



Università degli Studi di Padova

Facoltà di Medicina e Chirurgia

**CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN TECNICHE DELLA PREVENZIONE
NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO**

PRESIDENTE CH.MO PROF. BRUNO SAIA

TESI DI LAUREA

**PREVENZIONE E CONTROLLO DELLA LEGIONELLOSI:
IL RUOLO DEL TECNICO DELLA PREVENZIONE
DEL SERVIZIO IGIENE E SANITÀ PUBBLICA
NELLE INDAGINI AMBIENTALI**

RELATRICE: CH.MA PROF.SSA VALERIA MARIN

LAUREANDO: UMBERTO DI SPIGNO

MATRICOLA 569852

ANNO ACCADEMICO 2006 – 2007

*A mia moglie Milva e ai miei figli Silvia e Stefano
che mi hanno sopportato e sostenuto.*

INDICE

INTRODUZIONE	Pag. 4
LA LEGIONELLA	Pag. 6
• Storia	Pag. 6
• Epidemiologia	Pag. 12
• Agente eziologico: Legionelle	Pag. 17
• Habitat, strategie di difesa, crescita ed amplificazione	Pag. 19
• Modalità di trasmissione	Pag. 25
• Manifestazioni Cliniche	Pag. 28
• Terapia	Pag. 31
• Diagnosi di Laboratorio per campioni clinici e ambientali	Pag. 33
• Norme e Linee guida	Pag. 42
 INDAGINI EPIDEMIOLOGICHE, AMBIENTALI E PREVENZIONE	Pag. 44
• Definizioni	Pag. 44
• Indagini epidemiologiche e ambientali	Pag. 47
• Esposizione di un caso specifico	Pag. 59
• Proposte di prevenzione e controllo per il caso specifico	Pag. 64
• Misure di prevenzione e controllo	Pag. 67
CONCLUSIONI	Pag. 73
ALLEGATI	Pag. 75
BIBLIOGRAFIA	Pag. 86

INTRODUZIONE

Le infezioni sostenute da *Legionella* rappresentano oggi un problema di sanità pubblica per la frequente presenza del microrganismo nell'acqua calda sanitaria e nell'umidificazione degli impianti aeraulici di case, alberghi, campeggi, centri sportivi, ospedali, case di riposo, ecc., oltre che nelle torri di raffreddamento degli impianti di condizionamento di grandi edifici e in ogni situazione in cui l'acqua ristagna a temperatura di almeno 25°C.

Tali infezioni rappresentano infatti una delle nuove emergenze nel campo delle malattie infettive e uno di quei casi che hanno fatto cambiare idea a chi pensava che l'uso di antibiotici, farmaci e l'affermarsi di corretti principi di igiene pubblica avessero portato ormai a una situazione di pieno controllo sulle malattie infettive.

La polmonite da *Legionella* (Malattia dei Legionari) è in costante aumento, sia in Italia che in Europa, non solo perché sono sempre più frequenti le occasioni di contatto con il microrganismo ma anche perché c'è maggiore attenzione da parte dei medici alla malattia e la diagnosi è resa più facile dall'introduzione di test rapidi (antigene specifico nelle urine). E' importante però evidenziare che l'aumento è legato a stili di vita e caratteristiche della popolazione che tendono ad amplificare e a favorire la presenza nell'ambiente del microrganismo responsabile, ad aumentare le occasioni espositive, a favorirne la trasmissione all'uomo per l'incremento dei soggetti a rischio.

Il controllo della contaminazione ambientale da *Legionella* e la prevenzione della malattia dei legionari non sono facili, in quanto non esistono al momento soluzioni definitive e standardizzate per prevenire la contaminazione ambientale di *Legionella*; pertanto è richiesto un lavoro d'equipe con il coinvolgimento di molte professionalità. Occorre anzitutto osservare con cognizione di causa e studiare le caratteristiche degli impianti e dell'acqua, ed in presenza di contaminazione capirne la dinamica e

individuare i punti critici del sistema. Non si deve poi trascurare, soprattutto per le persone a rischio, la possibilità di evitare determinati comportamenti, come l'inutile inconsapevole esposizione a fonti potenziali di contaminazione.

Infine, trattandosi di una patologia ambientale e sociale, vanno effettuate anche valutazioni di tipo economico, bilanciando costi e benefici di ogni intervento.

Dal punto di vista epidemiologico si osserva l'aumento di dieci volte del numero casi di legionellosi notificati al Registro Nazionale di Sorveglianza dell' Istituto Superiore di Sanità nell'ultimo decennio, che ha spinto le istituzioni sanitarie del nostro paese a porre una maggiore attenzione a questa malattia infettiva, in termini di elaborazione di nuove linee guida ed istituzione di laboratori dedicati alla diagnosi, sia a livello nazionale che regionale, al fine di garantire un' adeguata e precoce risposta per l' identificazione, il controllo e la prevenzione dei casi.¹

LA LEGIONELLA

Storia

Nel luglio del 1976 alcuni legionari americani di ritorno da una convention a Philadelphia, presso il Bellevue-Stratford Hotel, cominciano ad ammalarsi e a mostrare strani sintomi: polmonite e febbre oltre i 41°C.

Nei primi giorni di agosto comincia a circolare la notizia che alcuni di questi uomini sono morti, mentre altri continuano a rimanere in ospedale, dove lottano per sopravvivere. Nessun test di laboratorio riesce a scoprire la causa della malattia, che presto diventa nota con il nome di "morbo dei legionari". Nessuno è a conoscenza dello stato di salute degli altri 10 mila partecipanti alla convention.

Al diffondersi della notizia, gli americani si preparano a un'epidemia. L'amministrazione Ford programma vaccinazioni di massa contro un nuovo ceppo di influenza, conosciuta come influenza suina, dopo i ripetuti avvertimenti della possibilità che un'epidemia devastante colpisca senza preavviso.

Quando per la prima volta si viene a sapere di questi casi misteriosi, il 2 agosto, questi vengono guardati con un certo scetticismo. Pochi mesi prima, Leonard Bachman, segretario del dipartimento per la salute della Pennsylvania, aveva prodotto un bollettino in cui si diceva che il dottor Buford Washington aveva scoperto una nuova malattia, spesso fatale, la pantosomatite, che si stava diffondendo negli Stati Uniti orientali. Si sarebbe poi scoperto che non esistevano casi documentati di questa malattia.

Mentre da un lato gli operatori sanitari raccomandano al pubblico di non farsi prendere dal panico, dall'altro si preoccupano per una possibile catastrofe medica; si pensava di essere giunti a un punto critico senza precedenti per la medicina moderna, in cui la mancanza di antibiotici, medicine e terapie, avrebbe comportato la messa in quarantena in tutti gli ospedali dello Stato.

Ci sono voluti sei mesi per capire che la malattia era causata da un batterio, la Legionella pneumophila. Sappiamo oggi che si guarisce con una terapia tempestiva a base di antibiotici. In tutto il mondo il batterio, che in quel caso si era diffuso attraverso il sistema di aria condizionata dell'albergo, provoca polmonite e altre malattie.

La vicenda aveva fatto emergere chiaramente sia la forza che la debolezza del sistema sanitario nazionale in risposta a focolai epidemici di origine sconosciuta. Grazie a questa esperienza si sono potute affrontare meglio le indagini su epidemie successive come l'influenza aviaria, la Sars e la diffusione di spore di antrace tramite l'invio deliberato via posta, messo in atto dopo gli attacchi terroristici dell'11 settembre. Le autorità, però, non hanno ancora capito quanto sia importante attuare una comunicazione più efficace.

Un'informazione attenta e continua riguardo i focolai di Legionella ha fornito al pubblico la rara opportunità di vedere come lavorano gli operatori sanitari e come gli scienziati arrivano a nuove scoperte. Anche per il giornalismo si è trattato di un momento di svolta, perché si è mostrato responsabile e capace di aiutare ad affrontare le epidemie che minacciano la vita di migliaia di persone e nel contempo a sostenere il turismo, il commercio internazionale e le economie mondiali.

Ma torniamo al caso iniziale: le notizie sui focolai portano alla temporanea chiusura del Bellevue-Stratford Hotel, a Philadelphia, luogo in cui si sospetta si sia diffuso il batterio. Il Cdc (Center for Disease Control and Prevention) manda venti epidemiologi in Pennsylvania per collaborare con gli operatori sanitari statali in quella che è stata la spedizione di investigazione medica più estesa della storia dell'agenzia federale. I ricercatori vanno in giro in tutto lo stato per rivedere tutti i rapporti medici dei legionari ammalati e per studiare i rapporti delle autopsie dei casi letali. Inoltre, controllano ogni ospedale per identificare nuovi casi e intervistare le

famiglie e i dottori dei pazienti, per capire se uno o più legionari abbiano portato la malattia a Philadelphia.

Il 2 agosto, quando le agenzie di stampa cominciano a emettere i bollettini, appare subito chiaro che i casi di Legionella sono reali e non un falso allarme.

Nei giorni successivi il bilancio della malattia sale a 221 casi, di cui 34 morti.

Dopo una settimana di indagini, gli operatori sanitari constatano con sollievo che è fallito un secondo focolaio epidemico tra i partecipanti a un incontro religioso, sempre a Philadelphia, e che nel contempo non si è rilevata alcuna diffusione dei disturbi tra i familiari e gli amici dei malati. Inoltre, i test escludono tutte le forme di influenza come causa del focolaio.

Ma se non è influenza, che malattia può essere? I primi test hanno escluso l'avvelenamento da 17 tipi di metalli.

Sconcertati, gli operatori sanitari riesaminano il ruolo di altre tossine o di gas velenosi. Una sostanza in particolare, il nichel carbonile, è stata a lungo tenuta in considerazione dai ricercatori, ma solo per un motivo imbarazzante: una contaminazione durante le procedure di analisi dei tessuti. Le iniziali tracce di nichel non sono state poi considerate valide, a causa della probabile contaminazione dovuta dall'uso di strumenti di metallo durante le autopsie. I patologi quindi iniziano ad usare coltelli di plastica.

Le notizie trapelate sugli errori durante le indagini hanno un impatto fortemente negativo sull'opinione pubblica nei confronti dei dipartimenti sanitari e sulla loro capacità di individuare focolai dovuti a pericolose sostanze chimiche. Si arriva anche a un'udienza del Congresso, durante l'autunno, sulle indagini mediche, motivo di un certo imbarazzo tra gli ufficiali sanitari a livello statale e federale.

Con l'arrivare dell'inverno, molte autorità dichiarano che la causa del focolaio non è un batterio e che non si saprà mai. Ma gli scettici non prendono in considerazione

l'importanza che possono avere fattori come imbarazzo e pressioni pubbliche sulla ricerca scientifica e sulle scoperte.

Il Natale del 1976, Joseph McDade, ricercatore dei Cdc che aveva fatto test su campioni prelevati dal focolaio, viene duramente criticato per non essere riuscito a risolvere la questione. Forse spinto anche dal desiderio di rivalsa, in un mese McDade riesce a individuare il colpevole e mostra che la legionella non è altro che una vecchia malattia riscoperta recentemente. Il batterio, infatti, era già stato individuato almeno due volte da diversi gruppi di ricercatori al Walter Reed Army Institute of Research a Washington e da diversi gruppi di ricercatori a partire fin dal 1947. Ogni gruppo aveva creduto di avere a che fare con un batterio che colpiva gli animali e non gli esseri umani.

La scoperta porta rapidamente gli scienziati a documentare precedenti focolai a Pontiac, Michigan, Washington e in altre località. La malattia dei legionari ora conta circa 18 mila ricoveri all'anno nel Paese e gli scienziati dei Cdc sottolineano come i medici abbiano sbagliato la diagnosi in molti pazienti. Molti dei focolai e dei casi vengono associati alla contaminazione dell'acqua in posti come le docce, i sistemi di aria condizionata e i dispositivi respiratori medicali. Il focolaio più esteso, verificatosi in Spagna nel 2001, ha colpito quasi 700 persone.

La Legionella pneumophila può produrre due forme di malattia, che cominciano entrambe con sintomi di tipo influenzale. Da un lato il morbo del legionario, che si sviluppa con polmonite e malattia sistemica, dall'altro la febbre Pontiac, molto più leggera. Non si sa perché lo stesso batterio possa produrre due diversi percorsi patologici.

Un lavoro di squadra tra epidemiologi e scienziati di laboratorio può essere un'arma potente nella identificazione di focolai epidemici, indipendentemente dal fatto che si conosca o meno l'agente eziologico. Il team della Pennsylvania, però, non si è

rivelato all'altezza, mostrando importanti carenze nella tecnica investigativa. Sin dal principio, le indagini hanno infatti incontrato diversi problemi, anche se alcuni al di fuori delle possibilità di controllo. Per esempio, l'American Legion non aveva una lista dei partecipanti alla convention, rendendo così difficile un contatto e una verifica del loro stato di salute.

Nelle indagini epidemiologiche si sviluppano spesso dei questionari, per poter fare paragoni statistici tra coloro che si sono ammalati e chi invece non ha sviluppato alcun sintomo. Un altro obiettivo è determinare la priorità nel fare test di laboratorio per determinare le cause di una malattia: più tardi si comincia e più è difficile che le persone si ricordino con esattezza gli eventi.

Un altro problema è stato il ritardo con cui gli operatori sanitari hanno reso noto il focolaio. Per esempio, un medico della Pennsylvania, che aveva chiamato gli operatori sanitari un venerdì pomeriggio per riferire il caso di un legionario con una possibile febbre tifoidea, si è sentito rispondere da un'infermiera di richiamare il lunedì, perché a quel punto era troppo tardi.

Questo episodio mostra che molti dipartimenti sanitari non forniscono un servizio di copertura 24 ore su 24 e 7 giorni su 7 per chiamate di emergenza fatte da medici e ospedali. Oggi invece questo tipo di servizio è offerto da un numero maggiore di dipartimenti.

Inoltre, gli operatori sanitari di Philadelphia hanno saputo in ritardo di un precedente focolaio di 19 casi di una malattia simile al morbo del legionario e per il quale si erano verificati anche 3 decessi. L'evento aveva colpito i membri dell'Independent Order of Odd Fellows nel 1974, dopo che avevano visitato Bellevue-Stratford. La notizia del focolaio non è stata riportata fino al 1976, dello scoppio del "caso legionella".

Un'altra lamentela riguarda la mancanza di coordinamento tra gli addetti alle indagini federali e i dipartimenti sanitari nazionali. I medici coinvolti nel fornire informazioni e campioni prelevati dai pazienti hanno dichiarato di aver ricevuto poco riscontro da parte degli ufficiali sanitari. Per esempio, qualcuno di loro aveva detto che alcuni antibiotici erano efficaci tra i loro pazienti e che andavano somministrati più diffusamente all'interno del focolaio. Gli ufficiali sanitari, però, hanno ignorato la richiesta, visto che non si poteva provare scientificamente l'efficacia degli antibiotici tra i pazienti in tempi rapidi. Problemi di questo tipo sono del tutto attuali, come dimostrano le lamentele fatte ai Cdc nel 2001 durante l'emergenza antrace.

Nel caso della Legionella, la persistente pressione mediatica ha fatto sì che gli scienziati si sentissero spronati a fare quello che raramente si fa nei casi irrisolti: dare un secondo (e cruciale) sguardo al problema.²

Epidemiologia

Le infezioni da Legionella sono considerate un problema emergente in Sanità Pubblica tanto che sono sottoposte a sorveglianza speciale da parte dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, dei Paesi Europei e dell'Istituto Superiore di Sanità dove è stato istituito dal 1983 il "Registro nazionale della Legionellosi".

Nonostante la particolare attenzione prestata al problema, la reale incidenza della malattia è pressoché sconosciuta e le notifiche dei vari paesi europei rappresentano probabilmente solo una piccola parte del totale di casi imputabili a questo microrganismo.

In Europa esiste l'European Working Group for Legionella Infections (EWGLI) che ha organizzato dal 1987 il Sistema per la sorveglianza sulla malattia dei legionari associata ai viaggi. Si tratta di un network europeo che ha lo scopo di individuare casi di infezione da Legionella nei viaggiatori di ritorno, rilevare focolai epidemici e cluster della malattia dei legionari e informare le autorità competenti dei Paesi coinvolti. Il network consente altresì di stimare la frequenza di tutti i casi riportati in Europa. Per esempio, nel biennio 2003-2004 sono stati riportati 9166 casi, dei quali 656 nosocomiali, 3994 comunitari, 1914 associati ai viaggi e 2602 che non è stato possibile classificare. La malattia è associata soprattutto al sesso maschile con un picco di casi tra 60-69 anni per entrambi i sessi.

Nell'ultimo decennio nel mondo vi sono stati diversi focolai epidemici, in particolare tra il 1999 e il 2002 di rilievo sono stati quello di Melbourne (Australia) dell'aprile del 2000, quello dei Paesi Bassi del 1999 e infine quello più recente a Murcia (Spagna) nel 2001. Nell'epidemia di Melbourne, la fonte di infezione era stata identificata nella torre di raffreddamento di un acquario di recente costruzione, nell'epidemia scoppiata in Belgio in una vasca parte di una esposizione di una mostra di fiori e ancora una torre di raffreddamento nell'epidemia segnalata in Spagna. Questa è

stata l'epidemia più numerosa tra tutte quelle sinora riportate con 449 casi e 6 decessi. In tutti questi episodi il germe responsabile era *Legionella pneumophila* 1.

Alcuni episodi segnalano l'esistenza di un rischio professionale legato all'esposizione ad aerosol e getti d'acqua. In una ditta alimentare danese, ci sono stati 5 casi di Febbre di Pontiac tra gli operai addetti alle decanter-house che disseminavano nell'ambiente aerosol contaminati da *Legionella pneumophila* 1. Inoltre 2 casi letali di Malattia dei Legionari sono stati riportati in due meccanici a bordo di una nave cargo in riparazione nel porto di Barcellona; la sorgente di infezione è stata individuata in una pompa dell'impianto idrico della nave.

In Italia, la legionellosi è una malattia soggetta a obbligo di notifica, e viene anche sorvegliata da un sistema di segnalazione che raccoglie informazioni più dettagliate circa la possibile fonte d'infezione, il quadro clinico e l'accertamento eziologico di ogni caso. I dati vengono raccolti tramite apposite schede di sorveglianza, tuttavia il numero dei casi rimane sottostimato, sia perché a volte le schede richieste non vengono inviate sia perché spesso la malattia non viene diagnosticata.

Dal 1983, anno in cui è iniziata la sorveglianza, fino alla fine del 2002, in Italia si è avuto un costante aumento dei casi notificati. La tendenza all'aumento dei casi notificati può essere attribuita al miglioramento delle tecniche diagnostiche e dell'approccio alla malattia e a una maggiore adesione dei clinici alla notifica obbligatoria.

Nel 2006 sono stati notificati all'ISS complessivamente 923 casi di legionellosi, con un incremento del 6% rispetto al 2005 e del 53% rispetto al 2004 e una incidenza pari a 16 casi per milione di abitanti. Tuttavia la malattia resta ampiamente sottostimata, soprattutto nelle regioni del Centro-Sud. La maggior parte dei casi è di origine comunitaria, cioè in ambiente di vita quotidiano, inclusi quelli rilevati nei turisti (832, pari al 90%), i casi nosocomiali sono il 10%, con una letalità dell'8,7%. Per i

casi che hanno interessato i turisti considerando complessivamente sia quelli italiani che quelli stranieri, nel 2006 sono stati notificati all'ISS 251 casi di legionellosi associata ai viaggi. I casi in turisti italiani sono stati complessivamente 145, di cui il 90% avevano soggiornato in albergo e il 10% in campeggio.

Il 71% dei casi di legionellosi colpisce il sesso maschile e nel 73% dei casi il paziente ha superato i 50 anni; l'agente eziologico è risultato essere *Legionella pneumophila 1* nel 96% dei casi. Tra i fattori di rischio associati alla malattia va segnalato il soggiornare almeno una notte in luoghi diversi dalla propria abitazione (alberghi, campeggi, case private), avere frequentato piscine e aver effettuato cure odontoiatriche nelle due settimane precedenti l'insorgenza dei sintomi.

Il metodo diagnostico più frequentemente utilizzato è stato la rilevazione dell'antigene solubile urinario di *Legionella pneumophila* (93,4%), seguito nel 3,8% dei casi dalla sierologia (14% sieroconversione e 86% singolo titolo anticorpale elevato) e nel 2,8% dei casi dall'isolamento del microrganismo da materiale proveniente dall'apparato respiratorio.³

Nella Regione Veneto nel 2006 sono stati notificati 79 casi di legionellosi, collocandola al 4° posto tra le regioni italiane con più casi (Tabella 1).

Tra il 2003 e il 2007 presso il Laboratorio di Riferimento Regionale con attività di diagnosi microbiologica di legionellosi in matrici ambientali dell'ARPAV di Padova sono stati analizzati 2589 campioni di cui il 96% campioni acqua (termale e sanitaria), il 4% altre matrici (tamponi, filtri) prelevate presso stabilimenti termali, strutture turistico-ricettive, ospedali e case di riposo, motonavi, abitazioni private, altre strutture (studi odontoiatrici, fabbriche, piscine). In questi campioni è emerso che la *Legionella pneumophila 1* (responsabile del 96% dei casi di Legionellosi notificati in Italia nel 2006) è presente per il 32,7% negli stabilimenti termali, il 38,5% nelle strutture turistico ricettive, il 44,8% negli ospedali e case di riposo e il 28,1%

nelle motonavi ⁴. Nella Tabella 2 seguente sono evidenziate le percentuali dei sierogruppi per struttura.

Nel territorio della U.L.S.S. n. 4 “Alto Vicentino”, dopo aver diffuso tramite stampa, pubblicazioni su internet e comunicazioni ai gestori, notizie sulla Prevenzione della Legionellosi e sulle Normative in materia, da maggio 2006 fino a settembre 2008 sono state condotte 3 campagne di monitoraggio a campione casuale per verificare lo stato di attuazione delle Linee Guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico - ricettive e termali – G.U. n. 28 (Serie Generale) del 4 Febbraio 2005 e delle Linee Guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi – G.U. Numero 103 (Serie Generale) del 5 Maggio 2000; il monitoraggio è stato effettuato presso 2 ospedali, 14 case di riposo e 35 strutture alberghiere o extralberghiere.

Dei 136 campioni eseguiti per la ricerca della Legionella in matrici ambientali (principalmente acqua dalle docce) il 33% sono risultati positivi alla Legionella (valori >100 UFC/l) il 60% negativi e il 7% non pervenuti. Nella Tabella 3 si sono evidenziati le percentuali dei sierogruppi per tipo di struttura.

Tabella 1 - Casi di legionellosi notificati per regione in ordine geografico da Nord a Sud nel quinquennio 2002-2006

Regione	2002	2003	2004	2005	2006
Piemonte	96	72	93	64	94
Valle d'Aosta	8	3	5	2	3
Lombardia	244	288	204	304	325
Bolzano	1	1	1	1	6
Trento	6	4	21	28	31
Veneto	67	35	37	52	79
Friuli-Venezia Giulia	5	4	7	9	12
Liguria	17	11	14	44	33
Emilia-Romagna	42	30	61	64	72
Toscana	57	48	59	92	89
Umbria	2	6	11	21	26
Marche	1	4	3	22	21
Lazio	65	83	61	102	68
Abruzzo	0	0	0	4	3
Molise	0	0	0	0	0
Campania	4	4	5	38	35
Puglia	17	6	13	7	12
Basilicata	3	7	7	8	3
Calabria	1	2	0	0	0
Sicilia	0	5	2	5	6
Sardegna	3	4	0	2	4
Totale	639	617	604	869	923

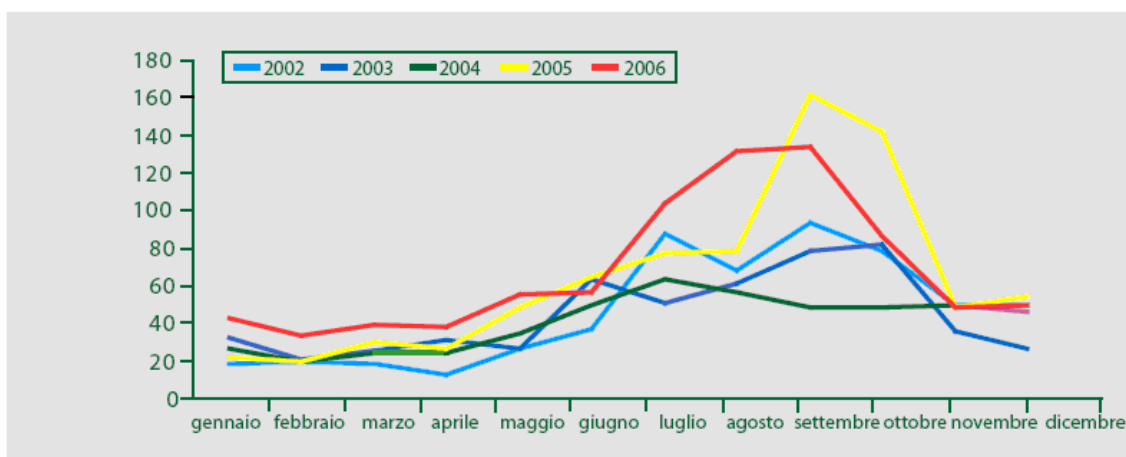


Figura 1 - Casi di legionellosi notificati per mese di inizio dei sintomi nel quinquennio 2002-2006

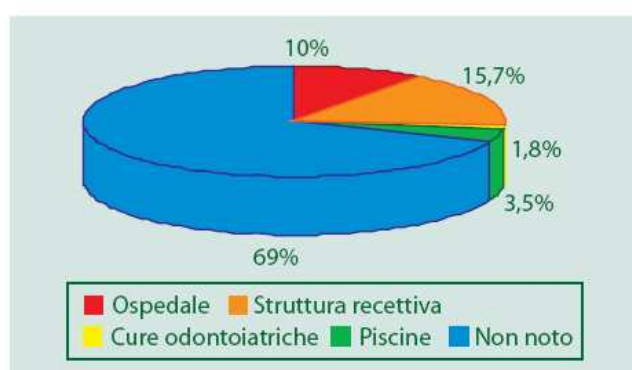


Figura 2 - Distribuzione percentuale dei casi per potenziale esposizione all'infezione

Tabella 2 – Regione Veneto - quinquennio 2003÷2007

Legionella spp e sierogruppi per struttura				
TIPO DI STRUTTURA	L.pneumophila 1	L.pneumophila 2-14	L.pneumophila 1 + 2,14	L. species
STABILIMENTI TERMALI	32.7%	35.2%	13.1%	19.0%
STRUTTURE TURISTICO RICETTIVE	38.5%	36.3%	8.8%	16.4%
OSPEDALI E CASE DI RIPOSO	44.8%	26.4%	11.5%	17.3%
MOTONAVI	28.1%	28.1%	25.0%	18.8%
ABITAZIONI PRIVATE	0%	33.3%	0%	66.7%
ALTRE STRUTTURE	0%	100%	0%	0%

Tabella 3 – U.L.S.S. n. 4 "Alto Vicentino" 2006÷2008

Legionella spp e sierogruppi per struttura

TIPO DI STRUTTURA	LEGIONELLA PNEUMOPHILA 1	LEGIONELLA PNEUMOPHILA 2-14	SPECIES
OSPEDALI E CASE DI RIPOSO	22%	67%	11%
STRUTTURE TURISTICO RICETTIVE	29%	35%	35%

Agente eziologico: Legionelle

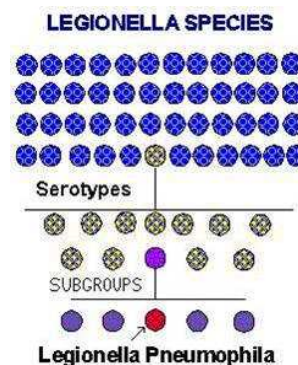
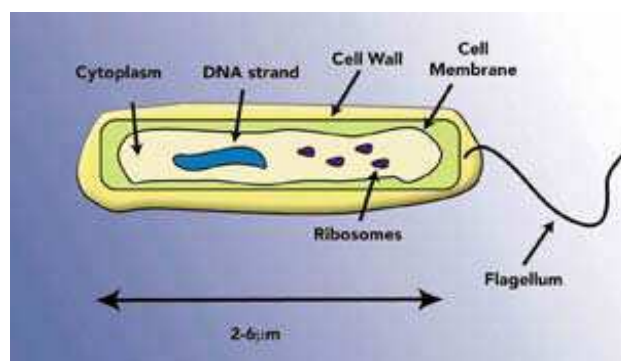
Le Legionelle spp. sono batteri Gram negativi strettamente aerobici, non capsulati e non sporulanti.

Sono caratterizzate da una forma bastoncellare con dimensioni comprese tra gli 0,3 μm ÷ 0,9 μm di larghezza e 1 μm ÷ 5 μm di lunghezza. Possiedono uno o numerosi flagelli, mediante i quali possono spostarsi nel loro ambiente.

Questi batteri sono capaci di moltiplicarsi all'interno delle cellule, in particolare nelle amebe libere e nei macrofagi umani (parassita intracellulare facoltativo).

La famiglia delle Legionellaceae comprende il solo genere Legionella. Attualmente le specie conosciute sono una cinquantina e i sierogruppi determinati sono più di 70. *Legionella pneumophila* è responsabile della maggior parte delle malattie umane. In tutto il mondo la specie *L. pneumophila* è la più frequentemente implicata nella patologia umana (circa il 90% dei casi) e nell'ambito della specie *pneumophila* (che comprende 15 sierogruppi), il sierogruppo 1 si stima che sia responsabile di oltre l'84% dei casi. Molto meno frequentemente sono stati segnalati casi da *L. longbeachae* (3,9%) e *L. bozemanii* (2,4%), mentre altre specie, ancora meno frequenti sono *L. micdadei*, *L. dumoffii*, *L. feelii*, *L. wadsworthii* e *L. anisa* (2,2% in totale). Recenti indagini molecolari dimostrano che nella famiglia delle Legionellaceae esiste una notevole variabilità genetica, accompagnata da variazioni fenotipiche anche all'interno di ceppi geneticamente omogenei.⁵

Sono difficilmente coltivabili e richiedono terreni di coltura specifici.



Come fonte energetica le Legionelle utilizzano diversi amminoacidi, tra cui cisteina, arginina, isoleucina e metionina e il loro sviluppo è fortemente stimolato da composti del ferro, soprattutto sali, come il pirofosfato ferrico e fattori presenti nell'estratto di lievito. Si distinguono inoltre dalla maggior parte degli altri batteri saccarolitici per la obbligata necessità di L-cisteina per la crescita e per la particolare struttura della loro parete cellulare composta in prevalenza da catene di acidi grassi a catena ramificata ed ubiquinoni.

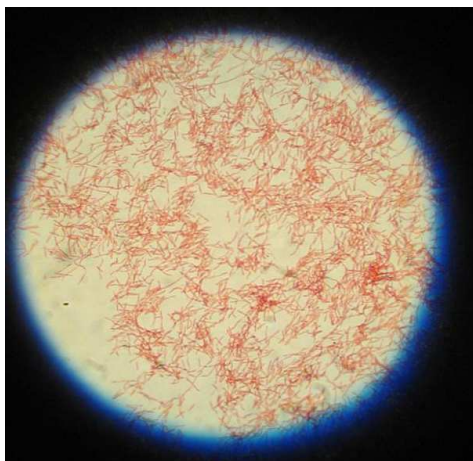


Foto di Legionelle al microscopio

Habitat, strategie di difesa, crescita ed amplificazione

La Legionella è presente in basse concentrazioni negli ambienti acquatici naturali (laghi, fiumi, sorgenti, acque termali...) ed artificiali (reti di acquedotto pubblico, impianti idrici dei singoli edifici, piscine...) senza che ciò dia luogo ad alcuna patologia (il batterio é presente in concentrazioni spesso non rilevabili analiticamente). Si può trovare anche nel suolo umido e nelle acque marine.

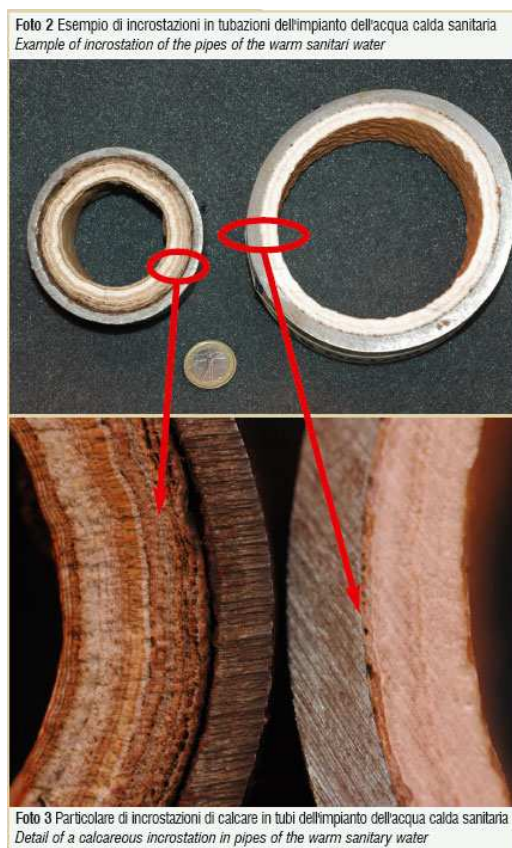
Le infezioni possono invece insorgere soltanto quando il batterio prolifera e si porta a concentrazioni elevate in sistemi idrici artificiali che non siano adeguatamente progettati, realizzati e mantenuti.

Legionella si sposta dagli habitat naturali per colonizzare gli ambienti idrici artificiali, quali gli acquedotti cittadini e gli impianti idrici, particolarmente quelli che distribuiscono acqua calda, dato che le legionelle hanno una temperatura ottimale di crescita di 37° C. Colonizzano inoltre gli impianti di climatizzazione e le torri di raffreddamento, vasche e fontane, piscine, impianti di irrigazione e cisterne con acqua stagnante.

Gli ambienti artificiali agiscono da amplificatori e disseminatori di questi batteri, che in essi trovano le condizioni ideali per proliferare: temperature comprese tra 25 e 42° C, presenza di rami morti nelle tubature, con fenomeni di ristagno e/o ostruzione, presenza di incrostazioni e di sedimenti, ecc., sono tutti fattori che favoriscono la colonizzazione degli impianti da parte di Legionella.

La presenza di Legionella è molto frequente nei campioni prelevati negli impianti di acqua calda sanitaria e nel fondo delle cisterne di accumulo, soprattutto nelle reti di distribuzione più estese e nelle cisterne più ampie che per le loro caratteristiche favoriscono il ristagno dell'acqua. Anche la forma delle cisterne di accumulo dell'acqua sembra influire sulla presenza del microrganismo: le cisterne verticali sono più facilmente colonizzate rispetto a quelle orizzontali.

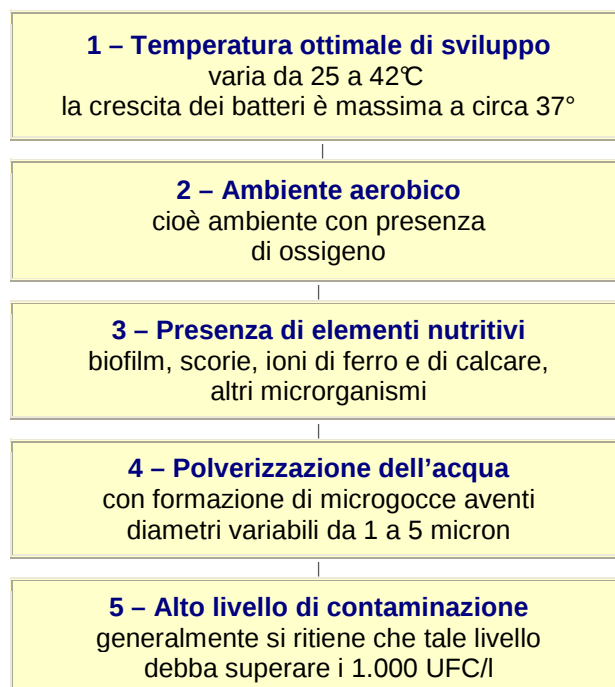
Inoltre le cisterne nuove (meno di 5 anni) sono generalmente indenni da Legionella, a differenza di quelle più vecchie: questo fenomeno può essere dovuto alle incrostazioni e ai sedimenti che si vengono a formare nei vecchi sistemi dopo anni di uso.



La composizione dell'acqua, qualora contenga alte concentrazioni di calcio e magnesio può indurre la formazione di sedimenti su cui facilmente crescono questi batteri. Un elevato quantitativo di ferro nell'acqua favorisce la colonizzazione, mentre alte concentrazioni di rame la prevengono.

Accessori da doccia e rubinetteria che permettono all'acqua di rimanere intrappolata all'interno delle rondelle o delle guarnizioni di gomma, possono favorire la crescita di Legionella. La loro sostituzione non sempre elimina la crescita del batterio perché esso può colonizzare diversi materiali, incluso il PVC, l'acciaio inossidabile, il legno e anche, seppure in misura minore, il rame.⁶

I batteri diventano pericolosi quando sussistono contemporaneamente le seguenti condizioni⁷:



La facilità con cui Legionella si riproduce nell'ambiente naturale, in contrasto con la difficoltà a crescere sui terreni di coltura artificiali, è in buona parte dovuta alla capacità di questo batterio di moltiplicarsi all'interno di protozoi ciliati.

In natura infatti le legionelle vivono e si moltiplicano all'interno di protozoi (amebe e ciliati) che costituiscono una fonte di nutrimento e di protezione dalle condizioni ambientali sfavorevoli, grazie anche alla capacità delle amebe di produrre forme di resistenza come le cisti.

Sono state individuate ben 14 specie di amebe a vita libera, tra cui Acanthamoeba, Hartmannella e Naegleria, due specie di ciliati del genere Tetrahymena, e una specie di muffa gelatinosa che fungono da serbatoio per la moltiplicazione e la sopravvivenza delle legionelle.

Il ruolo cruciale del rapporto Legionella-protozoo, sia nell'ecologia che nella patogenesi di questo microrganismo, può essere dedotto da numerose osservazioni.

In uno studio sperimentale è emerso che in presenza di condizioni ambientali

sfavorevoli, come ad esempio bassa temperatura (4° C) o mancata disponibilità di nutrienti, la capacità di sopravvivenza di *Legionella pneumophila* viene potenziata dalla presenza di amebe.

Inoltre, quando *Legionella* si trova all'interno del protozoo, in particolare nella forma cistica, risulta protetta da sostanze chimiche e biocidi usati per disinfettare l'acqua; e al riparo da eventuali condizioni avverse come disidratazione, temperature elevate, variazioni di osmolarità e pH, e questo potrebbe spiegare la sua persistenza in acque trattate al calore o disinfettate. Tra l'altro quando il germe si trova all'interno del protozoo diffonde facilmente negli aerosol e quindi viene più facilmente inalato. In aggiunta, l'adattamento di *Legionella* a sopravvivere all'interno dell'ameba sembra contribuire alla sua virulenza, perché facilita l'insorgenza di malattia e rende il germe più resistente agli antibiotici.⁸

Sebbene l'ameba rappresenti un fattore chiave nella moltiplicazione e diffusione di *Legionella*, questo patogeno è comunque in grado di sopravvivere per lunghi periodi allo stato libero in ambienti idrici naturali e artificiali.

Tale persistenza è stata attribuita alla sua capacità di aderire alle superfici, moltiplicandosi poi all'interno di biofilm.

I biofilm sono costituiti da aggregati di microrganismi (batteri, protozoi, virus, miceti, ecc.) immersi in una matrice organica che aderiscono alle pareti interne di condutture e altre strutture a contatto con l'acqua, formando delle stratificazioni. Dal momento che questi biofilm mostrano una marcata resistenza ai metodi di disinfezione dell'acqua e alla clorazione, l'associazione *Legionella*-biofilm può, almeno in parte, spiegare perché l'eliminazione del patogeno dagli impianti idrici risulti così difficoltosa.

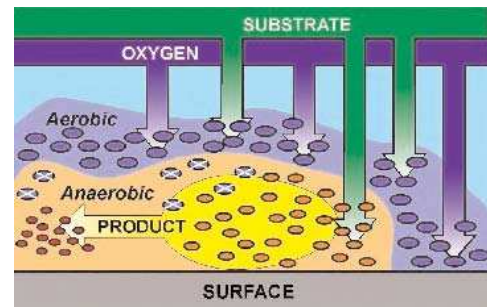
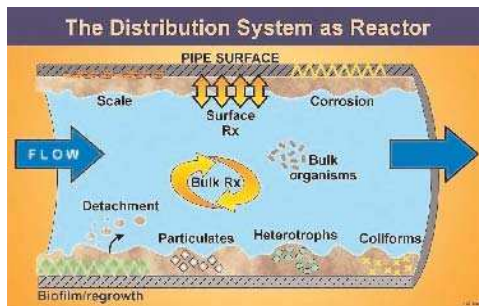


Immagini di interazione con altri microrganismi (protozoi, amebe e muffe).

L. Pneumophila sembra che possa sopravvivere all'interno di biofilm anche in assenza dell'ameba, sebbene il protozoo rimanga in ogni caso necessario per la moltiplicazione. In ogni caso, la riproduzione intracellulare rimane la modalità preferita per proliferare all'interno di un biofilm, meglio se in presenza di un'alta concentrazione di batteri eterotrofi. Si può quindi supporre che anche i batteri acquatici possano influenzare positivamente o negativamente la sopravvivenza di *Legionella*. Molti batteri di origine idrica possono ad esempio esprimere un'attività inibente nei confronti di *Legionella pneumophila*, grazie alla possibilità di produrre batteriocine o Bacteriocin-Like Substances (BLS), molecole di natura proteica dotate di potere inibente nei confronti di microrganismi appartenenti alla stessa specie o strettamente correlati. Questo aspetto merita una considerazione particolare per un possibile futuro utilizzo di tali microrganismi produttori nel controllo della diffusione del patogeno.⁹

Comunque è proprio negli aggregati costituiti da altri batteri, alghe, polimeri e sali naturali che la legionella trova il supporto indispensabile per vivere e svilupparsi.

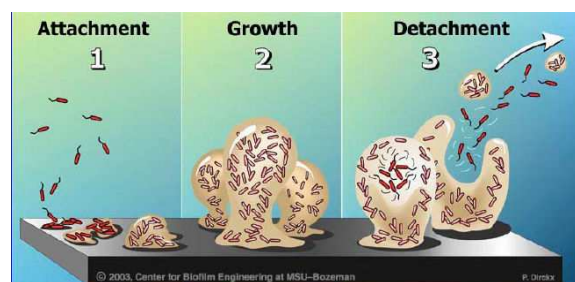
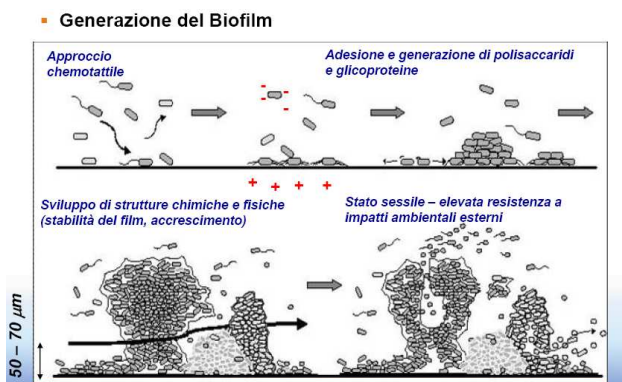
Studi d'alto livello sulla natura e caratteristiche dei biofilm sono stati e sono tuttora condotti presso l'Università di Stato del Montana (MSU), che dispone di uno specifico centro di ricerca: il CBE (Center for Biofilm Engineering). I disegni sotto riportati sono tratti dalle pubblicazioni di tale centro.



Quello a sinistra rappresenta gli scambi che normalmente avvengono fra superfici metalliche e biofilm; quello a destra l'evolversi dei biofilm quando avvengono fenomeni di corrosione.

Peraltro, senza entrare troppo nei dettagli, va considerato che i biofilm si sviluppano dove ci sono (1) i necessari supporti di ancoraggio, (2) sostanze nutritive e (3) adeguate temperature: condizioni che, ad esempio, si possono trovare nelle torri evaporative o nei tubi che convogliano acqua calda con velocità basse: cioè con velocità che non ostacolano con turbolenze l'ancoraggio e la crescita dei biofilm.

La presenza di biofilm, inoltre, può comportare errori rilevanti nel determinare i livelli di contaminazione degli impianti. Infatti, durante le operazioni di misura, i biofilm possono rompersi (per forti sbalzi termici, improvvise turbolenze o urti meccanici) e liberare grandi quantità di batteri che, di fatto, alterano in modo considerevole l'effettivo livello di contaminazione dell'impianto. Pertanto le misure ottenute non sono sempre sicure e nei casi dubbi devono essere rifatte¹⁰ (le immagini seguenti mostrano l'attecchimento dei batteri sulle superfici, la generazione di biofilm, l'accrescimento e il distacco con la messa in circolo nel flusso di acqua).



Modalità di trasmissione

Legionella si trasmette generalmente per inalazione di aerosol contaminati che si possono formare sia spruzzando l'acqua che facendo gorgogliare l'aria in essa, o per impatto sulle superfici solide.

Le goccioline più pericolose sono quelle di piccole dimensioni (diametro inferiore ai 5 micron) in quanto possono penetrare più facilmente nelle basse vie aeree.

La capacità del batterio di sopravvivere nell'aerosol è quindi essenziale per la sua patogenicità ed è legata sia a fattori propri, quali il metabolismo, che a fattori ambientali quali l'umidità relativa: per esempio, la sopravvivenza di Legionella passa da 3 a 15 minuti quando l'umidità aumenta dal 30 all'80%.

I primi casi di malattia sono stati associati alla contaminazione degli impianti di climatizzazione, mentre le infezioni più recenti derivano dalla contaminazione dei sistemi di distribuzione dell'acqua e dalle torri evaporative. Episodi sporadici e/o clusters epidemici sono stati segnalati in ospedali, case di cura, studi odontoiatrici, alberghi, campeggi, impianti termali e ricreativi (palestre, piscine, idromassaggi), navi da crociera, giardini e campi da golf con sistemi d'irrigazione a spruzzo e/o fontane decorative. Va tuttavia sottolineato che non è stato dimostrato un maggior rischio di malattia in coloro che abitano in ambienti contaminati, quindi la malattia rimane un evento molto raro, soprattutto tra le persone sane.

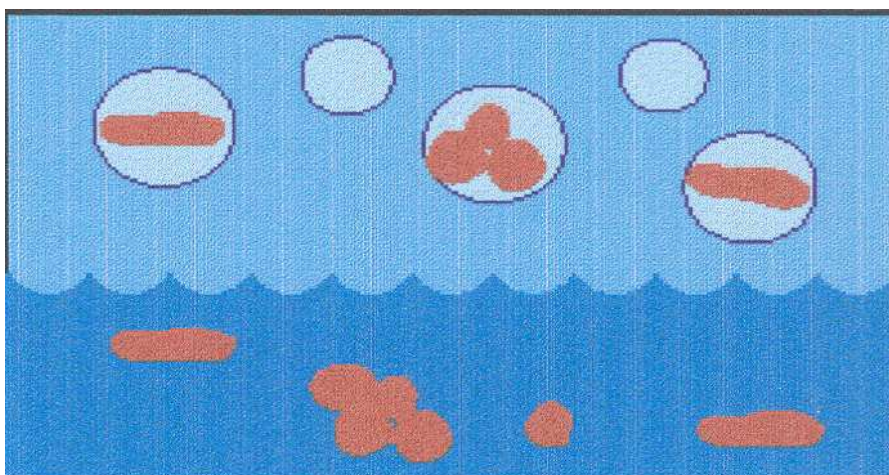
Inoltre in circa il 60% dei casi di origine comunitaria non si riesce a risalire alla fonte d'infezione ambientale, e questo è presumibilmente dovuto alle molteplici occasioni di esposizione.

In ospedale, oltre ai sistemi di distribuzione dell'acqua, i sistemi di condizionamento, gli endoscopi, le attrezzature per la respirazione assistita e gli apparecchi per aerosol e ossigenoterapia possono costituire una riserva di Legionella.

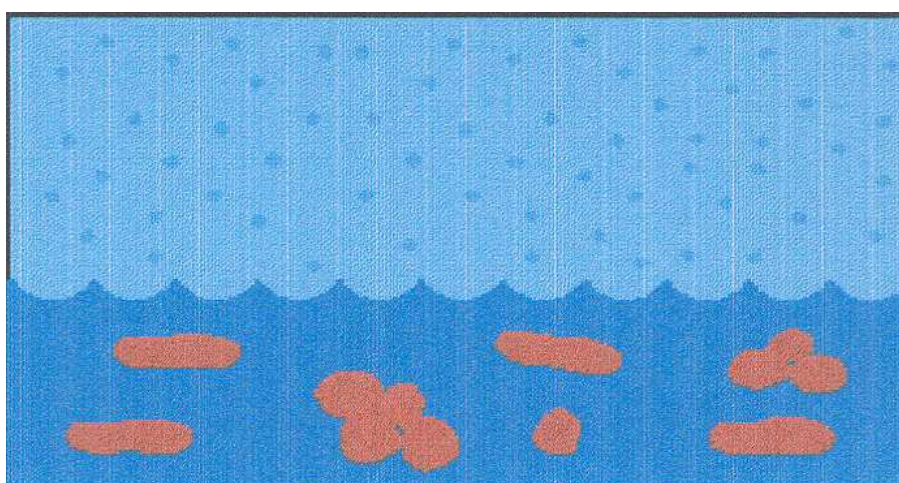
In letteratura sono riportati rari casi d'infezione in neonati nati con parto in acqua o infettati in ospedale, nonché in pazienti con ferite chirurgiche, a causa di aspirazione, instillazione e/o aerosolizzazione di acqua contaminata durante la terapia respiratoria.

Non è mai stata dimostrata la trasmissione interumana.

Quindi ricapitolando l'acqua può formare goccioline di piccole dimensioni (5 μm) che, se trascinate dall'aria, possono veicolare la Legionella, mentre il batterio non è trasportato dal vapore anche se l'acqua è contaminata poiché le dimensioni delle gocce d'acqua che costituiscono il vapore sono modeste e tali da non essere un efficace veicolo per il batterio.¹¹



AEROSOL CONTENENTE LEGIONELLA



VAPORE: ASSENZA DI GOCCE E LEGIONELLA

DIAGRAMMA DELLA TRASMISSIONE CON PUNTI PER LA PREVENZIONE¹²

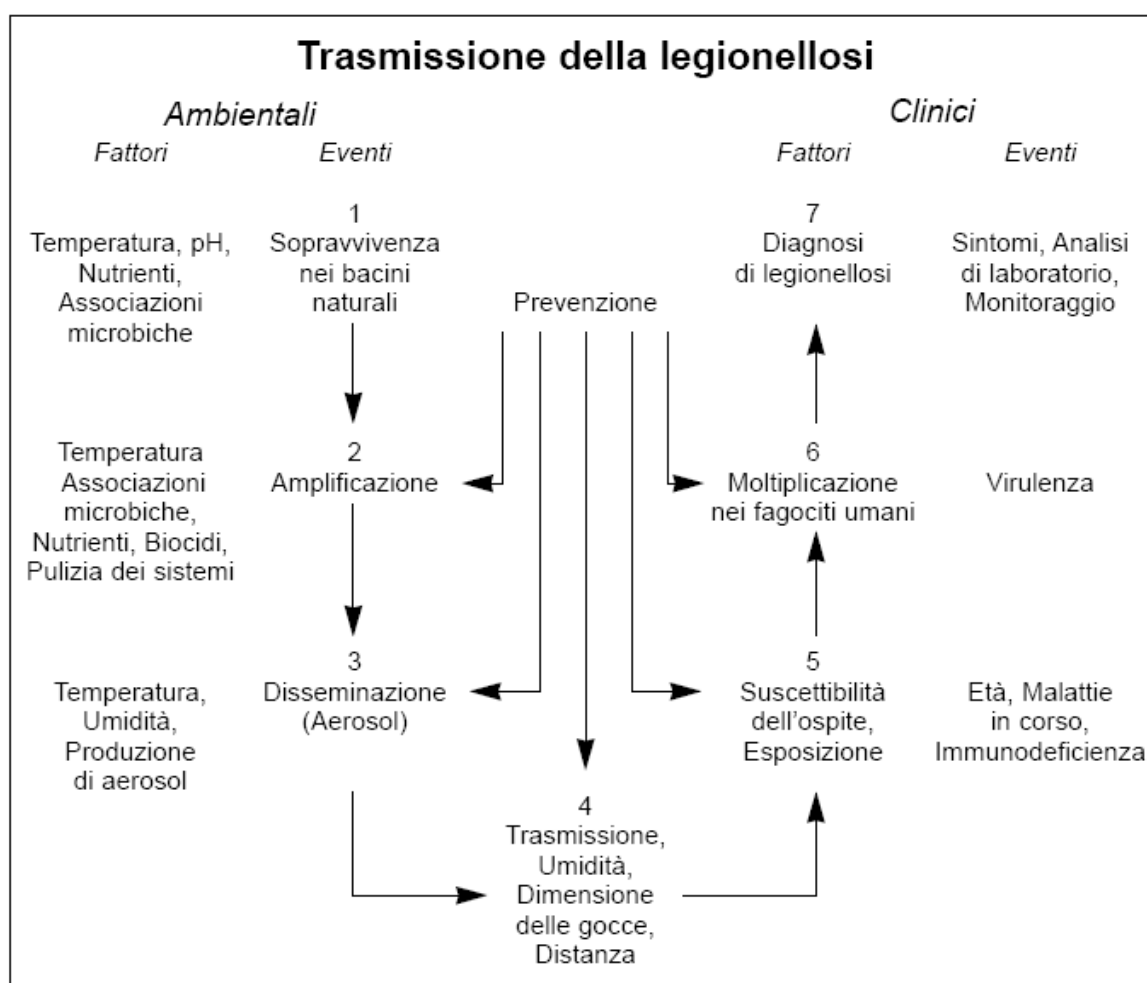


Fig. 1 - Schema della "catena di trasmissione" delle patologie da Legionella (tratto dalle Linee Guida Ashrae 12-2000²)

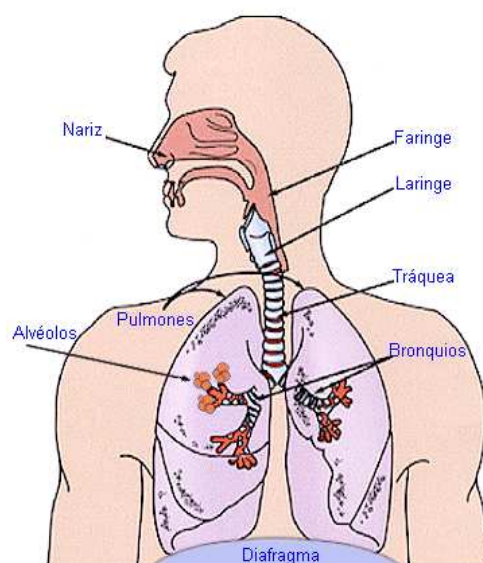
DIAGRAMMA EVENTO-FATTORI FAVORENTI



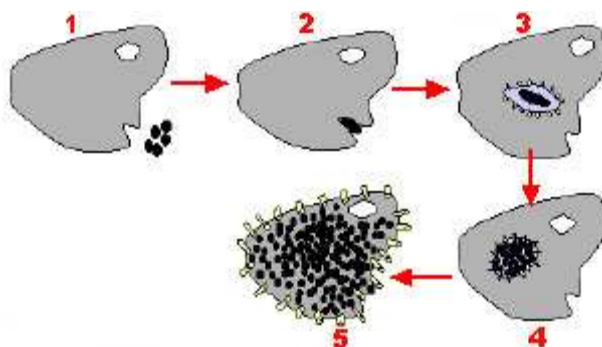
Manifestazioni Cliniche

Una volta penetrate in un ospite suscettibile attraverso le mucose delle prime vie respiratorie, le legionelle raggiungono i polmoni dove vengono fagocitate dai macrofagi alveolari, che però non sono in grado di ucciderle o di inibirne la crescita.

Legionella riesce infatti a evitare l'effetto dei meccanismi con cui i fagociti eliminano i microrganismi patogeni e si moltiplica all'interno di questi fino a provocarne la lisi, con il conseguente rilascio di altre legionelle che possono infettare altre cellule.



Alla base della patogenesi delle legionelle vi è quindi la loro capacità di moltiplicarsi all'interno dei macrofagi alveolari.



Il ciclo vitale delle legionelle nei macrofagi umani è stato ampiamente caratterizzato. Le legionelle entrano nelle cellule per fagocitosi e, una volta all'interno della cellula, si trovano dentro un vacuolo specializzato che non viene attaccato dagli enzimi dei macrofagi deputati all'eliminazione degli agenti patogeni. Sfuggendo alla via di

eliminazione batterica dei macrofagi, *Legionella pneumophila* è in grado di replicarsi all'interno del suo ospite e ne esce efficacemente dopo aver provocato la morte della cellula ospite.

Le infezioni causate da Legionella vengono indicate con il termine generale di "legionellosi" e si presentano in forma di polmonite o in forma febbrile extrapolmonare o in forma subclinica.

La Malattia dei Legionari è la forma più severa dell'infezione, con una letalità media del 10%, che può arrivare fino al 30-50% nel caso di infezioni ospedaliere, e si presenta come una polmonite acuta difficilmente distinguibile da altre forme di infezioni respiratorie acute delle basse vie aeree. Il periodo d'incubazione dura da 2 a 10 giorni, anche se in alcuni pazienti immunodepressi è stata osservata un'incubazione più lunga, fino a 3 settimane. La malattia esordisce con i seguenti sintomi:

- febbre alta ($>39^{\circ}\text{C}$)
- cefalea
- mialgie
- tosse lieve non produttiva che si accentua al comparire dei sintomi respiratori

Un terzo circa dei pazienti presenta diarrea e vomito, sintomi cardiaci e neurologici; il 50% mostra alterazioni dello stato di coscienza e delirio ma non segni di meningismo. L'esame radiologico del polmone non consente di distinguere la polmonite da legionelle dalle altre polmoniti, ma è utile per il monitoraggio della terapia in quanto un adeguato trattamento porta a una diminuzione dell'infiltrato.

Come complicanze della Malattia dei Legionari possono insorgere ascesso polmonare, insufficienza respiratoria, shock, coagulazione intravasale disseminata, porpora trombocitopenica e insufficienza renale.

La Febbre di Pontiac è una condizione epidemica simil-influenzale che deve il proprio nome a un'epidemia che si verificò nell'omonima località del Michigan (USA) nel 1968, in seguito alla dispersione di aerosol contaminato da *Legionella pneumophila* 1 da un impianto di condizionamento dell'aria. La Febbre di Pontiac compare dopo un'incubazione media di 24-48 ore ed è caratterizzata da:

- febbre
- brividi
- cefalea e malessere
- a volte tosse e arrossamento della gola

I sintomi durano in genere 2-5 giorni e poi si risolvono da sé. Non vi è un coinvolgimento polmonare e neppure radiologico.

L'infezione da *Legionella* può manifestarsi anche in forma subclinica, cioè senza comparsa di sintomi clinici, e si evidenzia solo con il riscontro di anticorpi anti-*Legionella* spp in assenza di episodi di polmonite e/o forme simil-influenzali.¹³

Terapia

La terapia dei soggetti con legionellosi si basa essenzialmente sul trattamento con antibiotici attivi contro Legionella, oltre alle usuali misure di supporto respiratorio o sistemico. Poiché questo batterio ha un habitat intracellulare, nella scelta di un antibiotico attivo, particolare peso avrà la capacità del farmaco di penetrare nella cellula ed ivi raggiungere sufficiente concentrazione. Pertanto, la scelta terapeutica dovrebbe basarsi sulla concentrazione e sulla persistenza dell'antibiotico nel parenchima polmonare. E' da rilevare che la Febbre di Pontiac ha una evoluzione benigna anche in assenza di specifico trattamento chemioterapico.

Su queste basi, antibiotici delle classi dei macrolidi si sono rivelati i più efficaci e risolutivi nella pratica clinica. Storicamente, il capostipite di questa classe, l'eritromicina, è stato il farmaco più impiegato, in genere con somministrazione per due-tre settimane, ad una dose di attacco di 1 g endovena ogni 6 ore per 3-5 giorni, seguita da 500 mg/6h per os. Oggi si tende a preferire i nuovi macrolidi quali la claritromicina e l'azitromicina, a motivo di una più potente azione battericida intracellulare e minori effetti collaterali. Altri antibiotici molto attivi sono i nuovi fluorochinoloni, ad esempio la levofloxacin. In particolare, nei soggetti fortemente immunocompromessi, una associazione fra un fluorochinolone e l'azitromicina o la claritromicina, è preferibile per l'elevato sinergismo d'azione intra ed extracellulare di questi due chemioterapici.

Altri antibiotici attivi contro la legionella sono le tetracicline (in particolare la doxiciclina per via endovenosa), la rifampicina, l'associazione fra trimetoprim e sulfametossazolo, nonché l'imipenem. Tuttavia, tutti questi farmaci dovrebbero essere usati solo quando non sia possibile, per motivi di resistenza, di tossicità o di allergie individuali, l'uso dei macrolidi e/o dei fluorochinoloni.

Come per tutte le altre terapie, nella scelta della terapia più opportuna si deve valutare anche la gravità dell'infezione, l'eventuale antibiotico-resistenza della legionella isolata, la presenza di disfunzioni organiche, in particolare epatogastriche, ed i costi.¹⁴

Diagnosi di laboratorio per campioni clinici e ambientali

La diagnosi di laboratorio della legionellosi deve essere considerata complemento indispensabile alle procedure diagnostiche cliniche. L'indagine laboratoristica deve essere attuata possibilmente prima che i risultati possano essere influenzati dalla terapia, e deve essere richiesta specificamente.

Poiché la legionellosi 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. 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.

L'uso di colorazioni batteriologiche può essere solo parzialmente utile. Tuttavia, è necessario prendere in considerazione una diagnosi di legionellosi se si osservano batteri Gram-negativi nelle secrezioni delle basse vie respiratorie di un paziente immuno-compromesso, con una coltura negativa dopo 24 ore sui terreni di uso corrente.

Il metodo diagnostico di elezione è l'isolamento e l'identificazione del microrganismo. Tuttavia esso richiede terreni di coltura speciali (legionella non cresce sui terreni di uso comune) e tempi di crescita relativamente lunghi (4-10 giorni). La prova dovrebbe essere eseguita sistematicamente sulle secrezioni respiratorie ed eventualmente su parenchima polmonare di pazienti con polmonite atipica interstiziale. Una emocoltura negativa, seminata successivamente su terreno appropriato per *Legionella*, può dar luogo all'isolamento del microrganismo.

L'isolamento da campioni clinici è estremamente importante, sia perché è il criterio diagnostico più specifico, sia perché permette lo studio comparativo con ceppi di

Legionella isolati dall'ambiente presumibilmente associati all'infezione al fine di individuare la fonte dell'infezione stessa.

La prova dell'antigenuria (presenza di antigeni solubili nelle urine) ha il vantaggio che è più facile ottenere un campione di urine che un campione di espettorato adeguato (poiché i pazienti presentano una tosse non produttiva) o di broncoaspirato/lavaggio. Inoltre, si positivizza precocemente e, contrariamente alla coltura, può dare risultati positivi anche per 60 giorni, e talvolta oltre, in modo intermittente, anche in corso di terapia antibiotica. Tuttavia proprio per questo motivo, può risultare difficile distinguere tra infezione acuta, fase di convalescenza, o infezione pregressa.

Il test per la rilevazione dell'antigene urinario evidenzia solo gli antigeni di Legionella pneumophila sierogruppo 1. Quindi, benché la sensibilità di tale test sia dell'80-95% per infezioni dovute a tale microrganismo, la sensibilità globale per tutte le cause di legionellosi oscilla tra il 65 e il 75%.

I metodi sierologici sono utili per indagini epidemiologiche ma sono meno validi per quelle cliniche, data la comparsa talvolta tardiva (anche 3-6 settimane) degli anticorpi specifici a livelli significativi e della necessità di controllare un campione di siero in fase di convalescenza. L'esistenza di reattività crociata tra legionelle ed altri microrganismi, e la difficoltà di distinguere tra infezione in atto o infezione pregressa in caso di campione singolo di siero o di titolo anticorpale costante (infatti occasionalmente le IgM possono persistere a lungo nel siero dei pazienti con legionellosi) rende la conferma diagnostica più complessa. Un risultato positivo su un singolo siero ha un valore diagnostico presuntivo. Il metodo sierologico ha un valore predittivo positivo (proporzione di realmente malati tra i positivi al test) piuttosto basso.

L'evidenziazione delle legionelle nei campioni clinici per mezzo dell'immunofluorescenza, pur permettendo di confermare la diagnosi di polmonite da *Legionella* entro poche ore, ha una validità inferiore al metodo colturale. La tecnica richiede una certa esperienza nella lettura del preparato, e dipende dal metodo di preparazione degli antisieri e dalle dimensioni del preparato esaminato.

La tecnica di ibridizzazione degli acidi nucleici, utilizzando sonde di DNA che individuano molecole di DNA o di rRNA, permette una diagnosi precoce ed una risposta entro poche ore. Il metodo tuttavia risente delle condizioni sperimentali e del tipo di campione e deve essere ulteriormente validato.

L'amplificazione del DNA mediante reazione polimerasica a catena (PCR) è stata applicata per ricercare le legionelle o parti di esse nel fluido del lavaggio bronco-alveolare, nel siero e nelle urine, ma negli ultimi casi la metodica è ancora allo stato sperimentale.

Poiché le varie prove di laboratorio sono complementari tra loro, in caso di sospetta legionellosi occorre eseguirne più di una. Inoltre, poiché nessuna delle prove ha una sensibilità del 100%, una diagnosi di legionellosi non può essere esclusa anche se una o più prove di laboratorio danno risultato negativo.¹⁵

Metodi diagnostici per la legionellosi

Metodo	Specificità (%)	Sensibilità (%)
Coltura	99,8*-100	80
Evidenza dell'antigene nelle urine Φ	95-99	80-95
Sierologia: aumento del titolo anticorpale	96-99	70-80
Sierologia: titolo unico §	50-80	70-80
Evidenza del microrganismo con immunofluorescenza	96-99	25-75

* Limitazione dovuta alla possibilità di contaminazione esterna dei campioni.

§ Titolo ≥ 256 in siero singolo. Un titolo di 128 in siero singolo in paziente con polmonite è considerato presuntivo di infezione.

Φ Metodo utile per *Legionella pneumophila* sierogruppo 1.

Ricerca di Legionella in campioni organici

Campionamento

Legionella può essere ricercata nel materiale proveniente dall'apparato respiratorio (espettorato e/o sputo, broncoaspirato, broncolavaggio, parenchima polmonare) e nell'essudato pleurico e pericardico. Sono talvolta positive colture effettuate con emocoltura risultate negative per altri microrganismi, oppure positive in caso di doppia infezione.

Tutti i campioni devono essere raccolti in contenitori sterili con tappo a vite idonei per la centrifugazione.

Quando necessario, al fine di evitare l'essiccamento dei materiali, aggiungere al campione 1-2 ml di acqua distillata sterile.

Non utilizzare soluzioni saline (soluzione fisiologia) che possono produrre un effetto inibitore su Legionella. Il clinico che effettuerà il broncolavaggio deve essere informato che è preferibile utilizzare acqua distillata sterile o scarse quantità di soluzione salina.

Trasporto e conservazione

Non è necessario l'impiego di terreni di trasporto. I campioni devono essere trasportati in laboratorio nel più breve tempo possibile. Se si prevede un tempo superiore a 30 minuti, mantenere il campione refrigerato. Se possibile evitare il congelamento.

Protocollo analitico

L'escreato ed il tessuto polmonare contengono sostanze inibenti lo sviluppo di Legionella. E' pertanto consigliabile diluire i campioni in una piccola quantità di acqua distillata sterile oppure in brodo non contenente NaCl. Se l'espettorato è molto denso, deve essere trattato con un fluidificante.

I broncolavaggi e le emocolture possono essere concentrate per centrifugazione (3000 r.p.m. per 20 minuti). I campioni prevedibilmente contaminati dovranno essere in parte trattati a 50° C per 30 minuti. Oppure, in alternativa, potranno essere trattati diluendoli 1:10 con una soluzione tamponata di HCl-KCl a pH 2,22, e mantenendoli a temperatura ambiente per 5 minuti.

Piastrare 0,1 ml dei campioni trattati e non trattati su una piastra di BCYE agar e una di BCYE agar selettivo (le denominazioni del terreno selettivo sono diverse secondo le sostanze ad azione antibatterica e antifungina in esso contenute).

Incubare a 36-37°C in aerobiosi, in ambiente umido, con 2,5% di CO₂, oppure in microaerofilia.

Esaminare giornalmente ed eliminare una piastra come negativa solo dopo almeno 10 giorni di incubazione

Ricerca di Legionella in campioni ambientali

Campionamento

Eseguire le operazioni osservando le precauzioni necessarie alla tutela della salute dell'operatore (mascherine, guanti, occhiali). Legionella sarà ricercata nell'ambiente idrico artificiale (impianti idrici, impianti di climatizzazione con refrigerazione ad acqua o ad aria, fontane decorative, idromassaggi, apparecchiature mediche per la respirazione assistita, stabilimenti termali) limitando i prelievi ai punti che maggiormente possono essere critici, sia in base alla struttura dell'impianto sia in funzione dei dati epidemiologici.

I campioni sono rappresentati da:

- acqua del circuito dell'acqua calda e di quello dell'acqua fredda qualora la temperatura sia superiore a 20°C
- depositi (cosiddetti "fanghi") da serbatoi e altri punti di raccolta dell'acqua

- incrostazioni da tubature e serbatoi
- tamponi utilizzati per raccogliere biofilm e altro materiale adeso alle pareti di tubature, sbocco di rubinetti, filtri rompigitto, interno del bulbo delle docce
- acqua di condensa e acqua di sifoni ed altre parti degli impianti per l'aria condizionata e di umidificazione
- acqua proveniente da sgocciolamento dalle torri di raffreddamento
- filtri da impianti di climatizzazione

Modalità di prelievo

Acqua: Il volume consigliabile è di almeno 1 litro, quando possibile, L'acqua sarà raccolta in recipienti sterili. Nel caso essa contenga cloro sarà opportuno aggiungere sodio tiosolfato ad una concentrazione finale di 0,01% (da una soluzione al 10% mettere 0,1 ml per 100 ml di acqua).

- per la ricerca di Legionella in condizioni di utilizzo comune, prelevare, preferibilmente dal circuito dell'acqua calda, senza flambare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua.

- per una ricerca quantitativa di Legionella nell'acqua all'interno dell'impianto, prelevare dopo aver fatto scorrere l'acqua per 5-10 minuti, flambando allo sbocco.

Depositi: Prelevare dallo scarico, oppure dal fondo della raccolta di acqua dopo aver eliminato l'acqua dall'alto. Raccogliere in recipienti sterili.

Incrostazioni. Prelevare da tubature e serbatoi, staccando meccanicamente il materiale depositatosi all'interno. Raccogliere in recipienti sterili

Tamponi: Con un tampone sterile raccogliere il materiale depositato sulle superfici interne. Conservare il tampone in recipiente (provetta) con tappo a vite, contenente una piccola (2 ml) quantità dell'acqua dell'impianto.

Filtri: Il controllo deve essere eseguito su filtri utilizzati da diverso tempo, e non su quelli lavati o sostituiti di recente. Prelevare il filtro e conservarlo in un sacchetto di materiale plastico.

Trasporto e conservazione

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente, al riparo dalla luce. Vanno consegnati in tempo utile affinché l'analisi venga iniziata non oltre 24 ore dal prelievo. In caso di tempi più lunghi, conservare i campioni a 4°C e, comunque, per un periodo non superiore ai 7 giorni.

Protocollo analitico

Acqua. Concentrare mediante filtrazione per membrana con porosità 0,2 µm. Talvolta può essere necessario utilizzare più membrane in successione. Prelevare la/le membrane con pinzette sterili e deporle in un contenitore sterile con tappo a vite contenente 10 ml della stessa acqua. Risospendere quanto depositato sulla membrana aiutandosi con una bacchetta a punta arrotondata oppure agitando energicamente su vortex. Trattare parte della sospensione a 50° C per 30 minuti. Oppure, in alternativa, trattare con soluzione tamponata HCl-KCl a pH 2,2. In tale caso, centrifugare 10 ml della sospensione concentrata a 3000 r.p.m. per 20 minuti, rimuovere il soprastante lasciandone 1 ml, aggiungere 9 ml della soluzione tamponata acida, mescolare bene e lasciare a temperatura ambiente per 5 minuti. Piastrare 0,1 ml dei campioni trattati e non trattati su una/due piastre di terreno selettivo per Legionella.

Incubare a 36-37°C in aerobiosi, in ambiente umido, con 2,5% di CO₂, oppure in microaerofilia.

Conservare il campione concentrato a 4°C.

Esaminare giornalmente le piastre. Qualora il campione fosse molto contaminato (presenza di numerose colonie dopo 24-48 ore dalla semina), sarà necessario

eseguire diluizioni in base 10 (10-1 e 10-2) con acqua distillata sterile del campione concentrato, eseguire un trattamento come indicato in precedenza, e piastrare 0,1 ml su terreno selettivo.

Eliminare una piastra come negativa solo dopo almeno 10 giorni di incubazione. Nel caso di presenza di colonie di Legionella si potrà effettuare una valutazione quantitativa (unità formanti colonia/Litro, UFC/L) in base al numero di colonie per piastra ed alla concentrazione effettuata sul campione originale, tenendo conto anche delle eventuali diluizioni effettuate successivamente.

Depositi. Effettuare diluizioni in base 10 (10-1 e 10-2) con acqua distillata sterile e agitare bene. Trattare le sospensioni come descritto al punto 4.1. Piastrare su terreno selettivo solo le sospensioni trattate.

Incrostazioni. Frantumare e tritare le incrostazioni in mortaio o mixer sterili.

Risospendere in acqua distillata sterile. Procedere come al punto 4.2. Piastrare su terreno selettivo il campione indiluito e diluito, senza e con trattamento.

Tamponi. Agitare il tampone nella provetta per rimuovere il materiale raccolto. Trattare parte del campione.

Piastrare su terreno selettivo sia le sospensioni non trattate che quelle trattate.

Filtri. Lavare il filtro o parte di esso in acqua distillata sterile e procedere come per l'acqua.

Isolamento di Legionella sp

Coltura

Le colonie di Legionella, si presentano piccole, di colore bianco-grigio, leggermente convesse, con bordi "a vetro smerigliato" se osservate con luce laterale. Compaiono dopo un periodo da 4 a 10 giorni di incubazione. Su terreno contenente coloranti

(MWY) alcune specie possono assumere una colorazione caratteristica secondo la specie stessa.

Prova differenziale preliminare

Passare ogni colonia sospetta sia su BCYE agar (completo di supplemento di crescita) sia su CYE agar base (privo di supplemento di crescita) o su comune terreno di coltura (agar sangue, Mac Conkey). Incubare a 37°C per 48 ore. Le colonie di Legionella presenteranno crescita sul terreno completo ed assenza di crescita sul terreno base o sul terreno comune, per l'incapacità di Legionella di moltiplicarsi in assenza di cisteina e parzialmente anche di ferro. Occorre tenere presente che su terreno di agar sangue vi può essere una piccola crescita iniziale dovuta a tracce di sostanze che possono supplire alle necessità del microrganismo.

Identificazione

Le prove biochimiche possono aiutare solo relativamente l'identificazione. Infatti, Legionella non fermenta gli zuccheri e solo alcune prove enzimatiche sono presenti in una o più specie.

Se osservate sotto raggi UV a lunghezza d'onda di 366 nm, alcune specie mostrano una autofluorescenza bianco-blu oppure rossastra.

La tipizzazione si farà su base antigenica con prove sierologiche quali immunofluorescenza diretta o indiretta, agglutinazione al lattice, agglutinazione diretta (Reagenti disponibili in commercio).

Una subtipizzazione molecolare, sia antigenica che genomica, sarà utile per un confronto di stipiti di origine clinica ed ambientale.¹⁶

Norme e Linee Guida

- o Linee Guida per la tutela e la promozione della salute negli ambienti confinati – Gazzetta Ufficiale 27 novembre 2001, n. 276 (Supplemento Ordinario n. 252).
- o Decreto Legislativo 9 aprile 2008, n. 81 “Testo Unico sulla Salute e Sicurezza sul Lavoro” – Gazzetta Ufficiale Numero 101 (Supplemento Ordinario n. 108) del 30 Aprile 2008.
- o Linee Guida per la definizione di protocolli tecnici di manutenzione predittiva sugli impianti di climatizzazione - Gazzetta Ufficiale Numero 256 (Supplemento Ordinario) del 3 Novembre 2006.
- o Linee Guida recanti indicazioni ai laboratori con attività di diagnosi microbiologica e controllo ambientale della legionellosi - Gazzetta Ufficiale Numero 29 (Serie Generale) del 5 Febbraio 2005.
- o Linee Guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico - ricettive e termali - Gazzetta Ufficiale Numero 28 (Serie Generale) del 4 Febbraio 2005.
- o Linee Guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi - Gazzetta Ufficiale Numero 103 (Serie Generale) del 5 Maggio 2000.
- o Norma UNI 8884:1988 Caratteristiche e trattamento delle acque dei circuiti di raffreddamento e di umidificazione: la norma ha per oggetto il trattamento delle acque dei circuiti di raffreddamento (torri evaporative) e di umidificazione nonché i parametri chimico-fisici che l'acqua degli impianti in oggetto deve rispettare allo scopo di consentire una corretta conduzione degli stessi.
- o Norma UNI 9182:2008 'Impianti di alimentazione d'acqua fredda e calda. Criteri di progettazione, collaudo e gestione' La norma riporta le tipologie dei sistemi di distribuzione d'acqua fredda e calda degli edifici ad uso abitativo e ad uso

collettivo. La norma è utile per la stesura dei piani di campionamento per la ricerca di Legionella.

- o Norma UNI 10339:1995 Impianti aeraulici ai fini di benessere. Generalità, classificazione e requisiti. Regole per la richiesta d'offerta, l'offerta, l'ordine e la fornitura: vi si trova una classificazione degli impianti di condizionamento dell'aria e le indicazioni sulle modalità di misura della temperatura ambiente interna.
- o European Guidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease (produced by members of the European Surveillance Scheme for Travel Associated Legionnaires' Disease - EWGLINET - and the European Working Group for Legionella Infections - EWGLI) - prodotte nel giugno 2003 e revisionate nel gennaio 2005 – UK.
- o D.P.R. 6 giugno 2001, n. 380 “Testo unico delle disposizioni legislative e regolamentari in materia edilizia”.
- o Artt. 231 e 232 (CAPO V - Degli alberghi) del R.D. 27 Luglio 1934, N°1265 Approvazione del Testo Unico delle Leggi Sanitarie (G.U. 9 agosto 1934, n. 186, S.O.).
- o Decreto Ministeriale n. 443 del 21/12/1990 Regolamento recante disposizioni tecniche concernenti apparecchiature per il trattamento domestico di acque potabili (G.U. 26/01/1991, n. 24)

INDAGINI EPIDEMIOLOGICHE, AMBIENTALI E PREVENZIONE

Definizioni¹⁷

Definizione di caso

Poiché non vi sono sintomi o segni o combinazioni di sintomi specifici della legionellosi, la diagnosi deve essere confermata dalle prove di laboratorio.

Caso accertato

Infezione acuta delle basse vie respiratorie con:

- segni di polmonite focale rilevabili all'esame clinico e/o
- esame radiologico suggestivo di interessamento polmonare, accompagnati da uno o più dei seguenti eventi:
 1. isolamento di *Legionella* spp da materiale organico (secrezioni respiratorie, broncolavaggio,
 2. tessuto polmonare, essudato pleurico, essudato pericardico, sangue);
 3. aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico verso *L. pneumophila* sierogruppo 1, rilevato sierologicamente mediante immunofluorescenza o microagglutinazione tra due sieri prelevati a distanza di almeno 10 giorni.
 4. riconoscimento dell'antigene specifico solubile nelle urine.

Caso presunto

Infezione acuta delle basse vie respiratorie con:

- segni di polmonite focale rilevabili all'esame clinico e/o
- esame radiologico suggestivo di interessamento polmonare, accompagnati da uno o più dei seguenti eventi:
 1. aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico, relativo a sierogruppi o specie diverse da *L. pneumophila* sierogruppo 1;

2. positività all'immunofluorescenza diretta con anticorpi monoclonali o policlonali di materiale patologico;
3. singolo titolo anticorpale elevato ($\geq 1:256$) verso *L. pneumophila* sierogruppo 1.

Focolaio epidemico

Qualora due o più casi siano riscontrati come riconducibili ad una medesima esposizione nell'arco di sei mesi.

Legionellosi nosocomiale accertata: Si definisce caso accertato di legionellosi nosocomiale un caso confermato mediante indagini di laboratorio verificatosi in un paziente che è stato ospedalizzato continuativamente per almeno 10 giorni prima dell'inizio dei sintomi. Un'infezione che si manifesta in un paziente ricoverato per un periodo variabile da 2 a 9 giorni è considerato un caso di malattia di possibile origine nosocomiale.

Due o più casi che si verifichino in un ospedale nell'arco di 6 mesi, vengono invece definiti come un'epidemia ospedaliera.

Negli ospedali, anche in assenza di casi evidenti, i medici devono prestare attenzione al problema.

Un aumento del numero di polmoniti nosocomiali deve far pensare a un cluster di casi di legionellosi e deve indurre i medici a richiedere gli esami specifici in questi malati.

Legionellosi nosocomiale: Si definisce caso accertato di legionellosi nosocomiale un caso confermato mediante indagini di laboratorio verificatosi in un paziente che è stato ospedalizzato continuativamente per almeno 10 giorni prima dell'inizio dei sintomi. Un'infezione che si manifesta in un paziente ricoverato per un periodo variabile da 2 a 9 giorni è considerato un caso di malattia di possibile origine nosocomiale.

Due o più casi che si verificano in un ospedale nell'arco di 6 mesi, vengono invece definiti come un'epidemia ospedaliera.

Negli ospedali, anche in assenza di casi evidenti, i medici devono prestare attenzione al problema.

Un aumento del numero di polmoniti nosocomiali deve far pensare a un cluster di casi di legionellosi e deve indurre i medici a richiedere gli esami specifici in questi malati.

Legionellosi del viaggiatore: legionellosi in una persona che ha soggiornato una o più notti in una struttura di soggiorno temporaneo durante i 10 giorni che precedono l'inizio dei sintomi.

Caso isolato di legionellosi del viaggiatore: legionellosi in una persona che ha soggiornato in una struttura di soggiorno temporaneo nel corso dei 10 giorni che precedono l'inizio della malattia senza che altri casi sospetti siano sopraggiunti nello stesso stabilimento nel corso degli ultimi 24 mesi.

Casi raggruppati di legionellosi del viaggiatore: legionellosi in due o più persone che hanno soggiornato nello stesso stabilimento di soggiorno temporaneo nel corso dei 10 giorni precedenti l'inizio della malattia. L'intervallo di tempo tra i casi è inferiore a 24 mesi.

Legionellosi di origine comunitaria: caso di legionellosi per il quale un'origine nosocomiale e una legionellosi del viaggiatore possono essere escluse, cioè infezione contratta nell'ambito professionale, o nell'ambiente di vita quotidiano.

Indagini epidemiologiche e ambientali

(Vedere Scheda di sorveglianza della Legionellosi - All. 6 e 6 bis)

Come già accennato il controllo della contaminazione ambientale da Legionella e la prevenzione della Malattia dei Legionari non è facile, in quanto non esistono al momento soluzioni definitive e standardizzate per prevenire la contaminazione ambientale di Legionella; pertanto è richiesto un lavoro d'equipe con il coinvolgimento di molte professionalità. Occorre osservare con cognizione di causa e studiare le caratteristiche degli impianti e dell'acqua, ed in presenza di contaminazione capirne la dinamica e individuare i punti critici del sistema. Non si deve poi trascurare, soprattutto per le persone a rischio, la possibilità di evitare determinati comportamenti, come l'inutile spesso inconsapevole esposizione a fonti potenziali di contaminazione.

Peraltro, trattandosi di una patologia ambientale e sociale, vanno effettuate anche valutazioni di tipo economico, bilanciando costi e benefici di ogni intervento.

Dopo questa premessa si può dire che nella prevenzione della Legionellosi come negli accertamenti per casi, cluster o epidemie, quando si parla di indagine ambientale ci si riferisce a tutta l'attività rivolta:

- allo studio degli ambienti di vita sia interni che esterni, che spesso coincidono, per altre fasce di persone, anche con quelli di lavoro (es. ospedali, case di riposo, alberghi, stabilimenti termali, piscine) individuati dagli studi epidemiologici come i luoghi in cui è più probabile contrarre la Legionellosi;
- allo studio e ad eventuali campionamenti ambientali di acqua e/o superfici e/o oggetti lambiti dall'acqua, presso tutti gli impianti dove può essere utilizzata l'acqua potabile o non potabile (impianti idraulici, di condizionamento dell'aria, torri evaporative, vasche, cisterne, fontane, piscine, impianti d'irrigazione, impianti termali, apparecchiature per aerosol, altre apparecchiature o

accessori medicali), che per qualunque motivo tecnologico, ornamentale, funzionale, di vetustà, di usura o casuale, creano aerosol (particelle di acqua disperse nell'aria) che possono contenere e veicolare verso il sistema respiratorio umano il batterio della Legionella.

Ovviamente l'indagine ambientale non può assolutamente prescindere dall'indagine epidemiologica e dalle analisi di campioni umani (antigene urinario, isolamento dal sangue o delle secrezioni bronchiali o espettorato o da reperti biotici), anzi è strettamente e funzionalmente correlata, perché la Legionellosi presenta determinati predisponenti soggettive verso la malattia (il sesso maschile, l'età avanzata, il fumo di sigaretta, la presenza di malattie croniche, l'immunodeficienza) e perché è fondamentale identificare tempestivamente la malattia nell'uomo (casi, cluster, epidemie), oltre che individuare la tipizzazione del batterio.

La precedente considerazione sembra insegnare che le varie figure professionali coinvolte devono cercare un'interazione stretta, con "invasioni di campo", intese come conoscenza di dettagli che sembrano invadere la sfera professionale, ma servono agli altri attori ad acquisire i legami e le correlazioni necessarie per indirizzare, studi, indagini, campionamenti e interviste nella direzione più opportuna e utile agli scopi finali di prevenire e curare i casi.

Nelle indagini ambientali per la prevenzione della Legionellosi e negli accertamenti per analizzare casi, cluster ed epidemie e per interrompere la catena di trasmissione, i Tecnici della Prevenzione nell'Ambiente e Luoghi di Lavoro possono essere sicuramente coinvolti in diverse attività in quanto, nell'ambito dell'esercizio della professione, possono esercitare il controllo e la vigilanza previsti dalla normativa vigente nello svolgimento delle attività volte alla individuazione delle sorgenti di infezione e alle successive fasi di bonifica e della possibile prevenzione dell'insorgenza di nuovi casi, ricercando criteri di integrazione reciproca con le altre

professionalità, nel rispetto delle rispettive funzioni e ruoli. Inoltre, istruiscono, determinano, contestano e notificano le irregolarità rilevate e formulano pareri nell'ambito delle loro competenze; vigilano e controllano gli ambienti di vita; vigilano e controllano la rispondenza delle strutture e degli ambienti in relazione alle attività ad esse connesse e le condizioni di sicurezza e di rispondenza alle norme igieniche degli impianti; collaborano con l'amministrazione giudiziaria per quanto previsto da leggi e regolamenti in materia di prevenzione sanitaria ed ambientale, nell'ambito delle loro competenze; svolgono con autonomia tecnico professionale le loro attività e collaborano con altre figure professionali all'attività di programmazione e di organizzazione del lavoro della struttura in cui operano; sono responsabili dell'organizzazione, della pianificazione, dell'esecuzione e della qualità degli atti svolti nell'esercizio della loro attività professionale.

Infine i Tecnici della Prevenzione nell'Ambiente e Luoghi di Lavoro nel corso della loro attività di prevenzione della Legionellosi possono osservare, misurare, rilevare e documentare, con cognizione di causa e competenza tecnico-scientifica, tutti quegli aspetti, fatti, comportamenti, stili di vita, circostanze, fenomeni, caratteristiche che possono potenzialmente causare o evitare l'infezione, per discuterne e rielaborarne i significati con le altre figure professionali coinvolte nell'intervento, che possono ovviamente convalidare o esprimere il loro dissenso motivato.

Procedure d'indagini per legionellosi nosocomiale¹⁸

1. Conferma della diagnosi. Se possibile isolamento colturale e identificazione precisa del germe in causa.
2. Notifica alle autorità sanitarie.
3. Ricerca dell'esposizione: locali frequentati e trattamenti a rischio.
4. Ricerca di altri casi. Adozione di un protocollo per la ricerca della legionella in tutti i nuovi casi di polmonite nosocomiale. Se la situazione è di particolare

gravità, può essere necessario condurre un'indagine retrospettiva (titoli anticorpali su sieri conservati, ricerca dell'antigene urinario in malati recenti).

5. Descrizione della distribuzione nel tempo e nello spazio dei casi confermati, dei casi possibili e eventualmente dei casi dubbi. Rappresentazione grafica della curva epidemica e piano della situazione. Descrizione dei trattamenti a rischio e del tipo di acqua utilizzata per i differenti trattamenti.
6. Ricerca di esposizioni comuni.
7. Ipotesi sulla possibile origine dell'infezione.
8. Indagini ambientali mirate in base alle ipotesi emerse dallo studio descrittivo.
9. Confronto dei ceppi di Legionella isolati dai malati con quelli isolati dall'ambiente; per la tipizzazione e il confronto, inviare gli isolati al laboratorio di riferimento.
10. Eventualmente, se l'origine dell'epidemia resta difficile da identificare, effettuare un'indagine di tipo caso-controllo.

Per riassumere, al verificarsi di uno o più casi di infezione nosocomiale adottare i seguenti provvedimenti:

1. L'informazione dell'evento deve essere diffusa rapidamente al personale sanitario.
2. La sorveglianza attiva dei possibili ulteriori casi deve essere avviata.
3. La sorveglianza ambientale con ricerca della legionella nelle possibili fonti di contagio dovrà essere attivata.

Procedure d'indagini per legionellosi del viaggiatore¹⁹

L'intensità delle indagini dipende dal contesto e dal numero di casi (casi sporadici, focolai, cluster).

Per avere un quadro globale della situazione è fondamentale disporre per ciascun paziente affetto da legionellosi di informazioni precise su una eventuale esposizione a rischio nelle due settimane precedenti l'insorgenza dei sintomi.

L'anamnesi deve approfondire almeno i punti seguenti:

- professione, contatto con acqua nebulizzata
- luogo di soggiorno: ospedale, casa, casa di cura, alberghi
- bagni termali, piscine, idromassaggi
- partecipazione a crociere, fiere, esposizioni
- terapia respiratoria, trattamenti odontoiatrici
- soggiorno in ambienti climatizzati.

Casi isolati di legionellosi necessitano di essere precisati e validati da un'anamnesi approfondita ed eventualmente da un secondo esame di laboratorio.

1. Conferma della diagnosi.
2. Ricerca dell'esposizione mediante anamnesi mirata: frequentazione di luoghi a rischio nelle due settimane precedenti l'insorgenza dei sintomi.
3. Notifica alle autorità sanitarie. Se si tratta di una legionellosi associata ai viaggi comunicare la data e il luogo esatto del soggiorno (città, struttura ricettiva, numero di stanza) perché questo tipo d'infezione è sottoposto a notifica internazionale (European Working Group for Legionella Infections, EWGLI).
4. Aumentata vigilanza verso la segnalazione ripetuta di situazioni simili.
5. Un caso confermato per il quale si sospetta un'infezione di origine nosocomiale, professionale o termale, richiede indagini supplementari. Ricerca di altri casi, ispezione dei luoghi, ricerca di Legionella nell'acqua.

6. In alcune situazioni particolari (ad esempio a casa di un paziente immunodepresso affetto da legionellosi) sono particolarmente raccomandati dei controlli sulla rete idrica.
7. Per i casi raggruppati, in presenza di 2 o più casi di supposta origine comune, è necessario identificare la fonte di infezione. Se l'anamnesi non evidenzia alcuna esposizione a rischio comune, può essere impossibile trovare l'origine dell'infezione. Dopo un'analisi descrittiva, possono essere necessari un'indagine ambientale e uno studio epidemiologico-analitico (coorte, caso-controllo).
8. Conferma di laboratorio della diagnosi. Si raccomanda, quando possibile, coltura delle secrezioni bronchiali o dell'espettorato e tipizzazione del germe in causa.
9. Notifica immediata alle autorità sanitarie e all'ISS (da completare in seguito con i risultati dell'indagine epidemiologica).
10. Ricerca di altri possibili casi nei coesposti alla stessa fonte e conferma della diagnosi.
11. Descrizione della distribuzione nel tempo e nello spazio dei casi confermati, dei casi possibili e eventualmente dei casi dubbi. Rappresentazione grafica della curva epidemica.
12. Ricerca delle caratteristiche comuni: interviste sul luogo di soggiorno e attività svolte durante le due settimane precedenti la malattia.
13. Formulazione di ipotesi riguardo all'origine dell'infezione.
14. A seconda della dimensione del problema e delle ipotesi emerse dall'analisi descrittiva effettuare indagini ambientali e confronto dei ceppi di *Legionella* isolati dal malato con quelli ambientali; per la tipizzazione e il confronto

inviare, se necessario, gli isolati a un laboratorio di riferimento (regionale o centrale).

15. Eventualmente, ricerca della fonte d'infezione con un'indagine epidemiologico-analitica.

Procedura d'indagini per Legionellosi di origine comunitaria

Premesso che il fatto che una Legionellosi di origine comunitaria sia più frequentemente di tipo sporadico piuttosto che epidemico è probabilmente un artefatto dovuto al non riconoscimento dei casi infraclinici e al fatto che i legami epidemiologici fra i casi sono difficili da determinare. Il rischio infettivo sembra soprattutto legato all'acqua potabile sanitaria (calda e fredda) - in particolare quando c'è produzione di aerosol – e alla vicinanza con le torri di raffreddamento. Altre installazioni come le vasche da idromassaggio (anche in caso di dimostrazioni in esposizioni e fiere commerciali), i bagni termali, l'utilizzo di umidificatori (principalmente in installazioni di climatizzazione), i lavori di costruzione/rinnovamento delle reti idriche e il giardinaggio sono a volte fonte di infezione.

Per quanto concerne i rischi legati all'esercizio di una professione, sono state riportate infezioni verificatesi durante lavori di riparazione delle installazioni sanitarie e di trattamento dell'aria.

Tutte le persone che utilizzano l'acqua pressurizzata o delle installazioni che producono aerosol (minatori, lavamacchine, pittori durante la pulizia delle facciate, lavoratori nelle stazioni di depurazione e fognature, pompieri, ecc.) sono in teoria a rischio di essere contaminati.

L'uso di una maschera ultrafiltrante può rivelarsi necessaria per dei lavori a rischio. In certe imprese (industrie tessili, cartiere, trasformazione del legno, ecc.), la

produzione esige un tasso di umidità elevato, e sono quindi necessari degli umidificatori.

Nell'industria, come altrove, le negligenze nella manutenzione delle installazioni sanitarie e di trattamento dell'aria possono essere all'origine di infezioni da *Legionella* spp.

Nei laboratori di microbiologia, le misure di protezione usuali sono sufficienti.

In caso di sospetta esposizione comunitaria (esclusa l'origine nosocomiale o legata a un viaggio), un'anamnesi mirata è necessaria per cercare le fonti potenziali d'infezione.

In particolare devono essere valutati i rischi inerenti la professione e l'ambiente quotidiano del paziente.

E' sempre raccomandato prelevare dei campioni clinici per permettere un'identificazione precisa del microrganismo (coltura, tipizzazione).

Le indagini ambientali sono indicate nei casi seguenti:

- Sospetto di casi raggruppati
- Casi di reinfezione
- Sospetto di contaminazione legata a una torre di raffreddamento

Questa indagine dovrebbe comprendere:

- Ispezione generale dei luoghi
- Studio dei piani tecnici delle installazioni sanitarie e della climatizzazione
- Consultazione dei documenti relativi alla manutenzione delle installazioni
- Ispezione dettagliata e misurazione della temperatura nei punti d'acqua sospetti
- Ricerca mirata di *Legionella* spp. nell'acqua delle installazioni sospette.²⁰

A questo punto si ritiene utile riportare la sintesi del rapporto dell'indagine epidemiologica e ambientale dell'Istituto Superiore di Sanità per un'epidemia di legionellosi nel IX Municipio del Comune di Roma.²¹

“Nel periodo 15 agosto - 2 settembre 2003 sono state segnalate al sistema di sorveglianza speciale della legionellosi 7 casi di infezione da Legionella pneumophila, tutti riguardanti soggetti residenti nel IX Municipio della città di Roma. L'aggregazione spaziale dei casi e l'assenza di fattori di rischio specifici suggerivano la presenza di una fonte comunitaria di infezione. Il IX Municipio comprende i quartieri Appio-Latino, Metronio e Tuscolano ed ha una superficie di circa 8 km² in cui vive una popolazione di circa 135.000 abitanti. Il sospetto di essere in presenza di un cluster di casi di legionellosi è stato confermato da un confronto con il numero di casi diagnosticati negli anni precedenti nella stessa area che ha evidenziato un cospicuo incremento dell'incidenza.

In accordo con la Azienda Sanitaria Locale (ASL) Roma C, e con l'Agenzia di Sanità Pubblica del Lazio, si è deciso di effettuare un'indagine epidemiologica e ambientale. È stato quindi affidato ai tecnici dell'Agenzia Regionale per l'Ambiente (ARPA) e del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate dell'ISS l'incarico di procedere in doppio ai campionamenti ambientali, e contemporaneamente il Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute dell'ISS ha intrapreso, in collaborazione con la ASL Roma C, uno studio analitico di tipo caso-controllo con lo scopo di individuare e analizzare eventuali sorgenti comuni di infezione.

Nelle settimane successive sono giunte altre 8 notifiche di infezione da Legionella pneumophila diagnosticate in residenti del IX Municipio, portando a 15 il totale dei casi notificati dal 15 agosto al 18 ottobre.

Per stimare la reale estensione dell'epidemia e tenere conto di quadri clinici compatibili ma non etiologicamente confermati, è stato inoltre effettuato uno studio sulle Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO) dei pazienti ricoverati per infezioni polmonari nell'ospedale di zona in cui sono stati ricoverati 13 dei 15 casi notificati.

Al fine di individuare una possibile fonte comune di esposizione dei casi, sono stati effettuati campionamenti ambientali per la ricerca di Legionella pneumophila in diversi siti individuati attraverso interviste ai pazienti. È stato inoltre condotto uno studio caso-controllo appaiato. Per stimare le reali dimensioni dell'epidemia è stata effettuata un'analisi delle schede di dimissione ospedaliera dei pazienti ricoverati per infezioni polmonari presso l'ospedale San Giovanni-Addolorata nel periodo luglio-ottobre 2003 e i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti nello stesso periodo dei tre anni precedenti. Sia l'indagine ambientale sia i risultati dello studio caso-controllo hanno identificato come fonte dell'infezione un grande esercizio commerciale situato nel IX Municipio. Inoltre il notevole incremento dei ricoveri ospedalieri per polmonite registrato nel periodo luglio-novembre 2003 fa supporre che un certo numero di casi classificati come polmonite ad eziologia non specificata sia in realtà riconducibile ad un'infezione da Legionella.”

Di seguito sono riportate le schede utilizzate per lo studio caso-controllo.

QUESTIONARIO PER LO STUDIO CASO-CONTROLLO

Controllo ☐ n. _____

Caso appaiato _____

Periodo di esposizione
(dai 10 ai 2gg prima della comparsa dei sintomi)

dal ____/____/____ al ____/____/____

Intervistatore: _____ Data dell'intervista: ____/____/____

Informazioni personali

Nome e cognome: _____

Data di nascita: ____/____/____

Età: _____

Sesso: M ☐ F ☐

Indirizzo: _____ Telefono: _____

Permanenza a Roma nel periodo compreso tra agosto e settembre 2003 (periodo di riferimento):

dal ____/____/____ al ____/____/____

dal ____/____/____ al ____/____/____

dal ____/____/____ al ____/____/____

per un totale di ____ settimane

Nel periodo compreso tra agosto e settembre ha presentato sintomi di malattia respiratoria?
(febbre >38 °C, tosse, malessere generalizzato) sì ☐ no ☐

se sì, quando? _____

è stato ricoverato? sì ☐ no ☐

ha effettuato terapia? sì ☐ no ☐

con quali farmaci? _____

Commenti _____

Anamnesi patologica prossima e remota

	sì	no	non so
Diabete	☐	☐	☐
Bronchite cronica	☐	☐	☐
Enfisema	☐	☐	☐
Insufficienza renale	☐	☐	☐
Dialisi	☐	☐	☐
Trapianto	☐	☐	☐
Neoplasia	☐	☐	☐

Specificare il tipo e l'anno di diagnosi _____

Altro: _____

Fuma? sì ☐ no ☐ quanto? _____

Beve alcool? sì ☐ no ☐ quanto? _____

Ha ricevuto trattamenti medici nel periodo di cui stiamo parlando?

(fisioterapia, visite odontoiatriche, bagni termali, ecc.) sì ☐ no ☐

Abitazione

La produzione di acqua calda nel suo appartamento è: autonoma ☐ condominiale ☐ non so ☐
Tipo di caldaia: ad accumulo ☐ boiler ☐ istantanea ☐ non so ☐
Ha un impianto di aria condizionata? sì ☐ no ☐
se sì, era in funzione nel periodo di riferimento? sì ☐ no ☐ non ricordo ☐
Ci sono state interruzioni nella fornitura d'acqua nel periodo di riferimento? sì ☐ no ☐ non ricordo ☐
Ci sono lavori in corso vicino a casa sua? sì ☐ no ☐ non so ☐
se sì, di che tipo? (costruzione o scavi): _____ non so ☐
a quale distanza approssimativamente? _____ non so ☐
dove? _____ non so ☐

Commenti _____

Abitudini sociali

Luoghi frequentati nel periodo di riferimento:

	no	sì	quante volte?	Indirizzo e/o data
Negozi, supermercati	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale A	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale B	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale C	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale D	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale E	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale F	☐	☐	_____	_____
Esercizio commerciale G	☐	☐	_____	_____

Commenti _____

Ha l'abitudine di passeggiare o andare a piedi? sì ☐ no ☐
per quale ragione? (per andare al lavoro, far passeggiare il cane, ecc.) _____

Ha un percorso più frequente? sì ☐ no ☐
se sì, me lo può descrivere? _____

Nel periodo di riferimento è passato nei seguenti luoghi e quante volte?

	no	sì	quante volte?	non ricordo
Via H	☐	☐	_____	☐
Via I	☐	☐	_____	☐
Via L	☐	☐	_____	☐
Via M	☐	☐	_____	☐
Via N	☐	☐	_____	☐
Via O	☐	☐	_____	☐
Via P	☐	☐	_____	☐
Via Q	☐	☐	_____	☐

Quali esercizi commerciali / luoghi pubblici ha frequentato nel periodo di riferimento? _____

Ci sono altre attività sociali o giornaliere a cui ha partecipato in quel periodo? sì ☐ no ☐ non ricordo ☐

Qualcuno dei suoi conoscenti in quel periodo ha avuto malattie respiratorie?
(è stato ricoverato, ha avuto una polmonite) sì ☐ no ☐ non so ☐

Commenti _____

Esposizione di un caso specifico

Come si è cercato di evidenziare nelle pagine precedenti per il controllo della diffusione e moltiplicazione di *Legionella* si può procedere con diversi approcci più o meno risolutivi, più o meno dispendiosi in termini di risorse e di tempo, che richiedono maggiore o minore presenza di varie figure professionali (Medici, Biologi, Ingegneri, Tecnici di Laboratorio Biomedico, Assistenti Sanitari, Tecnici della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro, Installatori e Manutentori, Utenti).

Dopo questa premessa viene illustrato un caso (per il quale si è mantenuto il debito anonimato per la protezione dei dati personali) affrontato e risolto dall'equipe di lavoro del Servizio Igiene e Sanità Pubblica dell'U.L.S.S. n. 4.

In data 8 maggio 2006 è giunta una segnalazione del Servizio Igiene e Sanità Pubblica dell'Azienda Sanitaria di residenza di un signore, al quale era stata diagnosticata la Malattia dei Legionari, con segni di polmonite focale rilevabili all'esame clinico, esame radiologico suggestivo di interessamento polmonare accompagnati da riconoscimento dell'antigene specifico solubile nelle urine, l'età era di 58 anni, era tabagista. La segnalazione era dovuta al fatto che l'interessato aveva soggiornato per 3 giorni dal 2 al 5 maggio 2006 (quindi entro l'intervallo di 10 giorni prima della diagnosi) in una struttura ricettiva (Bed & Breakfast), per motivi di lavoro. L'Azienda Sanitaria richiedente precisava inoltre che, esclusa la permanenza nella struttura ricettiva indicata, non vi erano risultanze che l'interessato fosse stato esposto ad altri fattori di rischio per la Legionellosi (ad esempio rischi in ambito professionale).

Veniva richiesto al Servizio Igiene e Sanità Pubblica dell'Azienda U.L.S.S. n. 4, di effettuare un'indagine ambientale presso la struttura ricettiva dove aveva soggiornato l'interessato. A questo punto il Medico Dirigente del Servizio Igiene e Sanità Pubblica, presa visione della richiesta, ha incaricato il Tecnico della

Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro ad eseguire l'indagine ambientale presso la struttura.

Il giorno stesso lo scrivente, che, nell'ambito di una Campagna di sensibilizzazione per la prevenzione della Legionellosi, stava effettuando in quel periodo verifiche e campionamenti presso varie strutture Ricettive (alberghi e assimilabili) e nelle Case di Riposo, ha provveduto ad effettuare una sopralluogo, un'indagine ambientale e due campionamenti di acqua per la ricerca della Legionella presso la struttura ricettiva segnalata.

La titolare dell'esercizio ricettivo ha subito collaborato, mettendo a disposizione il registro dei clienti, dal quale si è potuto risalire alla corrispondenza dei dati della persona e all'identificazione della camera utilizzata dalla stessa, nei giorni dal 2 al 5 maggio.

La struttura in questione era di piccole dimensioni, con tre camere da letto doppie, dotate ciascuna di un bagno completo di tutti gli accessori (doccia, water, bidet e lavandino). Una di queste era stata occupata dalla persona in questione.

Quindi si è provveduto ad effettuare un campionamento di 1 litro di acqua in bottiglia sterile, contenente sodio tiosolfato ad una concentrazione finale di 0,01%, per la ricerca della Legionella in condizioni di utilizzo comune, dall'erogatore della doccia del bagno della camera in argomento, con il rubinetto miscelatore regolato per far uscire l'acqua del circuito della calda, senza flambare lo sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua (come indicato nell'Allegato 2 del Documento di linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi - 4 aprile 2000); la temperatura dell'acqua è stata misurata, con termometri per alimenti adeguatamente tarati, dopo il campionamento, facendola scorrere per 5 minuti registrando il valore di **42 °C**. Poi è stata misurata la temperatura dell'acqua che usciva dal circuito di quella fredda e misurava 15 °C. Secondo le linee-guida già citate, non sarebbe stato necessario

eseguire un campione di acqua dal circuito della fredda, perché la temperatura era < a 20 °C, ma per avere una conferma in più e per soddisfare la titolare dell'esercizio che aveva osservato che la potenziale carica batterica infettiva potesse derivare direttamente dall'acquedotto comunale, si è provveduto ad eseguire anche un campione di acqua fredda presso il punto più prossimo al contatore dell'acqua, quindi in questo caso dal rubinetto di acqua fredda del lavatoio.

I campioni, conservati al riparo dalla luce e a temperatura ambiente sono stati consegnati nel giro di 2 ore al Laboratorio ARPAV di Padova U.O. Biologia di Base Dipartimento Regionale Laboratori - Servizio Laboratorio Provinciale di Padova (che con nota prot.n°50485/50.03.50 del 28 ottobre 2002 è stato individuato dalla Regione Veneto come Laboratorio di Riferimento Regionale con attività di diagnosi microbiologica di legionellosi in matrici ambientali).

Successivamente si è proceduto ad ispezionare l'impianto di riscaldamento e produzione acqua calda sanitaria che era costituito da una caldaia a metano a camera stagna, a condensazione dei fumi (per il recupero energetico), con serbatoio di accumulo dell'acqua calda sanitaria, dotato di termometro di misurazione dell'acqua nel serbatoio stesso, che al momento del sopralluogo registrava **45 °C**.

La caldaia è risultata installata in conformità alla norma UNI 7129 "Impianti a gas per uso domestico alimentati da rete di distribuzione" e aveva anche superato le verifiche periodiche di manutenzione (annuale) e analisi di corretta combustione (biennale), come è risultato dalle dichiarazioni di conformità dell'impianto e dal libretto di manutenzione.

Poi si è notato che a valle del contatore, nel circuito di acqua fredda in entrata dall'acquedotto era presente un addolcitore per togliere il calcare dall'acqua, in merito all'installazione del quale non era stata fatta notifica alla ai sensi dell'art. 3 del Decreto Ministeriale n. 443 del 21/12/1990 Regolamento recante disposizioni

tecniche concernenti apparecchiature per il trattamento domestico di acque potabili (G.U. 26/01/1991, n. 24), e non vi erano documenti che dimostravano la periodica manutenzione.

Non erano neppure state attuate le procedure previste dell'Accordo Stato-Regioni 13/01/2005 "Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali", in particolare la valutazione del rischio di cui al punto 3.2: Nomina di un responsabile, Fattori di rischio (valutazione almeno ogni due anni), Ispezione della struttura, Periodicità, Registro degli interventi; la titolare affermava di non esserne a conoscenza.

Nel corso del sopralluogo, sono state fornite alla titolare tutte le informazioni da adottare nel caso di conferma della contaminazione della rete idrica, consegnando alla stessa anche uno schema riassuntivo (Allegato 1) con le azioni da intraprendere, desunte dall'Accordo Stato-Regioni 13/01/2005 "Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali" e dall'Accordo Stato-Regioni 04/04/2000 "Linee guida per la prevenzione e il controllo della Legionellosi".

In data 20 maggio 2008 giungeva dal SISP dell'Azienda Sanitaria di residenza della persona l'esito di un aumento di più di 4 volte del titolo anticorpale specifico verso *Legionella Pneumophila* s.g. 1 rilevato sierologicamente mediante immunofluorescenza tra due sieri prelevati a distanza di 10 giorni.

In data 22 maggio è pervenuto l'esito dell'analisi del Laboratorio dell'ARPAV di Padova dove è emerso che nel campione di acqua calda prelevato erano presenti 5.500 UFL/l di *Legionella Pneumophila* 1.

Ora tutti i fattori della dinamica infettiva del soggetto confluivano verso la correlazione tra la malattia contratta dal soggetto e il contagio avvenuto verosimilmente respirando aerosol contenente goccioline contaminate provenienti dall'erogatore della doccia della struttura ricettiva ispezionata.

Non appena si è potuto disporre di tutte le informazioni si è provveduto a inoltrare una comunicazione scritta all'Autorità Sanitaria Locale, cioè il Sindaco del Comune interessato, affinché lo stesso potesse prendere i provvedimenti che ritenesse più opportuni per tutelare la salute pubblica, che nella fattispecie si è tradotta nell'Ordinanza Sindacale ai sensi dell'art. 232 del T.U.LL.SS., che imponeva alla Ditta l'effettuazione tempestiva di tutti gli interventi di bonifica necessari previsti dall'Accordo Stato-Regioni 13/01/2005 "Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali" e dall'Accordo Stato-Regioni 04/04/2000 "Linee guida per la prevenzione e il controllo della Legionellosi". Nel giro di 20 giorni la Ditta in questione ha bonificato completamente l'impianto di produzione acqua calda sanitaria, tarando successivamente le temperature dell'acqua a 60° C alla produzione e 52° C all'erogazione, fornendo prova documentale e analitica, e adottando tutti i criteri di analisi del rischio e gestionali per poter mantenere un buon standard di controllo.

Le varie fasi del sopralluogo, del campionamento e dell'indagine ambientali sono state documentate con apposita modulistica approntata allo scopo (Allegato 2 e Allegato 3) e i dati dei campionamenti sono stati registrati in un'applicazione di database in Access (Allegato 4)., che costituisce la banca dati necessaria per eseguire report dell'attività, analizzare i dati e associare gli stessi agli altri dati delle indagini epidemiologiche, per pianificare l'andamento dei controlli di competenza su casi e focolai epidemici.

Proposte di prevenzione e controllo per il caso specifico.

Durante l'indagine ambientale descritta e a seguito dell'esito degli interventi di bonifica documentati successivamente dalla Ditta che ha eseguito gli interventi, si sono potuti mettere in evidenza i seguenti punti critici del sistema di produzione ed erogazione dell'acqua, per ciascuno dei quali indicherò l'intervento di bonifica o di ristrutturazione possibile:

1. Presenza di un addolcitore che, se non adeguatamente controllato e pulito, può essere luogo di proliferazione batterica.

✚ Se non strettamente necessario per particolare eccessiva durezza dell'acqua, è meglio non installare questo tipo di accessorio, ovvero va adeguatamente progettato, gestito e pulito.

2. Temperatura dell'acqua calda alla produzione di 45 °C troppo bassa perché consente la proliferazione della Legionella.

✚ Alla produzione deve essere tenuta una temperatura tale da ottenere un valore di almeno 50°C all'erogazione del circuito dell'acqua calda, tenendo conto del tipo di impianto e delle perdite di calore che inevitabilmente si hanno lungo il percorso; normalmente è meglio tenere temperature di almeno 65°C alla produzione.

3. Temperatura dell'acqua all'erogazione misurata dal circuito dell'acqua calda in uscita dall'erogatore della doccia di 42 °C troppo bassa perché consente la proliferazione della Legionella.

✚ Come già accennato sopra il valore della temperatura all'erogazione del circuito dell'acqua calda deve essere almeno di 50°C; non sembra costituire buona motivazione di tenere temperature più basse la prevenzione delle scottature, in quanto i miscelatori consentono un'istantanea miscelazione con l'acqua fredda.

4. Il serbatoio di accumulo dell'impianto di produzione dell'acqua calda, presentava sedimenti che inevitabilmente arrivano dalle reti idriche pubbliche, e spesso anzicchè circolare ed uscire dai rubinetti permangono sul fondo dei serbatoi e creano il substrato per proliferazioni batteriche di vario genere tra cui la Legionella.

✚ I serbatoi dell'acqua vanno svoutati, disincrotrati e puliti almeno una volta ogni 6 mesi.

5. Tipo di erogatore con microdiffusore che facilita la formazione di goggioline d'acqua molto piccole, si ricorda infatti che goggioline con diametro di 5 μm (vedi es. foto seguente) penetrano più facilmente nel sistema respiratorio fino agli negli alveoli polmonari veicolando la Legionella presente.



✚ Gli erogatori delle docce vanno mantenuti puliti e privi di incrostazioni e vanno sostituiti quando serve ad esempio con erogatori con diffusione dell'acqua a gocce di più grandi dimensioni, per non favorire la loro penetrazione negli alveoli polmonari (vedi es. foto seguente)



6. Scarsa ventilazione del locale doccia (era presente solo un piccolo aspiratore senza immissione di aria compensativa esterna e mancava una finestra); la buona ventilazione è importante in locali dove si forma molta umidità, perché la sopravvivenza di Legionella contenuta nelle goccioline di aerosol, passa da 3 a 15 minuti quando l'umidità aumenta dal 30 all'80%, quindi aumenta il tempo di esposizione al rischio.

✚ Ove non sia possibile ricavare finestre per il locale bagno, è necessario che l'impianto di aspirazione venga adeguatamente dimensionato per garantire, soprattutto durante la doccia o il bagno, un buon ricambio d'aria che possa tenere bassa l'umidità relativa, prevedendo un'immissione anche forzata di aria compensativa esterna, come previsto dalle norme di buona tecnica e prescritto quando viene espresso un parere igienico-sanitario per un progetto dove vi sono bagni ciechi.

Misure di prevenzione e controllo (Vedere anche Allegati 7 – 8 – 9)

Premessa

Di seguito verrà effettuato un elenco sintetico dei principali metodici prevenzione e controllo.

I metodi a disposizione per il controllo della diffusione e moltiplicazione di Legionella negli impianti sono numerosi, tutti efficaci nel breve periodo ma non altrettanto a lungo termine. La scelta della metodica più appropriata dipende dalle caratteristiche della struttura in cui si intende operare (ad esempio uno stabilimento termale o un albergo), dell'impianto idrico e dell'acqua stessa (ad esempio la complessità e il materiale di costruzione delle tubazioni possono impedire l'azione di un disinfettante, così come pH, temperatura e torbidità dell'acqua possono ridurre l'efficacia).

Mezzi fisici di disinfezione

Temperatura

Minima temperatura efficace: 60°C. Condizioni di utilizzo: fare scorrere l'acqua ad almeno 60° C in tutte le uscite (rubinetti, docce e cc.) per almeno 30 minuti ogni giorno. Condizioni di mantenimento: mantenere l'acqua ad almeno 60°C nel sistema, altrimenti Legionella ricompare entro poche settimane. I trattamenti termici non sono però sempre applicabili, date le elevate temperature da mantenere, la resistenza meccanica dei materiali dell'impianto ed anche il consistente consumo energetico.



Radiazione ultravioletta

Agisce sul DNA impedendone la replicazione ed ha massima attività disinfettante a 254 nm. Data la mancanza di potere residuo, i raggi UV da soli non sono sufficienti a controllare la presenza di Legionella. La torbidità dell'acqua, la presenza di biofilm e depositi possono agire da scudo alla radiazione proteggendo i batteri dall'azione disinfettante.

Filtrazione

Tale tecnica si basa sull'impiego di filtri da applicare ai punti d'uso (rubinetti, docce) che forniscono acqua esente da Legionella spp. Sono utilizzati soprattutto in ambito ospedaliero per la protezione dei pazienti e degli operatori sanitari dei reparti a rischio ma attualmente sono in vendita anche per gli alberghi. Devono però essere puliti, disinfettati e sostituiti con periodicità ravvicinate (secondo protocolli prestabiliti), altrimenti costituiscono essi stessi un punto critico.

Mezzi chimici di disinfezione

Ioni metallici

Rame e argento interferiscono con i sistemi enzimatici della respirazione cellulare e si legano al DNA con un effetto sinergico. Sono aggiunti nell'acqua elettroliticamente o come ioni metallici in quantità pari a 100-400 µg/L per il rame e 10-40 µg/L per l'argento. L'utilizzo degli ioni richiede una attenta valutazione delle dosi secondo le caratteristiche del sistema, il monitoraggio dei livelli raggiunti ed una costante manutenzione degli elettrodi.

Agenti ossidanti

Cloro gassoso o ipoclorito (di Na o Ca). Legionella spp è particolarmente resistente alla clorazione, soprattutto quando si trova in associazione con amebe. L'iperclorazione shock prevede l'immissione di dosi elevate di cloro (20-50 mg/L), il drenaggio dell'acqua e il passaggio di nuova acqua fino ad avere una concentrazione

di cloro di circa 1 mg/L. L'iperclorazione continua consiste nell'iniezione continua di cloro per avere circa 2 mg/L di cloro libero ai rubinetti. I principali svantaggi sono la corrosione delle tubature, la formazione di sottoprodotti organici tossici (trialometani), l'alterazione del sapore/odore dell'acqua e la ricolonizzazione del sistema idrico nel lungo periodo.

Biossido di cloro

È un gas preparato in situ ed usato per la disinfezione dell'acqua potabile. A differenza del cloro non determina formazione di clorofenoli maleodoranti e riduce fortemente il biofilm.

Clorammine

(monoclorammina T) Sono più stabili del cloro libero, hanno un maggior potere residuo, non danno origine a trialometani e penetrano meglio nel biofilm. Sono ancora in fase di sperimentazione.

Ozono

Agisce rapidamente danneggiando il DNA batterico. E' più efficace del cloro ma non ha potere residuo.

Perossido di idrogeno e argento

Questo trattamento si basa sull'utilizzo di una soluzione stabile di perossido di idrogeno e ioni argento, che agiscono con effetto sinergico e sono in grado di demolire anche il biofilm.

E' una tecnica recente che necessita di ulteriori conferme.²²

Esempio di misure di prevenzione e controllo in impianti idrici ²³

Impianti di produzione, distribuzione ed utilizzo di acqua calda sanitaria (terminali e, in particolare, docce).

Provvedimenti generali

Dato che non esiste una vera e propria procedura standard in genere bisogna procedere per punti:

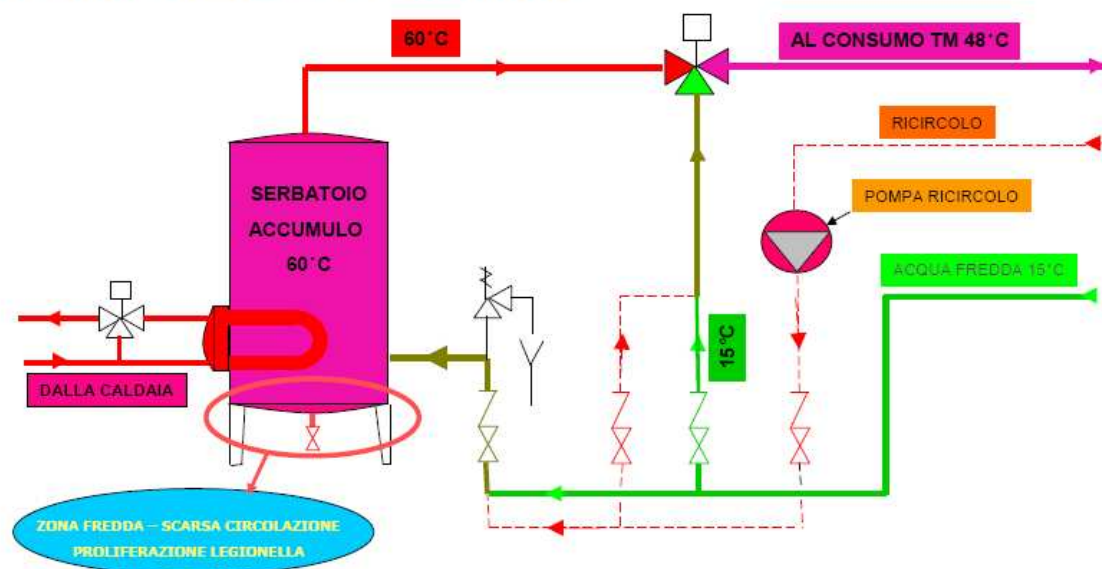
1. Monitoraggio analitico
2. Valutazione del rischio
 - Studio della rete idrica
 - Individuazione dei punti critici
3. Definizione interventi a breve e medio termine
 - Pulizia meccanica dei boilers
 - Sanificazione della rete (eliminazione eventuali biofilm)
 - Sanificazione dei filtri e vasche (se necessaria)

Parti degli impianti idrici e fattori “a rischio” Legionella:

- Serbatoi di acqua calda e fredda
- Acqua calda con temperatura compresa tra 20°C e 45 °C
- Tubazioni con portata scarsa o assente (rami “morti”, stanze non occupate)
- Depositi di biofilm e incrostazioni sulle pareti delle tubazioni e dei serbatoi
- Gomma e materiali sintetici
- Produttori di acqua calda e serbatoi di accumulo
- Calcare nelle tubazioni, docce e rubinetti.

Schema di impianto centralizzato con indicazione di un punto critico

Sistema centralizzato + accumulo



Schema tecniche di trattamenti termici

Shock termico

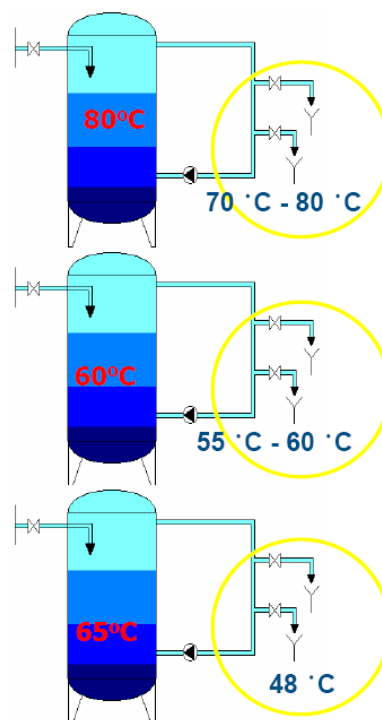
Aumento della temperatura dell'acqua calda a 70 °C - 80 °C continuamente per 3 gg. con scorrimento per 30 min. (temperatura minima ai punti distali 60 °C)

Mantenimento in temperatura

Mantenimento costante della temperatura tra 55 °C - 60 °C all'interno della rete di distribuzione acqua calda

Trattamento termico continuo (Pastorizzazione)

Mantenimento costante della temperatura del bollitore a 65 °C e rete a 48 °C, con sistema di raffreddamento dell'acqua della rete di distribuzione acqua calda



In conclusione, una volta eseguiti tutti i “Provvedimenti generali” sopraindicati si evidenzia che il Trattamento termico continuo (Pastorizzazione) descritto nello “Schema tecniche di trattamenti termici” è un buon compromesso tra costi e benefici per i seguenti motivi:

1. Costo energetico pompa di ricircolo bollitore e costo aggiuntivo apparecchiature contenuto.
2. L'acqua della rete a 48 °C non causa azione corrosiva (tubazioni zincate) né incrostazioni.
3. La disinfezione è completa perché la Legionella è inattivata in centrale termica.

CONCLUSIONI

La Legionellosi è un problema di Sanità Pubblica, ma non può essere affrontato e risolto solamente dagli organismi e dalle figure professionali appartenenti a quest'area, e lo dimostra anche il positivo fiorire di gruppi di ricerca, aziende specializzate, figure professionali specificatamente formate.

Per la prevenzione primaria è fondamentale informare e formare sui rischi e sui dettagli tecnici per la corretta gestione degli impianti le Associazioni di categoria (Associazioni albergatori, Ordini professionali, ecc.), i gestori, i tecnici e i progettisti di strutture quali ospedali, case di riposo, alberghi, torri evaporative, grandi impianti di condizionamento, piscine, fontane, irrigazione (tutti luoghi e strutture dove più facilmente si possono provocare amplificazione e diffusione del batterio e dove spesso risiedono i soggetti più a rischio), con comunicazioni dirette e pubblicazioni su siti internet (Vedi allegati 5 e 5 bis).²⁴

Così facendo si contribuisce a rendere consapevoli i soggetti che devono applicare in particolare i principi del "Documento di linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi - 4 aprile 2000" e del "Documento di linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico - ricettive e termali - del 4 Febbraio 2005.

Successivamente è necessario monitorare con campagne periodiche, lo stato di applicazione di tali misure eseguendo controlli sulle strutture più a rischio (Case di Riposo, Ospedali, Alberghi, ecc.).

Un'altro importante fattore di prevenzione primaria può essere il lavoro informativo rivolto alla popolazione nel suo complesso, ma soprattutto alle fasce che presentano vari fattori di rischio soggettivo (Alcolismo, Tabagismo, ecc. che aumentano il rischio), o semplicemente fattori di rischio oggettivo (esposizione impropria ad aerosol di acqua contaminata in ambito lavorativo e/o in ambiente di vita) affinché

limitino certi comportamenti, adottino i D.P.I. (mascherine filtranti) o gli interventi di manutenzione appropriati, in definitiva perché siano pienamente consapevoli di questo tipo di rischio.

Come dicono molti autori di pubblicazioni sul tema, non sembra esistere una soluzione unica, semplice, economica e definitiva per controllare la diffusione del batterio nei vari sistemi che lo amplificano; ma i professionisti che decidono o si trovano per funzioni proprie ad occuparsi del problema o a cercare soluzioni preventive, devono documentarsi, osservare con accuratezza e cognizione di causa gli aspetti sanitari e comportamentali delle persone potenzialmente esposte, studiare e misurare sul posto gli impianti potenzialmente interessati dal problema, analizzare il loro stato di conservazione e manutenzione e cercare di creare degli standard procedurali minimi di corretta gestione, possibilmente plasmati sulle specificità e sulle criticità dei vari sistemi.

Tuttavia l'esperienza maturata e i riscontri avuti sul campo portano ad affermare che, soprattutto nei piccoli impianti di produzione acqua calda sanitaria, il mantenimento di adeguate temperature e la minuziosa pulizia dei serbatoi di accumulo dell'acqua, dei boiler, delle tubazioni, possono consentire il contenimento dei livelli di contaminazione in esercizio con valori < 1000 UFC/l di *Legionella* spp; inoltre la sostituzione degli erogatori delle docce, con erogatori dotati di getto a gocce di grande dimensione (almeno superiori a 100 µm quindi sicuramente non respirabili) può consentire l'assenza di esposizione (anche in presenza di contaminazione > 1000 UFC/l).

SCHEMA 3.1 - ISTRUZIONI PER LA DITTA - PREVENZIONE CONTAMINAZIONE DA LEGIONELLA PNEUMOPHILA NEGLI IMPIANTI IDRICI

SEZIONE A: PREREQUISITI

PREREQUISITO 1

Sintesi misure di controllo elencate al punto 3.1 Accordo Stato-Regioni 13/01/2005 "Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali":

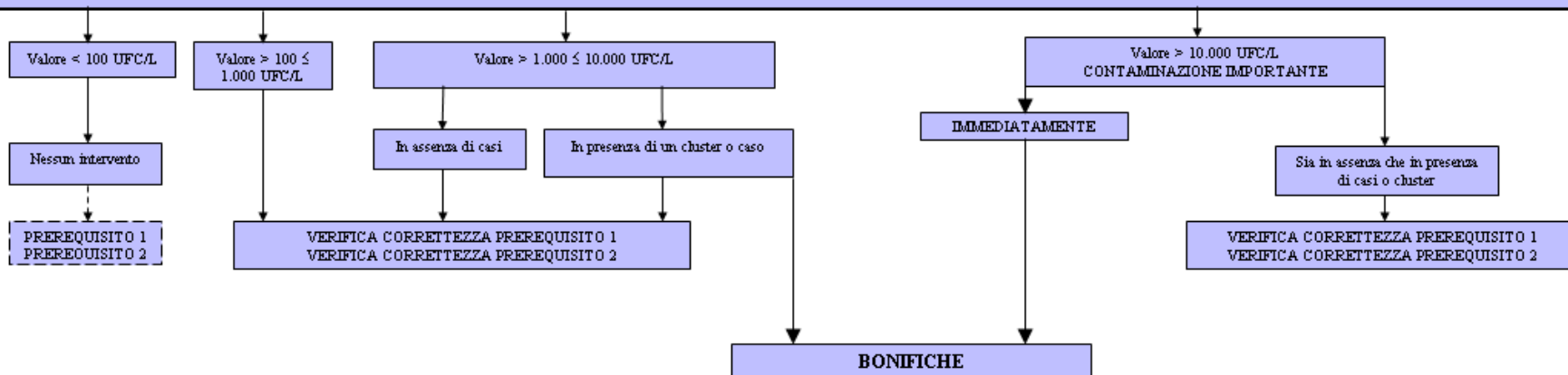
- acqua calda sopra 50°C all'erogazione;
- acqua fredda sotto i 20°C;
- fare scorrere l'acqua calda e fredda delle camere non occupate per alcuni minuti almeno una volta la settimana e prima che vengano occupate;
- mantenere docce e erogatori puliti e privi di incrostazioni sostituendo gli erogatori se serve;
- svuotare, disinquinare e disinfettare i serbatoi di accumulo dell'acqua calda almeno due volte l'anno;
- disinfettare il circuito dell'acqua calda con cloro ad elevata concentrazione o con altri metodi di comprovata efficacia all'inizio della stagione turistica;
- pulire e disinfettare tutti i filtri dell'acqua ogni 1-3 mesi;
- ispezionare mensilmente i serbatoi dell'acqua e le tubature visibili;
- se possibile, ispezionare l'interno dei serbatoi d'acqua fredda eliminando la sporcizia e disinfettare almeno una volta l'anno con cloro;
- accertarsi che modifiche all'impianto non creino bracci morti o tubature con flusso assente o intermittente;
- per le attrezzature di idromassaggio occorre assicurarsi che le stesse siano sottoposte al controllo da personale esperto, che deve provvedere alla effettuazione e alla registrazione delle operazioni di pulizia e di corretta prassi igienica.

PREREQUISITO 2

Sintesi valutazione del rischio di cui al punto 3.2 Accordo Stato-Regioni 13/01/2005 "Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali":

- 3.2.1 - Nomina di un responsabile
- 3.2.2 - Fattori di rischio (valutazione almeno ogni due anni)
- 3.2.3 - Ispezione della struttura
- 3.2.4 - Periodicità
- 3.2.5 - Registro degli interventi

SEZIONE B: AZIONI DA ATTUARE PER ANALISI POSITIVA NELL'IMPIANTO IDRICO



SEZIONE C: ISTRUZIONI OPERATIVE PER LE BONIFICHE

- 1) pulitura manuale dei serbatoi, autoclavi o altri depositi idrici, dai fanghi e dal calcare di depositi;
- 2) ~~disincrostazione~~ chimica di tutto l'impianto con appositi prodotti (linea calda e fredda) e lavaggio su ~~cessivo~~;
- 3) shock termico: elevare la temperatura dell'acqua a 70-80°C; continuamente per 3 giorni e far scorrere l'acqua quotidianamente attraverso i rubinetti per un tempo di 30 minuti. E' fondamentale verificare che, durante la procedura, la temperatura dell'acqua nei punti distali raggiunga o ecceda i 60°C;
- 4) ~~inquinazione~~ shock deve essere effettuata su acqua inferiore a 30°C, con una singola immissione di cloro in acqua fino ad ottenere concentrazioni di cloro residuo libero di 20-50 mg/l in tutto l'impianto, ivi compresi i punti distali. Dopo un periodo di contatto di 2 h con 20 mg/l di cloro o 1 h con 50 mg/l di cloro, l'acqua viene drenata e nuova acqua viene fatta scorrere nell'impianto fino a che il livello di cloro ritorna alla concentrazione di 0,5-1 mg/l.

SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE - REGIONE VENETO
AZIENDA U.L.S.S. n. 4 "ALTO VICENTINO"
Via Rasa, 9 - 36016 THIENE - Tel.0445/389111- Fax 0445/370457
Dipartimento di Prevenzione
Servizio Igiene e Sanità Pubblica

VERBALE DI ISPEZIONE PER LA PREVENZIONE DELLA LEGIONELLOSI

Rif. Normativi: - Art. 231 del Testo Unico Leggi Sanitarie Regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265
- Accordo Stato Regioni 05/05/2000 "Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi"
- Accordo Stato Regioni 13/01/2005 "Linee-guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali"

Verbalizzante: _____
data e ora del sopralluogo: _____ località: _____
ditta e indirizzo: _____
tel./fax.: _____ la ditta svolge attività di: _____
legale rappresentante / presenti all'ispezione: _____
motivo ispezione: _____

IL VERBALIZZANTE SPECIFICA QUALI IMPIANTI E LE ATTREZZATURE HA ISPEZIONATO:

1. PUNTI DI EROGAZIONE ACQUA	SI ☐	NO ☐
2. IMPIANTO DI DISTRIBUZIONE ACQUA	SI ☐	NO ☐
3. CALDAIA / CENTRALE TERMICA / ACCUMULO ACQUA CALDA	SI ☐	NO ☐
4. AUTOCLAVI E VASCHE DI ACCUMULO ACQUA FREDDA	SI ☐	NO ☐
5. IMPIANTO DI TRASPORTO ARIA CONDIZIONATA	SI ☐	NO ☐
6. CENTRALE DI TRATTAMENTO ARIA	SI ☐	NO ☐

Osservazioni: _____

IL VERBALIZZANTE SPECIFICA QUALI DOCUMENTI E/O AZIONI DELLA DITTA HA VERIFICATO:

7. Misure di controllo punto 3.1 Linee Guida 13/01/2005	SI ☐	NO ☐
8. Valutazione del rischio punto 3.2 Linee Guida 13/01/2005	SI ☐	NO ☐
9. Bonifica in caso di contaminazione dell'impianto	SI ☐	NO ☐

Osservazioni: _____

IL VERBALIZZANTE RIPORTA DI ESGUITO GLI ESTREMI DEI CAMPIONAMENTI ESEGUITI:

10. Campionamenti (Vedi verbale di prelievo)

Valutazione sintetica:

Prescrizioni e/o suggerimenti:

IL RESPONSABILE DELLA DITTA

IL VERBALIZZANTE

Verbale N. _____; completato, letto e sottoscritto alle ore ____:____ del ____/____/____

F:\Legionella per Test\Procedure e piani di lavoro\VERBALE ISPEZIONE LEGIONELLA.doc

Allegato 2

Comuni appartenenti all'U.L.S.S.:

Comuni appartenenti all'U.L.S.S.:

SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE - REGIONE VENETO
AZIENDA U.L.S.S. n. 4 "ALTO VICENTINO"

Via Rasa, 9 - 36016 THIENE - Tel.0445/389111- Fax 0445/370457

Codice U.L.SS. 050/004 - c.f. e p.i. 00913490249

Dipartimento di Prevenzione

Servizio Igiene e Sanità Pubblica

VERBALE DI PRELIEVO N. _____ DATA ____ / ____ / ____ ORA ____ :

DITTA / STUTTURA _____ VIA _____ N. _____

COMUNE _____

RICERCA LEGIONELLA NELL'ACQUA

[illegible]

I campioni eseguiti e conservati a temperatura ambientale al riparo dalla luce vengono consegnati, con allegata copia del presente verbale, al laboratorio di analisi dell'ARPAV di Padova per l'esecuzione dell'analisi batteriologica.

Caratteristiche dell'acqua

IL TECNICO DELLA PREVENZIONE
NELL'AMBIENTE E LUOGHI DI LAVORO

Eventuale persona presente al prelevamento in rappresentanza della Ditta / Ente Gestore

Sig. / Sig.ra	in qualità di
---------------	---------------

dichiarazioni

Letto e confermato.

Firma _____

F:\Legionella per Test\Procedure e piani di lavoro\VERBALE PRELIEVO ACQUA LEGIONELLA.doc

Allegato 4.1

Comuni appartenenti all'U.L.S.S.:

Cumuli appartenenti all'U.C.I.SS..

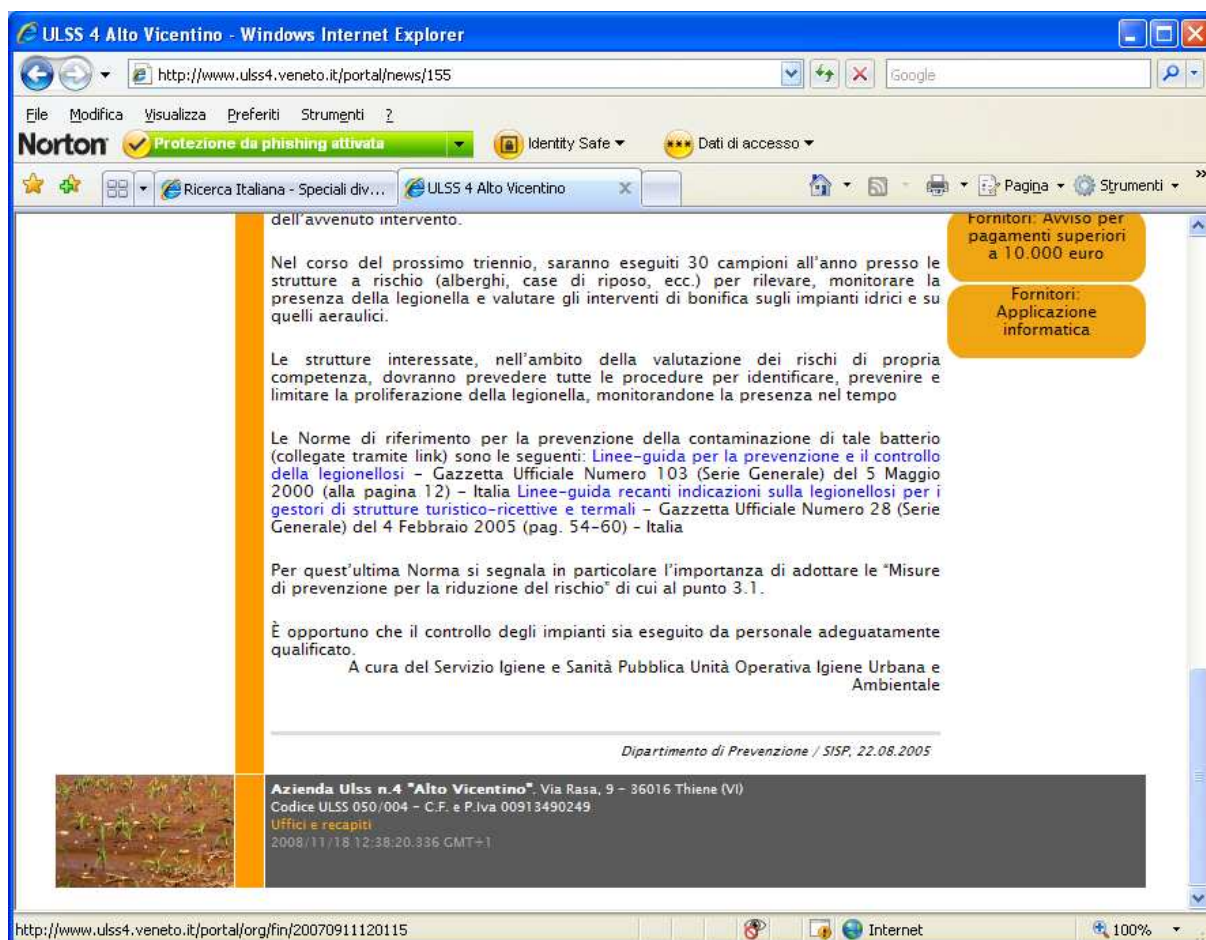
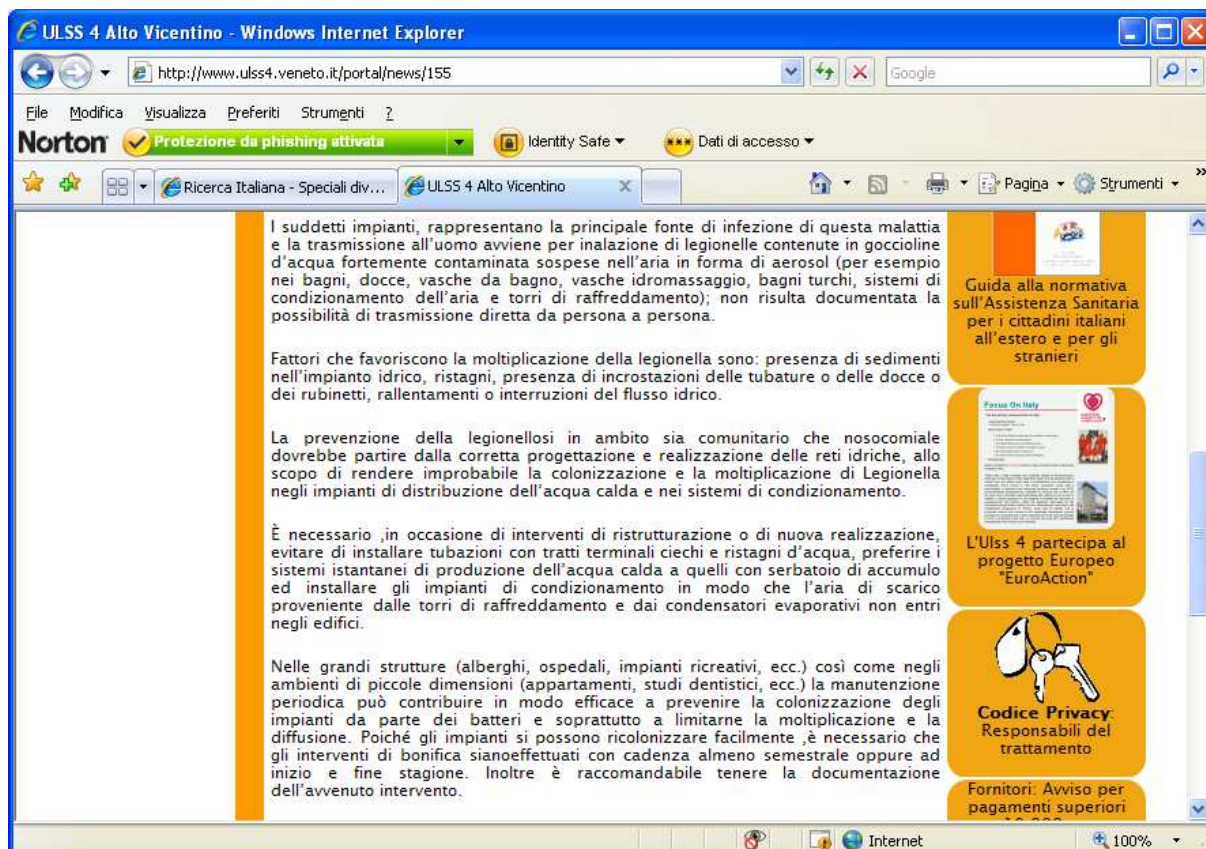
MASCHERA_CAMPIONI_LEGIONELLA

AZIENDA U.L.S.S. N. 4
DIPARTIMENTO DI PREVENZIONE
SERVIZIO IGIENE E SANITA' PUBBLICA
CAMPIONI LEGIONELLA

STRUTTURA	OMISSIS
GESTORE	OMISSIS
COMUNE	OMISSIS
VIA	OMISSIS
CIVICO	0
DATA	
ORA	
N_CAMPIONE_ULSS	0
PUNTO_CAMPIONAMENTO:	EROGATORE DOCCIA STANZA N.
CAMPIONE_DI:	ACQUA CIRCUITO CALDA
TEMPERATURA_ACQUA:	42
LABORATORIO	ARPAV PADOVA
DATA_CERTIFICATO	
N_CAMPIONE_LABORATORIO	
ESITO	POSITIVO
SIEROGRUPPO	PNEUMOPHILA 1
VALORE	5500
CATEGORIA:	> 100 MA <= 1000 UFC/L
BONIFICATO	☒
TECNICO DELLA PREVENZIONE:	DI SPIGNO UMBERTO

Record: 137 di 137





Allegato 6 bis

Cure odontoiatriche nelle due settimane precedenti l'esordio ☐ SI ☐ NO

Ricovero ospedaliero nelle due settimane precedenti l'esordio ☐ SI ☐ NO

Ospedale:..... Reparto:.....

Periodo: da a

Soggiorno nelle due settimane precedenti l'esordio, in luoghi diversi dalla propria abitazione ☐ SI ☐ NO

• Specificare tipo di struttura recettiva: (es. albergo, terme, campeggio, nave, ecc.).....

• Nome e località..... n. stanza.....

• Eventuale operatore turistico.....

• In gruppo ☐ Individuale ☐

• Periodo: da [][][][][][][][] a [][][][][][][][]

Frequenzamento di piscine nelle due settimane precedenti l'esordio ☐ SI ☐ NO

Abitudine al fumo di sigaretta ☐ SI ☐ NO

Specificare da quanto tempo quantità

Abitudine all'alcool ☐ SI ☐ NO

Specificare quantità

Diagnosi di legionellosi basata su:

Isolamento del germe ☐ Specificare da quale materiale patologico:

Sierologia	gg da inizio sintomi	titolo	Specie e Sierogruppo
1° siero			
2° siero			
3° siero			

Rilevazione antigene urinario ☐ SI ☐ NO

Indagine Ambientale ☐ SI ☐ NO Se SI specificare materiale analizzato

Se SI ☐ Positiva ☐ Negativa

Se Positiva specificare Specie e Sierogruppo

Nome e recapito del medico compilatore:

Nome..... Cognome:.....

Ospedale:..... Reparto:.....

Indirizzo: Tel.: Fax:

Data di compilazione [][][][][][][][]

N.B. La presente scheda non sostituisce il mod. 15 di classe II per i casi accertati e va inviata dalla Direzione Sanitaria o dal SISP dell'Azienda USSL di competenza a:

-I.S.S. -Lab BMM -tel 06/49902856 - fax 06/49387112

- Lab. EB - tel 06/49902273 - fax 06/49387292

Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma

- Regione di competenza, mensilmente da parte del SISP e dalla Regione al:

- Ministero della Sanità, Ufficio III - MIPI - OEN - tel 06/59944211 - fax 06/59944242

Via della Sierra Nevada, 60 - 00144 Roma

- I.S.S. quale completamento delle informazioni già trasmesse.

Metodi	Quando?	Commenti
Ricerca della <i>Legionella</i> nell'impianto idrico	Nelle strutture recettive: in presenza di 1 o più casi In ospedale: monitoraggio periodico nei reparti ad alto rischio	Rischio elevato di infezioni nosocomiali nel caso in cui la concentrazione di legionelle sia $\geq 10^3$ UFC/L
Trattamento termico: Aumento della T° dell'acqua calda a 70-80°C continuativamente per tre giorni consecutivi con scorrimento per 30 minuti al giorno (shock termico) Oppure Mantenimento di una temperatura tra i 55-60°C nella rete dell'acqua calda	In caso di infezioni da <i>Legionella</i> sp. e in presenza di massiva contaminazione dell'impianto Quando si mette in funzione il sistema idrico	Indispensabili controlli microbiologici, da ripetere periodicamente Controlli periodici della temperatura in punti periferici rappresentativi dell'impianto. Controlli microbiologici in presenza di uno o più casi
Clorazione: Iperclorazione shock: Immettere cloro nell'acqua fino ad ottenere concentrazioni di cl residuo di 20-50 mg/L. Periodo di contatto: 2 ore con 20mg/L oppure 1 ora con 50mg/L. Oppure Iperclorazione continua: aggiungere cloro in modo che la concentrazione residua sia compresa tra 1-3 mg/L.	In caso di infezioni da <i>Legionella</i> sp. e in presenza di massiva contaminazione dell'impianto	Disinfezione sistemica, con una concentrazione disinfettante residua. Azione corrosiva del cloro sulle tubature Minimizza la colonizzazione di legionella nei punti distali
Raggi ultravioletti	Misura di riserva applicabile in circostanze particolari	Metodo relativamente costoso. I raggi UV hanno solo un effetto locale e sono possibili contaminazioni distali
Ionizzazione rame/argento	In presenza di contaminazione da <i>Legionella</i> sp nell'impianto idrico o come misura preventiva in alternativa alla disinfezione termica	Facile applicazione e non influenzato dalla T° dell'acqua Verificare che la concentrazione degli ioni Cu e Ag non superi la CMA prevista dalla legislazione vigente
Perossido d'idrogeno e argento stabilizzati	In presenza di contaminazione da <i>Legionella</i> sp nell'impianto idrico o come misura preventiva in alternativa alla disinfezione termica o con cloro.	Tecnica recente che necessita di ulteriori conferme sperimentali
Biossido di cloro	In presenza di contaminazione da <i>Legionella</i> sp nell'impianto idrico o come misura preventiva in alternativa alla disinfezione termica o all'iperclorazione.	Indicato per contrastare la crescita di biofilm Tecnica recente che necessita di ulteriori conferme sperimentali

Raccomandazioni contenute nelle linee guida del Ministero della Sanità e relative ai metodi di prevenzione e controllo della contaminazione delle reti idriche (quadro di sintesi cap.8).

Concentrazione di Legionella [UFC/l]	Casi Accertati di Legionella nosocomiale	Stato di contaminazione	Misure da applicare
≤100	0	Presenza limitata	Nessuna azione
1 000 – 10 000	0	Contaminaz. Presente	- Aumentare sorveglianza clinica - Adottare misure specifiche di prevenzione e controllo indicate nelle L.G. - Evitare docce o abluzioni che possono provocare la formazione di aerosol - Ripetere periodicamente i controlli batteriologici
0 – 10 000	≥1	Contaminaz. Presente	Oltre a quanto esposto sopra - Effettuare la bonifica ambientale - Adottare misure specifiche di prevenz. e controllo
>10 000	0	Contaminaz. Massiva	- Attuare immediatamente procedure di decontaminazione: shock termico o iperclorazione

Indicazioni, valide per ospedali e case di cura, relative a soglie di accettabilità basate su campionamenti ed analisi delle acque (par. 9.1 Linee Guida Min. San.)

Parametro	Dipslide	Terreni agarizzati su piastre di Petri	Esame microscopico
Conta della flora planctonica (nell'acqua)	< 10 000 UFC/ml	< 10 000 UFC/ml	Assenza di amebe/protozoi (forme di vita superiore)
Conta microflora sessile (sulle superfici)	< 100 000 UFC/cm ²	< 100 000 UFC/cm ²	Assenza di amebe/protozoi (forme di vita superiore)
Depositi	(non pertinente)	(non pertinente)	Assenza di amebe/protozoi (forme di vita superiore)

*Controlli routinari della contaminazione microbiologica del sistema idrico:
valori di target suggeriti da CTI⁷*

⁷ CTI Cooling Technology Institute, 2000, *Legionellosis – Guideline: Best Practices
for Control of Legionella*, CTI Guidelines, CTI, Houston, USA.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** [http://www.legionellaonline.it/Ricerca%20Italiana Speciali%20divulgativi.htm](http://www.legionellaonline.it/Ricerca%20Italiana%20Speciali%20divulgativi.htm) - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 20 settembre 2008.
- ² **Lawrence K. Altman** - quotidiano New York Times - articolo del 1 agosto 2006.
- ³ **Maria Cristina Rota, Maria Grazia Caporali, Grazia Marta Caleo, Giuseppina Mandarino, Maria Scaturro e Maria Luisa Ricci** - Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità Volume 21 - Numero 1 - Gennaio 2008 - ISSN 0394-9303 – pagg. da 5 a 10.
- ⁴ **Gloria Bandettini** "Legionella: ecologia microbica e contaminazione ambientale" Convegno a Venezia del 29/01/2008 su aggiornamenti su prevenzione e controllo della legionellosi nelle strutture sanitarie e alberghiere del Veneto.
- ⁵ **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** http://www.ricercaitaliana.it/grandi_temi/dettaglio_sezione-189.htm - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 20 settembre 2008.
- ⁶ **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** http://www.ricercaitaliana.it/grandi_temi/dettaglio_sezione-191.htm - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 22 settembre 2008.
- ⁷ **Marco e Mario Doninelli dello studio S.T.C.** - Rivista Idraulica - n. 23 Novembre 2002.
- ⁸ **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** http://www.ricercaitaliana.it/grandi_temi/dettaglio_sezione-192.htm - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 22 settembre 2008.
- ⁹ **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** http://www.ricercaitaliana.it/grandi_temi/dettaglio_sezione-193.htm - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 22 settembre 2008.
- ¹⁰ **Marco e Mario Doninelli dello studio S.T.C.** - Rivista Idraulica - n. 23 Novembre 2002.
- ¹¹ **Cesare Maria Joppolo - Luca Molinaroli** - Politecnico di Milano "Legionella, impianti idrici e di condizionamento" – Congresso "Il rischio della legionellosi Misure di controllo e prevenzione" Milano 26/10/2007.
- ¹² **Cesare Maria Joppolo – Maria Antonia Sanvito** – "Libro bianco sulla Legionella" Edizioni AICARR (Associazione Italiana Condizionamento Aria Riscaldamento Refrigerazione) anno 2001 – pag. 2.
- ¹³ **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** http://www.ricercaitaliana.it/grandi_temi/dettaglio_sezione-194.htm - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 30 settembre 2008.
- ¹⁴ **Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi** - 4 aprile 2000 - Paragrafo 4.0.
- ¹⁵ **Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi** - 4 aprile 2000 - Paragrafo 3.0.
- ¹⁶ **Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi** - 4 aprile 2000 – Allegato 2.
- ¹⁷ **Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi** - 4 aprile 2000 – Paragrafo 5.0.
- ¹⁸ **Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi** - 4 aprile 2000 – Paragrafo 9.1.
- ¹⁹ **Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi** - 4 aprile 2000 – Paragrafo 6.0.
- ²⁰ **Legionella e legionellosi** - Ufficio federale della sanità pubblica – Svizzera – Maggio 2006.
- ²¹ **Maria Cristina Rota, Giuseppe Pontrelli, Antonino Bella, Anna Rita Bellomo, Maria Scaturro, Massimo Oddone Trinito, Sofia Graziani, Maria Losardo, Stefania Salmaso e Maria Luisa Ricci** Rapporti ISTISAN 04/16 2004, pag. 24.
- ²² **Stefania Boccia, Paola Borella, Erica Leoni, Patrizia Messi, Maria Teresa Montagna, Sabrina Pignato, Vincenzo Romano Spica, Maria Triassi, Carla Maria Zotti** http://www.ricercaitaliana.it/grandi_temi/dettaglio_sezione-199.htm - Portale Nazionale della Ricerca Italiana (MiUR) - Consultato il 3 ottobre 2008.
- ²³ **Cesare Maria Joppolo - Luca Molinaroli** - Politecnico di Milano - "Legionella, impianti idrici e di condizionamento" – Congresso "Il rischio della legionellosi Misure di controllo e prevenzione" Milano 26/10/2007.
- ²⁴ **Carmelo Brigadeci – Umberto Di Spigno** del Servizio Igiene e Sanità Pubblica U.L.S.S. n. 4, curatori della pagina pubblicata il 22 agosto 2005 su <http://www.ulss4.veneto.it/portal/news/155> - Portale U.L.S.S. n. 4 "Alto Vicentino" - Consultato il 5 ottobre 2008.