SMI 12-34637	6,10,2,3,13,4,6	1256	1	NT	2012-05-15	Clinical	Holm	Vastsverige	SWE	Community-acquired
EULV5760	201137765	2,10,3,28,13,14,3	1153	1	Benidorm	2011-10-15	Clinical	Jönköping	Sydsverige	SWE	Community-acquired
EULV5761	201138480	2,10,3,28,13,14,3	1153	1	NT	2011-12-16	Environmental	Jönköping	Sydsverige	SWE	Community-acquired
EULV6439	SMI 201137765	2,10,3,28,13,14,3	1153	1	Benidorm	2011-11-08	Clinical	Jönköping	Vastsverige	SWE	Community-acquired
EULV6854	SMI 12-37618	1,10,3,3,9,4,3	1105	2-14	NA	2012-11-22	Environmental	Stockholm	Stockholm	SWE	Community-acquired
EULV6855	SMI 12-37618	1,10,3,3,9,4,3	1105	2-14	NA	2012-11-22	Environmental	Stockholm	Stockholm	SWE	Community-acquired
EULV6853	SMI 12-37537	1,10,3,3,9,4,3	1105	2-14	NA	2012-11-30	Environmental	Stockholm	Stockholm	SWE	Community-acquired
EULV5597	201137981	1,10,3,3,9,4,3	1105	6	NA	2011-11-23	Environmental	Stockholm	Stockholm	SWE	Nosocomial
EULV5596	201137844	1,10,3,3,9,4,3	1105	6	NA	2011-11-11	Clinical	Stockholm	Stockholm	SWE	Nosocomial

Sverige har 110 isolat registrerade, från 27 orter.

De vanligaste ST i Sverige

ST 1 – 19 på 8 orter

ST 93 – 10 på 4 orter

ST 68 – 7 på 5 orter

ST 80 – 6 på 3 orter

Sid .



Folkhälsomyndigheten

Helgenomsekvensering (WGS)

- Försök att skilja mellan samma ST
- Fastställa samband
- Nya arter
- FoU

Antal smittspårningar på Folkhälsomyndigheten och antal fall där smittkälla kunnat fastställas

År	Inhemska fall	Utredningar	Fastställd smittkälla	Fastställd med SBT
2009	83	36	7	0
2010	85	56	19	6
2011	74	44	14	7
2012	72	33	13	7
2013	84	40	16	6

SBT = sekvensbaserad typning



Smittspårning Legionella

- 53 årig man insjuknade feb 2010, med lunginflammation och hög feber
 - LD diagnos med PCR på sputum och BAL , U-ag neg (1)
- Utfört reparationsarbete i vattenfylld kulvertkammare
 - Vattenprov 24 000 000 cfu/L (2)
- Identitet visad med sekvenstypning av
 - 7 alleler för *L. pneumophila* (2)
 - Patient-DNA från sputum/BAL 10,22,7,47,16,---,9
 - Miljöisolat från kammare 10,22,7,47,16,18,9
 - Sekvenstyp (ST) 867

(1) Kliniskt mikrobiologiska laboratoriet, Lund

(2) Allestam G, Ringberg H, EPI-aktuellt nr 10 mars 2010

Vårdrelaterade smittspårningar

- Legionella på sjukhus och äldreboende åren 2004 och 2013 av totalt 327 prov till SMI/FoHM

Av totalt 53 vårdrelaterade smittspårningar

- 11 identitet med SBT
- 23 fynd i miljö men ofullständiga uppgifter
- 19 neg i miljö



....att diskutera vidare.....

- Nationell kartläggningsstudie av legionellaförekomst och vilka sekvenstyper (ST) som förekommer på sjukhusen?
- Sekvenstypning av alla patientisolat?
- Nationell samling av patientisolat?
- Nationell samling av patientrelaterade miljöisolat?
- annat?