# Legionellosi

- La sig.ra Francesca dal mese di giugno 2020 aveva residenza e pernottava regolarmente presso la sua abitazione sita a Sferracavallo
- Il 23 agosto viaggiava in aereo da Palermo a Verona dove noleggiava un'auto con cui si è recata all'Hotel XXXX di Brescia (camera n. XXX) in cui pernottava la notte del 23 e 24 agosto.
- Il 25 agosto sempre con l'auto noleggiata si recava all'Hotel YYYYdi RIVA DEL GARDA (TN) (camera n. YYY) in cui pernottava le notti del 25, 26 e 27 agosto.
- Il 28 agosto sempre con l'auto noleggiata si recava all'aeroporto di Verona per prendere un aereo con cui nella stessa giornata tornava a Palermo e si recava presso la propria abitazione sita a Sferracavallo.
- Il 30 agosto cominciava a presentare febbre 37,5 c° e successivamente febbre elevata fino a 39 c° con astenia e cefalea

- Il 2 settembre viene effettuata a domicilio privatamente un RX Torace che evidenzia la presenza di focolaio pneumonico lobare a sinistra. Il 2 settembre stesso veniva portata dal 118 al Pronto Soccorso Ospedale e il 3 settembre trasferita in OBI e il 4 settembre in Terapia Intensiva dove in data 11-9-2023 andava in contro ad exitus per shock settico, insufficienza respiratoria acuta e insufficienza renale. Durante il ricovero veniva accertata tramite biologia molecolare e correttamente curata una grave forma di malattia del legionario (legionellosi).
- La paziente viene ammessa in codice rosso il 2 settembre alle 17.06 al PS con la diagnosi di "febbre da 3 giorni e dispnea -in visione RX torace polmonite Dispnea. In maniera tempestiva veniva prestata assistenza, eseguiti esami ematochimici, emocoltura, urinocoltura, esami sierologici, esami radiologici (TAC encefalo, e torace che documenta la presenza di disomogenei addensamenti parenchimali al lobo superiore sinistro e al lobo inferiore sinistro di verosimile significato flogistico e multiple linfopatie mediastiniche). Veniva praticata terapia con beta bloccanti, cortisonici e antibiotica ad ampio spettro con piperacillina-tazobactam a cui il giorno dopo è stata associata la ciprofloxacina.

- Dal PS è stata quindi trasferita in OBI e per l'aggravarsi delle condizioni generali (shock settico) veniva intubata e trasferita in terapia intensiva dove continuava eseguire in maniera corretta esami strumentali, ematochimici e microbiologici fra cui il test molecolare per la Legionella pneumofila che risultava positivo. Negativa risultava invece la ricerca di altri microorganismi patogeni nel sangue o in campioni di lavaggio broncoalveolare. Durante tutto il periodo di degenza ha praticato terapia antibiotica ad ampio spettro con piperacillina-tazobactam + ciprofloxacina + linezolid. Nonostante le cure intensive correttamente e tempestivamente praticate la notte fra il 10 e l'11 settembre la paziente andava in contro ad arresto cardiaco ed exitus.
- La diagnosi di legionellosi veniva opportunatamente notificata il 9 settembre e le autorità sanitarie provvedevano ai dovuti accertamenti nelle sedi in cui aveva soggiornato la signora nei giorni antecedenti l'inizio della sintomatologia respiratoria. Tali accertamenti hanno documentato la presenza di *Legionella pneumofila* dal soffione della doccia del bagno sia della camera 301 dell'Hotel XXXX di Riva del Garda che nella camera 218 dell'Hotel XXXX di Brescia (vedi allegati). Gli stessi accertamenti eseguiti nei bagni e nell'impianto idrico della abitazione sita Sferracavallo hanno dato esito negativo.

#### MINISTERO DELLA SALUTE

Direzione Generale della Prevenzione Uff. V Malattie Infettive e Prof. Internazionale via Giorgio Ribotta, 5 - 00144 Roma inviare a: dgprev@postacert.sanita.it

### ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA' Registro Nazionale delle Legionellosi Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma

inviare a:

Dip. MIPI: mipi@pec.iss.it CNESPS: sorveglianza.epidemiologica@pec.iss.it

SCHEDA DI SORVEGLIANZA DELLA LEGIONELLOSI				
N. Scheda Data Ospedale Notificante				
Cognome Nome del paziente				
Data di nascita Sesso M□ F□ Indirizzo di residenza				
Data Insorgenza sintomi Data Ricovero Ospedaliero  Data Dimissione Decesso Non noto				
Diagnosi clinica segni di polmonite focale rilevabili all'esame clinico esame radiologico suggestivo di interessamento polmonare  SI □ NO □				
Diagnosi di laboratorio         Isolamento del germe       SI□       NO□         Se si, specificare da quale materiale biologico				
specie e siero gruppo identificati				
Sierologia SI NO  1º siero: n. gg da inizio sintomititolospecie e sg  2º siero: n. gg da inizio sintomititolospecie e sg				
Rilevazione antigene urinario Pos 🗆 Neg 🗀 Non eseguita 🗀 Data				
Immunofluorescenza diretta Pos 🗆 Neg 🗀 Non eseguita 🗀 Data				
Biologia molecolare (PCR) Pos □ Neg □ Non eseguita □ Data □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □				
Fattori di rischio Abitudine al fumo SI NO da quanto tempo quantità Abitudine al l'alcool SI NO quantità Malattie concomitanti SI NO Specificare Trapianto d'organo SI NO Specificare In terapia con corticosteroidi o immunosoppressori: SI NO				
Attività lavorativa Mansione				
Nome dell'aziendaIndirizzo				
con esposizione professionale ad acqua aerosolizzata  sl  NO NON NOTO  con utilizzo della doccia sl NO NON NOTO  in luoghi con presenza di torri di raffreddamento sl NO NON NOTO  NON NOTO				
Specificare il reparto e l'ultimo giorno di lavoro				

Cure odontoiatriche nei 10 giorni precedent	i l'esordio 🛮 SI 🗀	NO 🗆	
specificare ambulatorio/struttura e data			
Ricovero Ospedaliero nei 10 giorni precede	nti l'esordio SI 🗆	NO 🗆	
Ospedale	Reparto		
Periodo da <u>a</u> a			
Ricovero presso strutture sanitarie/socio-sa	nitarie SI 🗆	NO 🗆	
Tipo di struttura	Nome_		
Comune_		a	
Soggiorno nei 10 giorni precedenti all'esoro in luoghi diversi dalla propria abitazione Specificare tipo di struttura recettiva: (es. alberga	SI 🗆	NO □ , nave, parchi acquatic	i,
fiere espositive, ecc)			
Nome e indirizzo			n. stanza
Eventuale nome operatore turistico			
In gruppo □ Individuale □	periodo: da	a	
Attività di giardinaggio, uso di autolavaggi	o, esposizione a ne	ebulizzatori d'acqua,	ecc.
	SI 🗆	NO 🗆	
specificare sito Trattamenti e cure inalatorie (anche presso stabi	limenti termali), aero	e data: osol, ossigenoterapia NO□ NON NOTO	
Nome e indirizzo	31 🗆	NO LI NON NOTO	
Uso di docce, vasche per idromassaggio presso i	impianti sportivi/stab	ilimenti balneari o frec	wentazione di centri
benessere e piscine, nei 10 giorni precedenti l'e			poemuzione di cenin
Specificare tipo di struttura			
Indagine Ambientale a cura del Dipartimento di	Prevenzione SI	NO 🗆	
Se SI, specificare il luogo e il materiale analizzat	o		
Se SI□ Positiva □ Negativa □			
Se Positiva specificare Specie e Sierogruppo			
Note			
	ecapito del medico	compilatore	
Nome Cognome		ъ .	
Ospedale		_Reparto	
Indirizzo		_ Tel	Fax
Data Compilazione			



Roma, 11 settembre 2023

Azienda provinciale Servizi Sanitari Trento igienepubblica@pec.apss.tn.it

E' pervenuta al Dipartimento di Malattie Infettive la segnalazione un caso di malattia dei Legionari riguardante una turista italiana A.M.C. nata il 22/03/1946, che ha soggiornato presso l'Hotel Centrale, in Piazza III Novembre, 27 di Riva del Garda, dal 25/08/2023 al 27/08/2023.

La sintomatologia ha avuto inizio il 02/09/2023 e la diagnosi è stata confermata mediante pcr la paziente è deceduta Si sottolinea che per ragioni di privacy non sono disponibili ulteriori informazioni relative al caso.

È ampiamente dimostrato nella letteratura nazionale e internazionale che gli impianti idrici di edifici quali alberghi, campeggi, ospedali, ecc., possono essere contaminati, anche pesantemente, da batteri del genere Legionella. L'acquisizione dell'infezione avviene attraverso inalazione o microaspirazione di aerosol prodotto ad esempio da una doccia, una vasca idromassaggio, una torre di raffreddamento, ecc. La malattia viene spesso identificata al ritorno nel luogo d'origine, dal momento che il tempo di incubazione può arrivare a 10 giorni.

In seguito alla segnalazione di un caso di malattia si richiede alla ASL di effettuare un'indagine epidemiologica ed ambientale e di raccomandare al gestore della struttura recettiva l'attivazione di un programma di prevenzione e controllo della contaminazione ambientale, sottolineando anche le responsabilità legali associate all'omissione delle misure di prevenzione e controllo della legionellosi.

Per informazioni dettagliate sulle procedure operative consultare le nuove "Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi" disponibili all'indirizzo: http://www.salute.gov.it/imgs/C 17 pubblicazioni 2362 allegato.pdf.

La Dott.ssa Maria Luisa Ricci (tel.06/4990-2856), la Dott.ssa Maria Cristina Rota (tel. 06/4990-4269, e la Dott.ssa Maria Grazia Caporali (tel. 064990-4275) PEC: <a href="mailto:sorveglianza.epidemiologica@pec.iss.it">sorveglianza.epidemiologica@pec.iss.it</a> del Dipartimento Malattie Infettive sono disponibili per eventuali quesiti.

Si prega inoltre di segnalare, con l'apposita scheda di sorveglianza (Allegato 7 delle succitate Linee guida), eventuali altri casi di legionellosi identificati e di inviare una relazione tecnica alla fine dell'intervento.

Cordiali saluti Dott.ssa Maria Cristina Rota

per boll lighter one.

#### LEGIONELLA PNEUMOPHILA IN CAMPIONI AMBIENTALI

data inizio prova 15/09/2023

data termine prova 25/09/2023

MATERIALE IN ESAME ACQUA CALDA BAGNO STANZA 218 2 PIANO SOFFIONE

(dichiarato dal Committente) SALI-SCENDI DOCCIA

CONTA L. PNEUMOPHILA

ISO 11731:2017 (filtrazione con proc.di lavaggio e semina in BCYE e GVPC) Conta L. pneumophila (UFC/I) 5.2x10<sup>3</sup>

RICERCA ANTIGENE DI SUPERFICIE

ISO 11731:2017

SIEROTIPO 1 Negativo SIEROTIPO 2-14 Positivo

**ESAME COLTURALE** Rilevata la presenza (limite di rilevazione 100 UFC/L)

ISO 11731:2017 (qualitativo-semina in BCYE e GVPC)





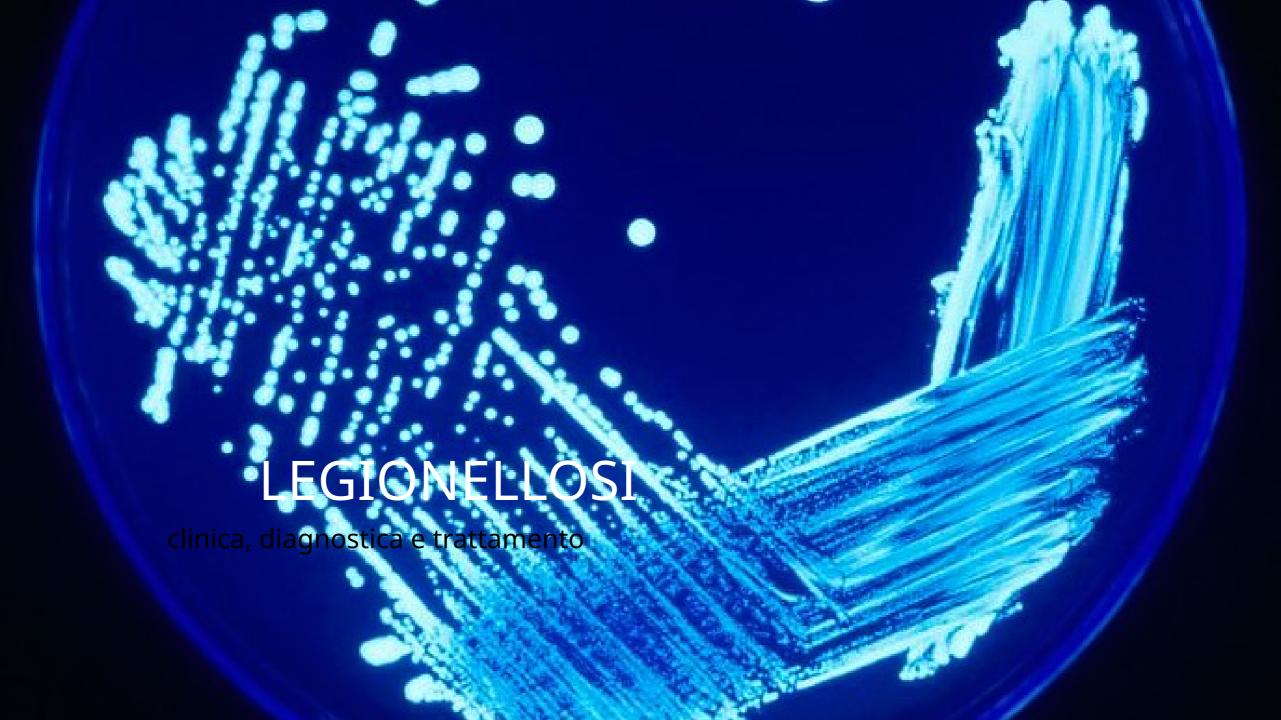


Sede legale: via Degasperi, 79 - 38123 Trento - P. IVA e C.F. 01429410226 internet: www.apss.tn.it posta certificata: apss@pec.apss.tn.it

Pagina 1 di 2

Punto di prelievo	Volume acqua prelevato (litri)	Temperatura acqua di prelievo (°C)	Ricerca in RT-PCR	Legionella spp. (u.f.c./L)	Identificazione Legionella
Soffione doccia bagno n. 1 appartamento privato 5 piano, non utilizzato. (AC - prelievo istantaneo)	1	28.9	Rilevata	3.100	Legionella pneumophila sgr. 6
Soffione doccia stanza n. 302 III piano. Probabile soggiorno caso. (AC - prelievo istantaneo)	1	39.9	Non rilevata	//	//
Rubinetto lavandino stanza n. 302 III piano. Probabile soggiorno caso. (AC - prelievo flussato)	1	48.2	Non rilevata	//	//
Soffione doccia stanza n. 301 III piano. Probabile soggiorno caso. (AC - prelievo istantaneo)	1	33.3	Rilevata	300	Legionella pneumophila sgr. 6
Rubinetto lavandino stanza n. 301 III piano. Probabile soggiorno caso. (AF - prelievo flussato)	1	17.1	Non rilevata	//	//
Soffione doccia stanza n. 205 II piano. (AC - prelievo istantaneo)	1	34.1	Non rilevata	//	//
Soffione doccia stanza n. 111 I piano zona vecchia. (AC - prelievo istantaneo)	1	34.2	Non rilevata	//	//
Rubinetto lavandino bagni comuni femminili Piano terra. (AC - prelievo istantaneo)	1	33.2	Non rilevata	//	//

(AC) acqua calda (AF) acqua fredda



### Introduzio

- Legionella è un genere di batteri **gram-negativi aerobi**, bacilli flagellati patogeni intracellulari facoltativi in grado di causare vari quadri morbosi.
- Forma polmonare con il quadro di polmonite acquisita in comunità (CAP) o in ospedale (HAP) (Malattia del Legionario); una forma febbrile con localizzazione extrapolmonare; forma subclinica (Febbre di Pontiac)
- L'identificazione precoce delle comuni fonti ambientali di infezione, come le riserve idriche contaminate, è fondamentale per la prevenzione.



### Storia

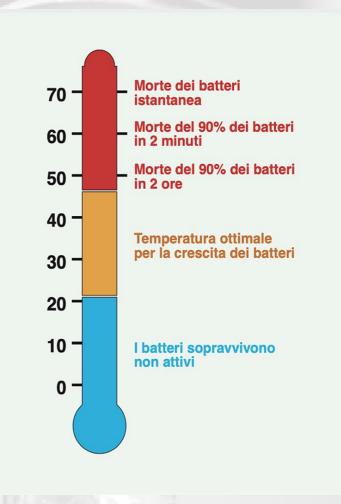


Il genere Legionella così denominato nel **1976**, dopo che un'epidemia si era diffusa tra i partecipanti al raduno della **Legione Americana** al Bellevue Stratford Hotel di Philadelphia. La fonte di contaminazione batterica fu identificata nel sistema di **aria condizionata** dell'albergo.

I primi casi identificati di febbre di Pontiac si sono verificati nel 1968 a Pontiac, nel Michigan, tra persone che lavoravano e visitavano il dipartimento sanitario della città.

### Caratteristiche del batterio

- >60 specie e >70 sierogruppi;
- Legionella pneumophila è la specie più frequentemente rilevata nei casi diagnosticati e comprende >15 sierogruppi di cui il sierogruppo 1, il più frequente, è causa del 95% delle infezioni in Europa e dell'85% nel mondo.
- Almeno altre 26 specie *di Legionella* sono patogene per l'uomo. *L. longbeachae* è la seconda causa più comune di malattia umana. Altri agenti patogeni *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. feeleii*, *L. anisa* e *L. dumoffii*.
- Via di trasmissione: inalazione, aspirazione e microaspirazione di aerosol contenente legionella; no trasmissione interumana.
- I casi di CAP da legionella si manifestano principalmente nel periodo **estivo-autunnale** mentre le HAP non presentano una particolare stagionalità.
- L'intervallo di proliferazione del batterio va dai 15 °C a 50 °C

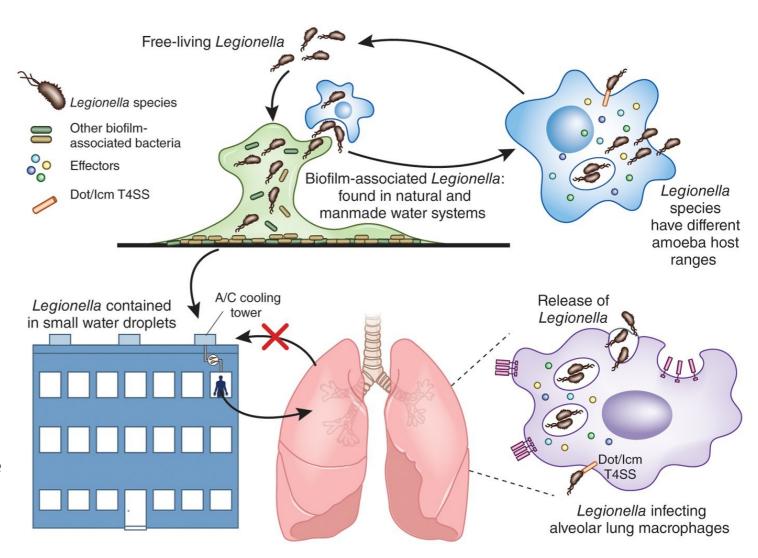


### Caratteristich e del batterio

Legionella mostra capacità di *parassitismo* verso protozoi (amebe e ciliati), alghe verdi e biofilm batterici che gli forniscono nutrimento o protezione e ne aumentano la virulenza.

L. pneumophila è un patogeno opportunistico intracellulare, che sfrutta le amebe e altri protozoi come ospiti ambientali, ma che è anche in grado di infettare i macrofagi umani

**Biofilm:** è una aggregazione complessa di microrganismi contraddistinta dalla secrezione di una matrice adesiva e protettiva, caratterizzata spesso anche da adesione ad una superficie, sia di tipo biologico che inerte, eterogeneità strutturale, interazioni biologiche complesse ed una matrice extracellulare di sostanze polimeriche, spesso di carattere polisaccaridico.



### Patogenesi

- *L. pneumophila* tipicamente raggiunge il polmone per **inalazione** e, meno comunemente, per microaspirazione. All'interno degli alveoli, i batteri si attaccano ai **macrofagi alveolari** e alle cellule epiteliali utilizzando flagelli, pili e porine della membrana esterna. La fagocitosi è mediata da C3 e dalla proteina potenziatrice dell'infettività dei macrofagi, un fattore di virulenza espresso sulla superficie cellulare di *L. pneumophila*.
- Dopo la fagocitosi, *L. pneumophila* utilizza un sistema di secrezione **Dot/Icm di tipo IV** per traslocare centinaia di proteine effettrici nel vacuolo fagocitico. Queste proteine effettrici inibiscono la fusione fagosoma-lisosoma, consentendo così a *L. pneumophila* di sopravvivere all'interno della cellula ospite. Le proteine effettrici reclutano anche vescicole dal reticolo endoplasmatico della cellula ospite, che trasformano il vacuolo fagocitico in un organello competente per la replicazione batterica intracellulare.
- Quando *L. pneumophila* si replica, il vacuolo si espande per riempire la cellula. Dopo l'esaurimento dei nutrienti della cellula ospite, i batteri entrano in una fase di **crescita stazionaria** e sviluppano flagelli. I flagelli attivano la caspasi-1, che induce l'apoptosi, e la progenie batterica esce dalla cellula, avviando un nuovo ciclo di amplificazione.
- Sebbene siano stati descritti molti altri fattori di virulenza e meccanismi di evasione immunitaria per *L. pneumophila*, il loro ruolo nella patogenesi non è chiaramente stabilito.
- L'immunità cellulo-mediata Th1 è il mezzo principale di controllo immunitario delle infezioni *da Legionella*.

### Epidemiologia (ECDC)

- Secondo i dati forniti dal Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie (ECDC) nel 2020, in 27 Paesi dell'Unione europea (UE) e dello Spazio economico europeo (SEE), sono stati riportati 8372 casi di legionellosi
- Nel 2020: la maggior parte dei casi sporadici e acquisiti in comunità, di sesso maschile è di età pari o superiore a 65 anni.
- La maggior parte dei casi nel 2020 (**87%**) è stata diagnosticata con il test dell'antigene urinario e l'11% sono stati diagnosticati mediante coltura. Tra gli 885 casi confermati da coltura, il 5% sono stati causati da *Legionella non pneumophila* (L. anisa, L. bozemanii, L. longbeachae, L. micdadei e altre specie di Legionella).

### Casistica in Italia (1)

- Nel 2021 sono state inviate all'ISS 2.726 schede di sorveglianza relative ad altrettanti casi di legionellosi, di cui 2.662 classificati come casi confermati e 64 come casi probabili.
- L'incidenza della legionellosi in Italia nel 2021 è risultata pari a 46,0 casi per milione di abitanti, con un considerevole incremento rispetto all'anno precedente (34,3/1.000.000), che in concomitanza con la pandemia COVID-19, aveva fatto registrare l'incidenza più bassa dal 2017.

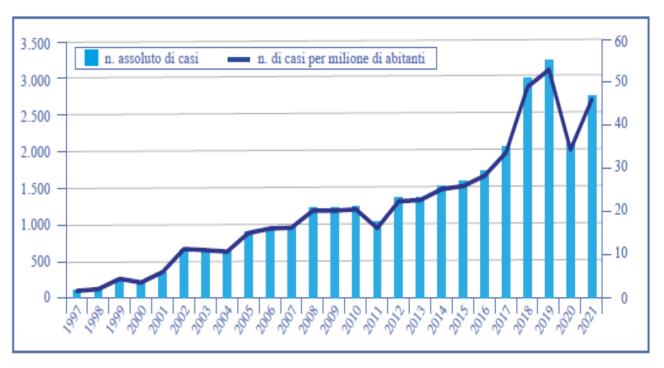


Figura 1 - Numero di casi e tasso di incidenza della legionellosi. Italia, 1997-2021

### Casistica in Italia

- 279,5% dei casi è stato notificato da 6 Regioni: Lombardia, Veneto, Emilia-Romagna, Toscana, Lazio e Piemonte e il restante 20,5% dalle rimanenti 15 Regioni.
- Si conferma il **gradiente Nord-Sud** con valori pari a 71,9 casi per milione al Nord, 43,9 per milione al Centro e 11,6 per milione al Sud.
- L'età media dei pazienti è di 67,2 anni (DS = 14,8), con un intervallo compreso tra 1 e 100 anni.
- Il 70% dei casi ha almeno 60 anni, il 69,5% è di **sesso maschile** e il rapporto maschi/femmine è di 2,3:1

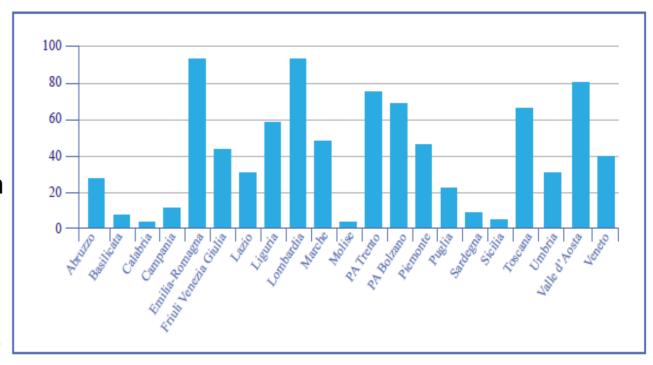
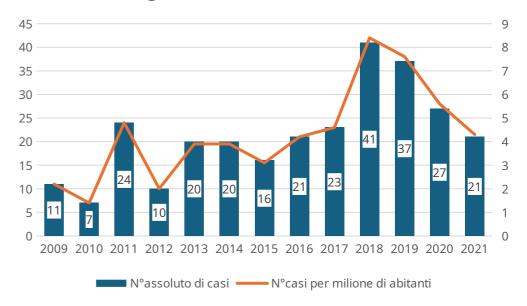


Figura 3 - Incidenza di legionellosi per Regione. Italia, 2021

- Nel novero delle polmoniti considerate, nell'arco di tempo compreso gli anni 2009 e 2021, sono stati riscontrati 270 casi di legionellosi.
- La maggiore incidenza si è registrata nel 2018 con 8,4 casi per milione di abitanti.
- Mediamente, il numero maggiore di casi si è registrato nei mesi tra Agosto e Dicembre.

### Numero di casi e tasso di incidenza della legionellosi. Sicilia, 2009-2021

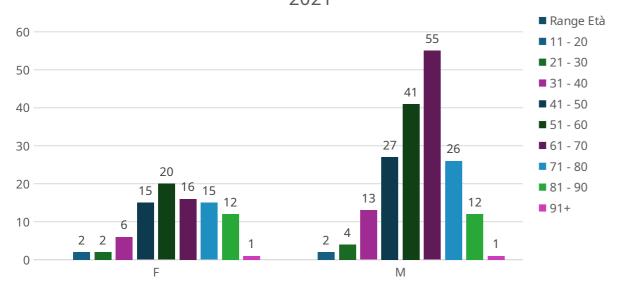


N°casi legionellosi nei mesi del range 2009-2021

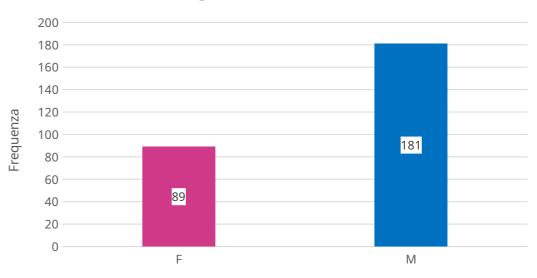


- Dal confronto dei casi di legionellosi è emerso che la popolazione era composta da 89 donne e 181 uomini.
- L'età media era per entrambi di 60 anni, con un range di età prevalente di 61-70 (uomini) e 51-60 (donne).

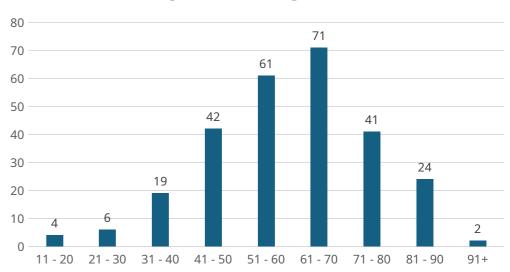
N°casi di legionellosi per range di età e sesso. 2009-2021



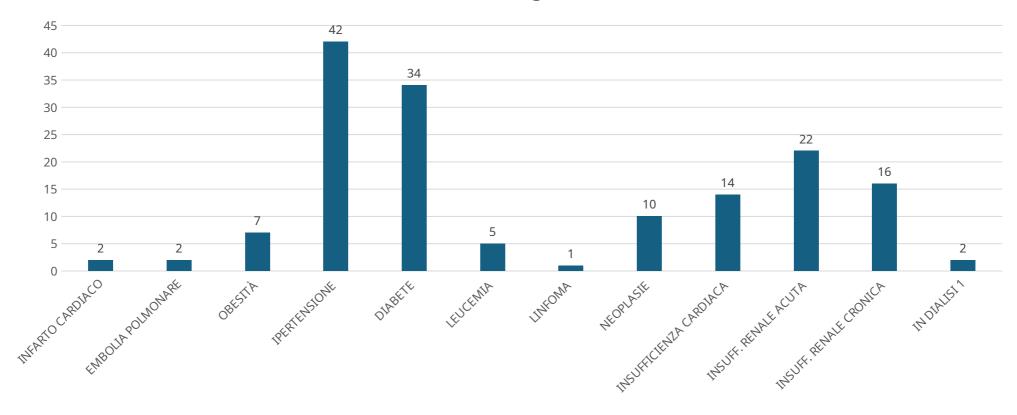
#### Confronto Legionellosi Femmine-Maschi



Legionellosi range di età



#### Comorbidità legionellosi

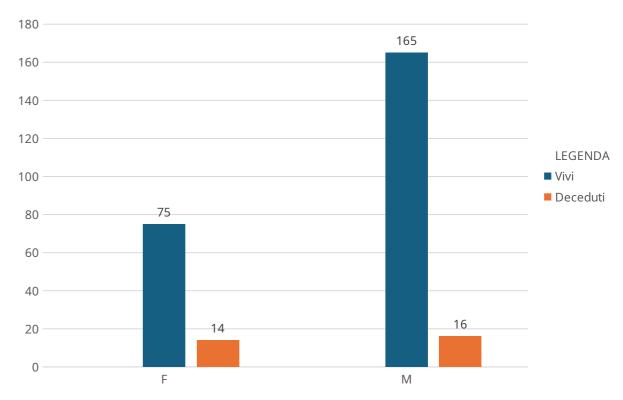


Tra le complicanze: 12,69 % Sepsi – 4,39 % Shock settico

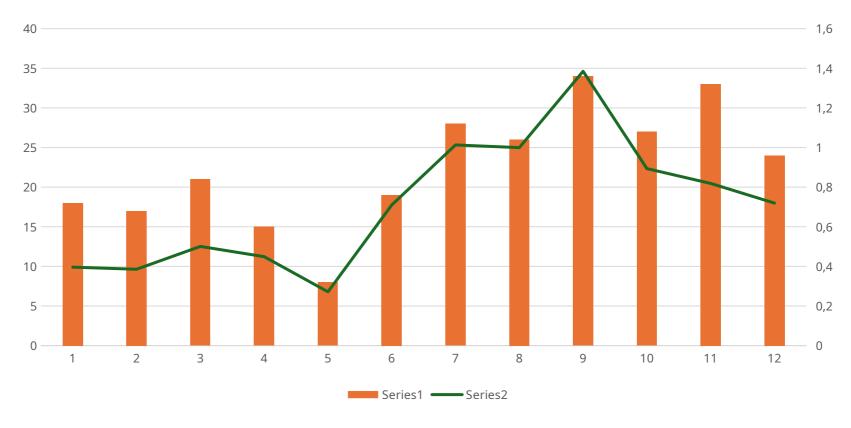
- Il numero totale dei decessi ammonta 30, dei quali 14 donne e 16 uomini.
- Tasso di letalità 11,1 %

 Tasso di mortalità maggiore registrato intorno ai 58 e 63 anni, con un novero complessivo di 6 decessi, e nel range di età >70 anni con un totale di 14 decessi.





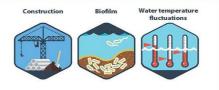




### Trasmission

#### How Legionella affects building water systems and people

Internal and external factors can lead to Legionella growth in building water systems.



Legionella grows best in large, complex water systems that are not adequately maintained.



Water containing Legionella is aerosolized through devices.



People can get sick when they breathe in small droplets of water or accidently swallow water containing Legionella into the lungs. Those at increased risk are adults 50 years or older, current or former smokers, and people with a weakened immune system or chronic disease.



www.cdc.gov/legionella

#### Persone ad alto rischio

- Persone di età pari o superiore a 50 anni
- Tabagismo
- Persone con una malattia polmonare cronica (come BPCO o enfisema)
- Immunodepressione o ridotta immunità cellulomediata (trapianto o chemioterapia)
- Cancro
- Malattie croniche come: diabete, insufficienza renale o insufficienza epatica

### Quadri clinici

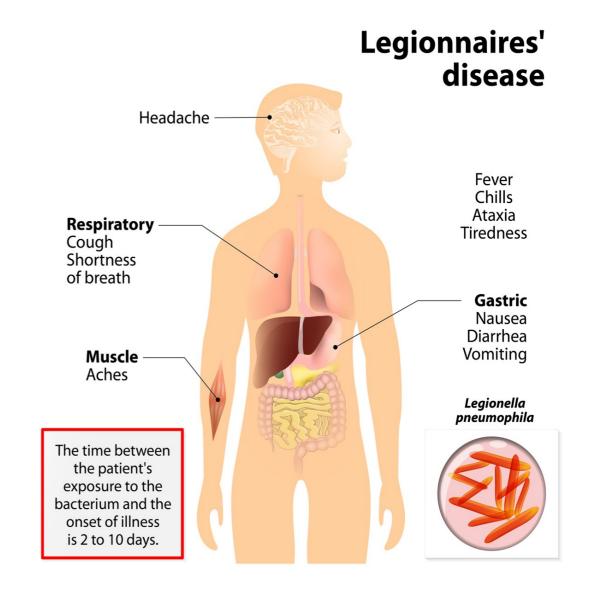
**Infezione asintomatica:** nella maggior parte dei casi

#### Febbre di Pontiac:

- Incubazione 24-28h
- **Simil-influenzale** senza coinvolgimento polmonare
- Risoluzione spontanea in 3-5 giorni

#### Malattia del Legionario:

- Incubazione da 2 a 10 giorni
- Quadro polmonare:
   Polmonite
- Manifestazioni extrapolmonari: neurologiche,



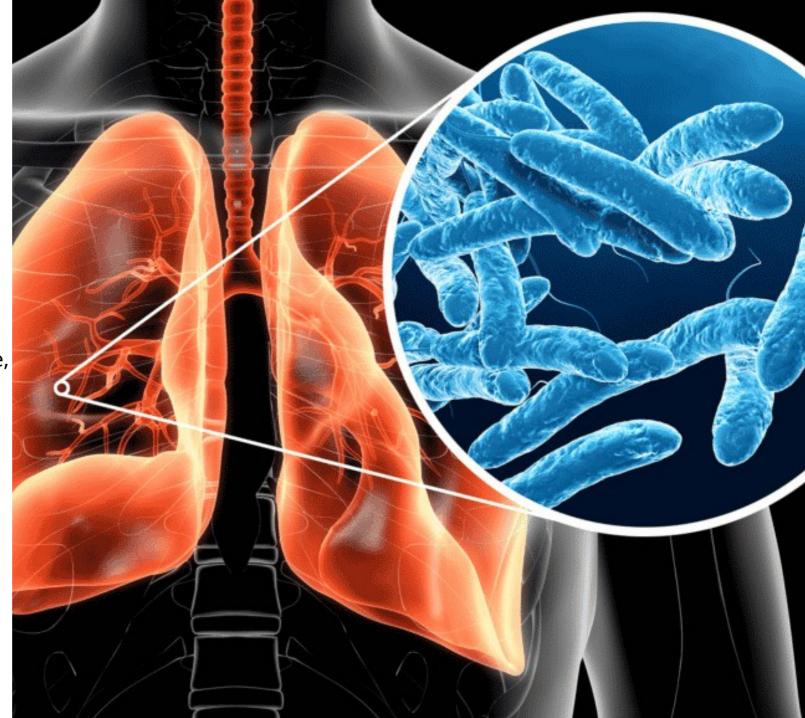
### Quadro polmonare

#### Segni e sintomi:

- Tosse secca
- Cefalea, mialgie
- Febbre elevata > 39°C
- Disturbi gastroenterici
- Confusione, stupor
- Tachipnea
- Rantoli crepitanti, ottusità alla percussione, aumento del FVT

#### Esami di laboratorio

- Leucocitosi neutrofila
- Iponatriemia, ipofosfatemia
- Aumento urea e creatinina
- Aumento bilirubina, AST e ALT
- Aumento PCR, ferritina
- Ipossia
- Proteinuria, ematuria



### Complicanze e manifestazioni extrapolmonari

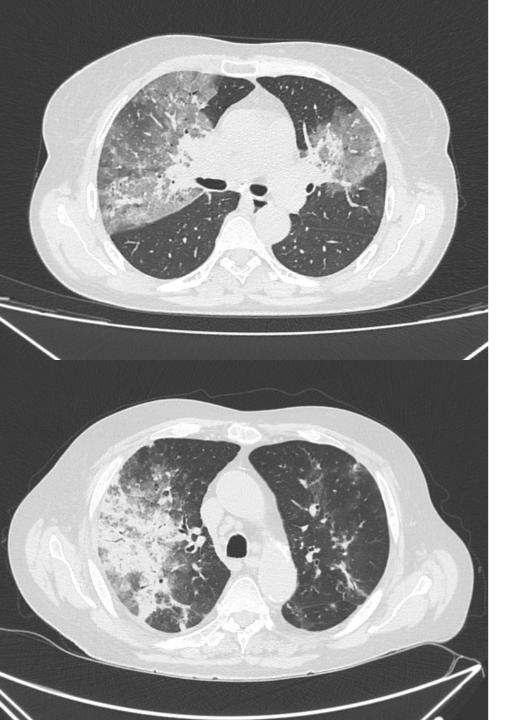
#### **Complicanze:**

- Ascesso polmonare
- Empiema
- Insufficienza respiratoria, CID, shock
- Porpora
- Insufficienza renale acuta

#### Manifestazioni extrapolmonari:

- Gastrointestinali: nausea, vomito, diarrea
- Cutanee: ascessi cutanei, cellulite
- Neurologiche
- Cardiache: endocardite, miopericardite
- Renali





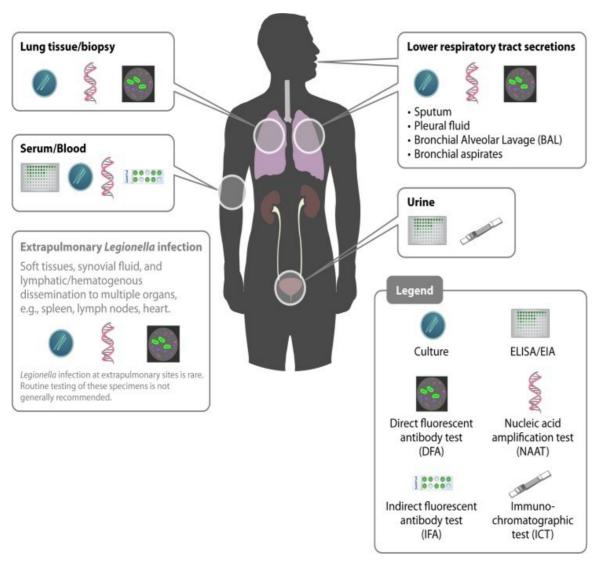
# Diagnosi radiologica

#### **RX torace/TC torace**

- Polmonite con infiltrato tipicamente alveolare, soprattutto a carico dei lobi inferiori di tipo segmentario o lobare, monolaterale o diffuso con tendenza all'addensamento.
- Possibile interessamento interstiziale.
- Versamento pleurico (25-65% dei casi).

Risoluzione radiologica in 1-4 mesi

### Diagnosi microbiologica



#### **Diretta**

Antigene urinario
Immunofluorescenza
Biologia molecolare
Indagine colturale

### **Indiretta**Indagine sierologica

### Campioni

Metodo	Sensibilità %	Specificità %	Commenti
Coltura			Gold Standard
Escreato	5 -70	100	
BAL o Aspirato trans tracheale	30 - 90	100	
Biopsia tessuto polmonare	90 - 99	100	
Sangue	10 - 30	100	
Sierologia			Può richiedere da 3 a 9 settimane. In
Sieroconversione	70 - 90	95 - 99	pazienti immunocompromessi la
Singolo siero	Non nota	50 - 70	risposta anticorpale può essere assente
Antigene urinario	75 – 99*	99 -100	Solo per Lp1. Poche informazioni disponibili per altri siero gruppi o specie. Molto rapido (15 min.,-3 h); generalmente molto precoce, può rimanere positivo per settimane o mesi.
Immunofluorescenza diretta DFA			Molto rapido (2-4 h); sensibilità limitata,
Escreato o BAL	25 - 75	95 - 99	richiede esperienza.
Biopsia di tessuto polmonare	80 - 90	99	Reagenti non validi per non Lp species
PCR			
Secrezioni del tratto respiratorio	85 - 92	94 - 99	Rapido, Metodo non ancora validato per
Urine, siero	33 - 70	98	la diagnosi; rileva tutte le specie di Legionella

### Antigene urinario Legionella BinaxNOW

- Test immunocromatografico valutato solo su urine (fresche o conservate a +2-8 °C per 14 giorni o -20 °C per periodi prolungati)
- Rileva un antigene solubile di natura lipopolisaccaridica di Legionella pneumophila sierogruppo 1 (Lp1)
- L'antigene è rilevabile dopo 3 giorni dalla comparsa dei sintomi e può persistere per un anno
- Sensibilità 95%
- Specificità 95%
- Accuratezza 95%





#### Panel Menu

#### Bacteria

#### Semi-Quantitative Bacteria

Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex

Serratia marcescens

Proteus spp.

Klebsiella pneumoniae group

Enterobacter aerogenes

Enterobacter cloacae

Escherichia coll

Haemophilus influenzae

Moraxella catarrhalis

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

Streptococcus pneumoniae

Klebsiella oxytoca

Streptococcus pyogenes

Streptococcus agalactiae

#### Atypical Bacteria

Qualitative Bacteria

Legionella pneumophila

Mycoplasma pneumoniae Chlamydia pneumoniae

#### Viruses

Influenza A Influenza B

Respiratory Syncytial Virus

Human Rhinovirus/Enterovirus Human Metapneumovirus

Parainfluenza virus

Adenovirus

Coronavirus

Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus

#### Antimicrobial Resistance Genes

mecA/C and MREJ

KPC NDM

Oxa48-like

CTX-M

VM

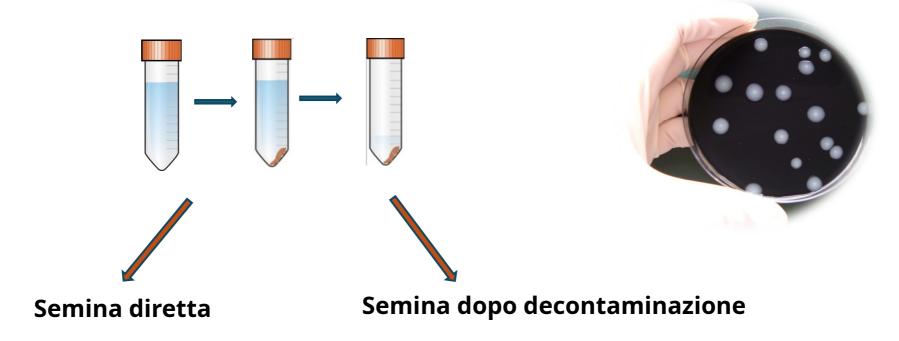
IMP





### Indagine colturale

- Lavaggio broncoalveolare (BAL) preferibilmente prelevato mediante acqua distillata sterile
- Per la coltura è necessario un terreno speciale, tipicamente agar con estratto di lievito di carbone tamponato (**BCYE**). BCYE è integrato con alfa-chetoglutarato ed è ricco di ferro e L-cisteina, entrambi essenziali per la crescita della legionella





#### **Durata**

**7-10** giorni per i soggetti immunocompetenti **14-21** giorni per i pazienti immunocompromessi

#### 1 linea

Levofloxacina 750 mg IV/po q24h or moxifloxacina 400 mg IV/po q24h Azitromicina 500 mg IV/po q24h

#### 2 linea

Doxicilina 100 mg IV/po bid

### Caso clinico

#### V.M.

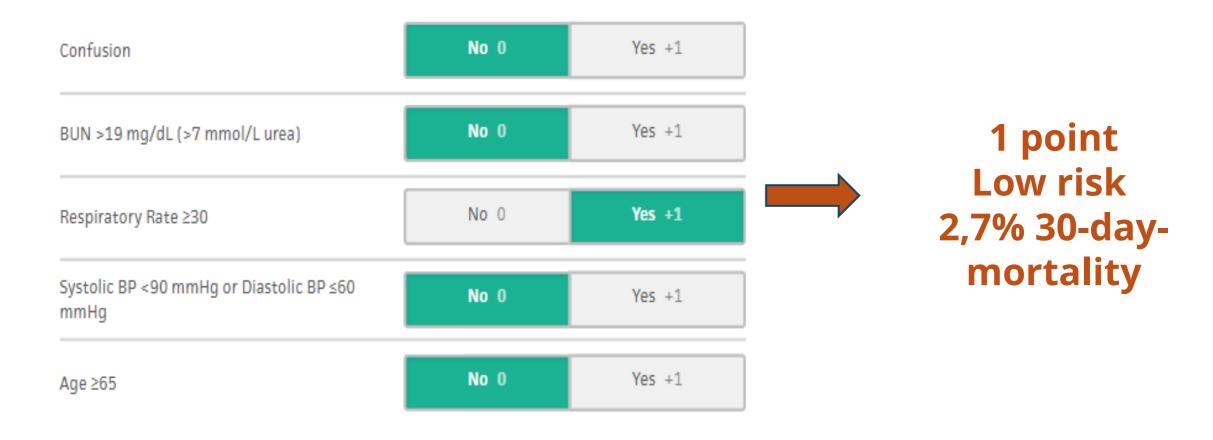
Donna, **60 anni**Fumatrice (2 pack/die)
Assistente per anziani
Vaccinata 2 dosi per
Sars CoV-2, non
vaccinata per influenza

### Comorbidità

MRGE Poliposi intestinale Patologia emorroidaria

CCI 2 CURB-65 1 PSI 105 points, classe IV

### CURB-65 score for Pneumonia severity



Classe I mortalità 0.1%

0 - 70 Punti: Classe II mortalità 0.6%

71 - 90 Punti: Classe III mortalità 0.9%

91 - 130 Punti: Classe IV mortalità 9.3%

131 - 395 Punti: Classe V mortalità 27.0%



Classe I mortalità 0.1%  0 - 70 Punti: Classe II mortalità 0.6%	Valore del parametro /	Punti PSI (i punti da
0 - 70 Punti: Classe II mortalità 0.6% 71 - 90 Punti: Classe III mortalità 0.9%	<u>flag</u>	indicare sono
91 - 130 Punti: Classe IV mortalità 9.3%	<del></del>	quelli indicati fra
131 - 395 Punti: Classe V mortalità 27.0%		parentesi)
Età Maschio (età)	60	
Età Donna (età-10)		-10
Residente in casa di cura (+10)		
Malattie neoplastiche (+10)		
Malattie di fegato (+10)		
Scompenso cardiaco (+10)		
Malattia cerebrovascolare (+10)		
Malattie renali (+10)		
Stato mentale alterato (+20)		
Frequenza respiratoria ≥30 (+20)		+20
Press sistolica ≤90 (+20)		
<b>Temperatura</b> ≤35 o ≥40 (+20)		+20
Frequenza cardiaca ≥ 125/min (+20)		
ph arterioso ≤7.35 (+30)		
Azotemia ≥50 mg/dl (+20)		
Sodiemia <130 mmol/L (+20)		+20
Glicemia >250 (+10)		
Ematocrito \le 30\% (+10)		
P parziale di O2 arterioso ≤60mmhg (+10)		
Versamento pleurico (+10)		
TOTALE PSI		105

# All'ingresso (17/11/2022)

PAO 125/76 FC 108 bmp SpO2 92% AA FR 32 atti/min Tc 39 °C

- Tampone Sars CoV-2: NEG
- ECG
- EGA
- TC torace
- Esami bioumorali



Febbre: 39 °C



Dispnea



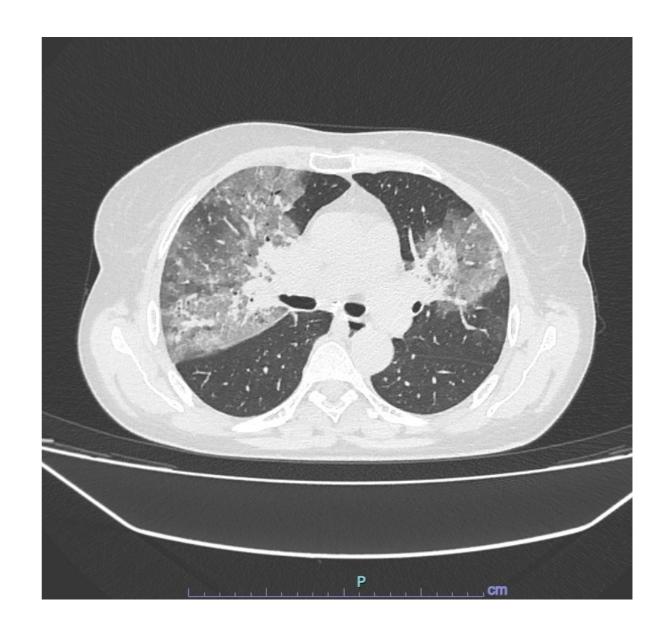
Tosse secca



Dolore addominale

## TC del torace

«Si evidenzia ai segmenti apicale e anteriore del lobo superiore di destra e al segmento apico-posteriore ed anteriore del lobo superiore di sinistra area di aumentata addensità parenchimale di aspetto a "vetro smerigliato", compatibile con processo flogistico»



# EGA all'ingresso 17/11/2022

Alcalosi respiratoria

рН <b>7.53</b>	(7.35-7.45)	tHb 11.3 g/dl	
pCO2 <b>30</b> mmHg	(35-45	SO2 97.2%	
pO2 <b>60</b> mmHg	(>83	O2Hb 94.9%	
mmHg) Hct 33%		COHb 1.7%	
Na+ 124 mEq/L		MetHb 0.7%	
K+ 3.8 mEq/L		HHb 2.7%	
Ca2+ 4.2 mEq/L		cHCO3- 25.1 mmol/L	(22-26
Cl- 95 mEq/L		mmol/L) BE 2.4 mmol/L	
Glu 148 mg/dL		AG 8 mmol/L	
Lac 1.5 mmol/L		mOsm 256.2 mmol/L	

## Esami all'ingresso:

Hb 12,7 g/dL, PLT

<del>274.000/mm3</del> Leucociti **13330**, N12330

Azotemia 42 mg/dL

Creatinina 0,74 mg/dL

**AST/ALT 70/67 U/L** 

Na+/K+131/3,6 mmol/L

PCR 222 mg/L

PCT 0.99 ng/mL

Glicemia 230 mg/dl



Tamponi per virus respiratori Ag urinari per pneumococco e Legionella Tampone nasale per MRSA



## **Trattamento**

Levofloxacina 750 mg/die ev (Durata 7 giorni)



Alla dimissione:
Paziente eupnoica ed apiretica
Risoluzione dell'insufficienza respiratoria
Esami ematochimici nella norma

	ORVEGLIANZ			
N. Scheda			Data	1 1
Ospedale Notificante				
Cognome Nome del paziente				
Data di nascita	Sesso	M	F	
Data Insorgenza sintomi  Data Dimissione	Date	Ricovero Ospedo	aliero L	
Esito: Miglioramento/Guarigione	Dec	esso 🗆 Non n	oto 🗆	
esame radiologico suggestivo di interesso Diagnosi di laboratorio Isolamento del germe Se si, specificare da quale materiale biolo specie e siero gruppo identificati		SI		
Sierologia SI NO				
1° siero: n. gg da inizio sintomi	titolo	specie e sg		
		specie e sg		
				11 1
2° siero: n. gg da inizio sintomi		Non eseguita	Data	
2° siero: n. gg da inizio sintomi	Pos Neg		1	
2° siero: n. gg da inizio sintomi Rilevazione antigene urinario	Pos Neg Pos Neg Pos Neg	Non eseguita	Data	

Nell'ambito della sorveglianza viene utilizzata la definizione di caso aggiornata in accordo con la *Decisione della Commissione Europea 2018/945 del 22 giugno 2018* 

#### Caso accertato

Segni di **polmonite** (clinica e radiologia) accompagnati da uno o più dei seguenti eventi:

- **Isolamento** di Legionella da materiale organico (secrezioni respiratorie, broncolavaggio, tessuto polmonare, essudato pleurico, essudato pericardico, sangue) o da un sito normalmente sterile;
- Riconoscimento dell'antigene specifico solubile nelle urine;
- **Sieroconversione**: aumento di almeno **4** volte del titolo anticorpale specifico verso L. pn. sg I, rilevato in due campioni di siero prelevati a distanza di almeno 10 giorni.

#### **Caso probabile**

Segni di polmonite (clinica e radiologia) accompagnati da uno o più dei seguenti eventi:

- Rilevazione di Legionella pneumophila nelle secrezioni respiratorie o nel tessuto polmonare mediante **immunofluorescenza diretta** utilizzando reagenti a base di anticorpi monoclonali.
- Identificazione dell'acido nucleico di Legionella in un campione clinico;
- **Sieroconversione**: aumento di almeno **4 volte** del titolo anticorpale specifico, relativo a **sierogruppi** o **specie diverse** da L. pn. sg1;
- Singolo **titolo sierologico anticorpale elevato**(> l :256) verso L. pn. sgl.

## Take Home Message

- Non esiste un vaccino umano per LP;
- Un infezione precedente non esclude la possibilità di una reinfezione;
- Bisogna aumentare le misure di prevenzione e manutenzione dei setting a rischio;
- Miglioramento delle tecniche diagnostiche e di conseguenza degli algoritmi diagnostici per aumentare la possibilità di identificare precocemente le forme da legionella che ad oggi risultano sottodiagnosticate.

PARTE PRIMA

Roma - Venerdì, 5 maggio 2000

SI PUBBLICA TUTTI I GIORNI NON FESTIVI

#### CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI TRA LO STATO LE REGIONI E LE PROVINCE AUTONOME DI TRENTO E BOLZANO

DOCUMENTO 4 aprile 2000.

Linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi.

- La legionellosi e© una malattia infettiva grave e a letalità elevata.
- L'osservazione di recenti casi di legionellosi in nosocomi italiani e la notifica di polmoniti da Legionella in turisti che hanno soggiornato in alberghi e villaggi del nostro Paese pone la Sanita© pubblica di fronte al problema della prevenzione comunitaria e nosocomiale delle infezioni da batteri del genere Legionella.
- Con le Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi si intende fornire uno strumento operativo per facilitare l'accertamento dei casi e per individuare le scelte strategiche sulle misure preventive e di controllo.
- Nelle linee guida viene anche ricompresa la revisione della circolare 400.2/9/5708 del 29 dicembre 1993 Sorveglianza delle Legionellosi per l'aggiornamento della scheda di sorveglianza.
- 1.0 EPIDEMIOLOGIA
- Legionellosi è la definizione di tutte le forme morbose causate da batteri gram-negativi aerobi del genere Legionella. Essa si può manifestare sia in forma di polmonite, sia in forma febbrile extrapolmonare o in forma subclinica.
- La specie più frequentemente coinvolta in casi umani è Legionella pneumophila anche se altre specie sono state isolate da pazienti con polmonite.
- 1.1 Siti epidemici e condizioni naturali favorenti.
- L'unico serbatoio naturale di Legionella è l'ambiente. Dal serbatoio naturale (ambienti lacustri, corsi d'acqua, acque termali, ecc.) il germe passa nei siti che costituiscono il serbatoio artificiale (acqua condottata cittadina, impianti idrici dei singoli edifici, piscine ecc.).
- Il microrganismo è ubiquitario e la malattia può manifestarsi con epidemie dovute ad un'unica fonte con limitata esposizione nel tempo e nello spazio all'agente eziologico, oppure con una serie di casi indipendenti in un'area ad alta endemia o con casi sporadici senza un evidente raggruppamento temporale o geografico. Focolai epidemici si sono ripetutamente verificati in ambienti collettivi a residenza temporanea, come ospedali o alberghi.
- I casi di polmonite da Legionella si manifestano prevalentemente nei mesi estivo-autunnali per quelli di origine comunitaria, mentre quelli di origine nosocomiale non presentano una particolare stagionalita.

#### Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi



		o di lavoro	
GI	LOSS	SARIO	. (
PF	REME	SSA	. 9
1.		SPETTI GENERALI	
		Introduzione	
		Fonti di infezione, modalità di trasmissione e fattori di rischio	
		Frequenza della malattia	
		Sintomatologia	
		Diagnosi di laboratorio: ricerca di Legionella in campioni di provenienza umana	
		etodo colturale	
		ilevazione dell'antigene urinario	
	M	etodi sierologici	18
		nmunofluorescenza diretta (DFA)	
		mplificazione di geni specifici mediante PCR	
		Ricerca di Legionella in campioni di provenienza ambientale	
		etodo colturale	
		eal-Time PCR	
_	1.7	Terapia	2
2.		ORVEGLIANZA E INDAGINE EPIDEMIOLOGICA	
		La sorveglianza epidemiologica	
		biettivi	
		efinizione di caso	
		sistema di notifica	
	II s	sistema di sorveglianza speciale: il registro nazionale della legionellosi	2
	La	a sorveglianza internazionale della legionellosi nei viaggiatori	2
		Indagine epidemiologica	
		asi isolati	
	CI	luster	3
3.	21	ROTOCOLLO DI CONTROLLO DEL RISCHIO LEGIONELLOSI	3
	3.1.	Introduzione	3
	V	alutazione del rischio	3
		estione del rischio	
		Valutazione e gestione del rischio negli stabilimenti termali	
		alutazione del rischio	
	Vè	eriodicità della valutazione del rischio	41
		estione del rischio	
	3 /	Valutazione e gestione del rischio nelle strutture sanitarie	41 11
		alutazione del rischio	
		eriodicità della valutazione del rischio.	
		estione del rischio	
	G	COLIUTE UCI HOUTIU	4

	Prevenzione della legionellosi correlata a procedure assistenziali	
	Diagnosi di legionellosi e sorveglianza attiva	
	Comunicazione e formazione	
4.	METODI DI PREVENZIONE E CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DEL SISTE	M
IDR	CO	. 5
5.		
	ANTI	
	1. Introduzione	
	Impianti idro-sanitari	
5	3. Impianti aeraulici	
	Prese d'aria esterna	
	Filtri	
	Sistemi di umidificazione	
	Batterie di scambio termico	
	Silenziatori	
	Canalizzazioni	
	4. Impianti di raffreddamento a torri di evaporative e condensatori evaporativi	
	Gestione degli impianti idro-sanitari	
5	Gestione degli impianti aeraulici	
	Sanificazione dell'impianto	
5	<ol> <li>Gestione degli impianti di raffreddamento a torri evaporative o a condensatori evapora 61</li> </ol>	ati
5	<ol> <li>Gestione degli impianti a servizio delle piscine e degli idromassaggi alimentati con aci</li> </ol>	an
	olce	
	Documentazione degli interventi	
5	10. Provvedimenti di emergenza in presenza di cluster	. 6
	Disattivazioni di impianti.	. 6
	Sospensione dell'attività della struttura interessata.	. 6
6.	RISCHIO LEGIONELLOSI ASSOCIATO AD ATTIVITÀ PROFESSIONALE	. 6
6	1. Introduzione	. 6
6	Il rischio per operatori sanitari	. 6
	Settore odontoiatrico	
	Il rischio per altre categorie di lavoratori	. 6
BIB	LIOGRAFÍA	. 6
Alle	gato 1:Specie e sierogruppi di Legionella	. 7
Alle	gato 2: Ricerca di Legionella in campioni di origine umana	. 7
	Misure di sicurezza	. 7
Ρ	relievo, trasporto e conservazione	. 7
M	letodo colturale	
	Strumenti, materiali, terreni e reagenti	. 7
	Procedimento	
	Immunofluorescenza diretta (DFA)	. 8
	Procedimento	
	Preparazione dei reagenti	8

Procedimento	83
Determinazione dell'antigene urinario	84
Allegato 3:Campionamento di matrici ambientali per la ricerca di Legionella	. 85
Misure di sicurezza	85
Campionamento	87
Impianti idrosanitari	
Impianti di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi	
Modalità di prelievo	
Trasporto e conservazione	
Allegato 4: Ricerca e quantificazione di Legionella in campioni ambientali	
Misure di sicurezza	
Strumenti e Materiali	
Terreni e diluenti	
Modalità di preparazione	
Procedimento per campioni ambientali a matrice acquosa	
Concentrazione per filtrazione	
Concentrazione per centrifugazione  Procedimento per campioni ambientali a matrice non acquosa	97
Depositi o sedimenti	
Incrostazioni	
Tamponi	
Filtri	
Espressione dei risultati	
Campioni ambientali a matrice acquosa	
Allegato 5: Identificazione e conservazione di Legionella	
Misure di sicurezza	
Strumenti, reagenti e Terreni	
Prova differenziale preliminare.	
, definitiva.	
Congelamento e conservazione dei ceppi	
Allegato 6:Ricerca di Legionella in campioni ambientali mediante Real-Time PCR	
Aspetti generali1	
Aree di lavoro	
Campionamento1	
Concentrazione	
Decontaminazione	
Estrazione di DNA genomico	
Controllo di inibizione	106
Amplificazione di DNA mediante qPCR	107
Allegato 7: Revisione Circolare 400.2/9/5708 del 29/12/93	109
Allegato 8: Elenco Dei Laboratori Regionali di Riferimento per la Legionellosi	110
Allegato 9: Modulo A ELDSnet	119
Allegato 10: Modulo B ELDSnet	120
Allegato 11: Questionario per l'indagine di focolai epidemici	
Allegato 12: Lista di controllo per il sopralluogo di valutazione del rischio legionellosi 1	122
Allegato 13: Metodi di prevenzione e controllo della contaminazione del sistema idrico.	136
Misure a breve termine	
Misure a lungo termine	
Filtrazione al punto di utilizzo	136
Trattamento Termico	136
Irraggiamento UV	138
Clorazione	139
Iperclorazione continua	
Disinfezione con biossido di cloro	
Ozonizzazione	140
Disinfezione con monoclorammina.	140
Disinfezione con monoclorammina	140 141
Ionizzazione rame-argento	140 141 141
	140 141 141 142

- Le legionelle sono presenti negli ambienti acquatici naturali e artificiali: acque sorgive, comprese quelle termali, fiumi, laghi, fanghi, ecc. Da questi ambienti esse raggiungono quelli artificiali come condotte cittadine e impianti idrici degli edifici, quali serbatoi, tubature, fontane e piscine, che possono agire come amplificatori e disseminatori del microrganismo, creando una potenziale situazione di rischio per la salute umana (Declerck et al., 2007; Fliermans et al., 1981).
- "Legionellosi" è la definizione di tutte le forme morbose causate da batteri Gram-negativi aerobi del genere Legionella. Essa si può manifestare sia in forma di polmonite con tasso di mortalità variabile tra 10-15%, sia in forma febbrile extrapolmonare o in forma subclinica. La specie più frequentemente coinvolta in casi umani è L. pneumophila anche se altre specie sono state isolate da pazienti con polmonite (Allegato 1).
- Nel presente documento, i termini "legionellosi" e "Malattia dei Legionari", vengono usati come sinonimo per indicare le forme morbose gravi (polmoniti) causate da microrganismi del genere Legionella. Dopo la prima identificazione nel 1976 (Fraser et al., 1977; McDade et al., 1979), si è osservato un po" ovunque nei Paesi industrializzati un notevole incremento del numero di casi e questo può essere attribuito sia al miglioramento degli strumenti diagnostici disponibili e alla maggiore sensibilità dei clinici nei confronti della malattia, sia all"aumento delle occasioni di esposizione all"agente eziologico dovuto all"incremento del turismo, della frequentazione di centri-benessere e alla sempre più diffusa installazione di impianti di condizionamento centralizzati negli ambienti ad uso collettivo, dotati di torri di raffreddamento e/o condensatori evaporativi.
- Essendo il microrganismo ubiquitario, la malattia può manifestarsi con epidemie dovute ad un"unica fonte con limitata esposizione nel tempo e nello spazio all"agente eziologico, oppure con una serie di casi indipendenti in un"area ad alta endemia o con casi sporadici senza un evidente raggruppamento temporale o geografico. Focolai epidemici si sono ripetutamente verificati in ambienti collettivi a residenza temporanea, come ospedali o alberghi, navi da crociera, esposizioni commerciali, ecc. I casi di polmonite da Legionella di origine comunitaria si manifestano prevalentemente nei mesi estivo-autunnali, mentre quelli di origine nosocomiale non presentano una particolare stagionalità.

### 1.2. Fonti di infezione, modalità di trasmissione e fattori di rischio

- Il genere *Legionella* comprende 61 diverse specie (sottospecie incluse) e circa 70 sierogruppi(Allegato 1), ma non tutte sono state associate a casi di malattia nell'uomo. *Legionella pneumophila* è la specie più frequentemente rilevata nei casi diagnosticati (Fields et al., 2002)ed è costituita da 16 sieropgruppi di cui *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, responsabiledell'epidemia di Filadelfia, è causa del 95% delle infezioni in Europa e dell'85% nel mondo.
- Anche in Italia I"analisi della distribuzione di specie e sierogruppi isolati nel nostro territorio la prevalenza di Legionella pneumophila ed in particolare del sierogruppo 1 nei casidi malattia (Fontana et al., 2014).Non è nota la dose infettante per l"uomo. Neppure si conoscono le ragioni della diversavirulenza nelle differenti specie e sierogruppi di Legionella che tuttavia potrebbero essere attribuite alla idrofobicità di superficie, alla stabilità nell"aerosol e alla capacità di crescereall"interno delle amebe. Non è noto neppure lo stato fisiologico di Legionella che causa l"infezione, ma esso puòincludere sia la fase stazionaria di crescita sia quella logaritmica, come pure le cosiddette sporelikeforms.Lo stato fisiologico di Legionella può essere importante in relazione alla virulenza, poiché essa aumenta quando il batterio è cresciuto nelle amebe, nella tarda fase stazionaria o quando ènella forma sporelike. La legionellosi viene normalmente acquisita per via respiratoria mediante inalazione, aspirazione o microaspirazione di aerosol contenente Legionella, oppure di particelle derivateper essiccamento. Le goccioline si possono formare sia spruzzando l"acqua che facendo gorgogliare aria in essa, o per impatto su superfici solide. La pericolosità di queste particelle di acqua è inversamente proporzionale alla loro dimensione. Gocce di diametro inferiore a 5μ arrivano piùfacilmente alle basse vie respiratorie. Sono stati inoltre segnalati in letteratura casi dilegionellosi acquisita attraverso ferita (Brabender et al., 1983; Lowry et al., 1991; Lowry andTompkins, 1993). Non è mai stata dimostrata la trasmissione interumana della malattia.
- Mentre la maggior parte dei primi casi di legionellosi sono stati attribuiti a particelle di acqua aerodisperse, contenenti batteri provenienti da torri di raffreddamento o condensatori evaporativi o sezioni di umidificazione delle unità di trattamento dell'aria, successivamente,numerose infezioni sono risultate causate anche dalla contaminazione di impianti di acquapotabile, apparecchi sanitari, fontane e umidificatori ultrasonici. Eventi epidemici verificatisi in vari Paesi, che hanno riguardato frequentatori di fiere edesposizioni nelle quali si sono create condizioni di rischio di infezione da sistemi generanti aerosol (piscine e vasche idromassaggio, esposte a fini dimostrativi, e fontane decorative), suggeriscono l'opportunità di considerare anche queste manifestazioni nell'anamnesi dei casi e nell'indagine epidemiologica. In Italia negli ultimi venti anni gli eventi epidemici più rilevanti sono stati causati da torri diraffreddamento (Castellani et al, 1997;, Rota et al. 2005; Venezia, dati non pubblicati) o daimpianti idrici di strutture turistico ricettive (Rota et al.2011) o probabilmente da più sorgenti(torri di raffreddamento e/o impianti idrici di abitazioni) Scaturro et al. 2014.In Australia, Nuova Zelanda, Giappone, negli Stati Uniti e nel Regno Unito sono statedescritte a più riprese delle infezioni da Legionella longbeachae associate all'utilizzo di terriccio composti (Cameron et al., 1991).Fattori predisponenti la malattia sono l'età avanzata, il fumo di sigaretta, la presenza dimalattie croniche, l''immunodeficienza. Il rischio di acquisizione della malattia è principalmente correlato alla suscettibilità individuale del soggetto esposto e al grado d''intensitàdell''esposizione, rappresentato dalla quantità di Legionella presente e dal tempo di esposizione. Sono importanti inoltre la virulenza e la carica infettante dei singoli ceppi di Legionella, che, interagendo con la suscettibilità dell'ospite, determinano l'espressione clinica dell'infezione. Malgrado il carattere ubiquitario di Legion

Tabella 1. Fattori di rischio per infezione da *Legionella* per categoria di esposizione (*Legionella* and the prevention of legionellosis WHO, 2007).

	Legionellosi comunitaria	Legionellosi associata ai viaggi	Legionellosi nosocomiale
Modalità di trasmissione	Inalazione di aerosol contaminato (sospensione di particelle solide o liquide in aria)	Inalazione di aerosol contaminato	Inalazione di aerosol contaminato Aspirazione Infezione di ferite
Sorgente di infezione	Torri di raffreddamento Impianti idrici Vasche idromassaggio Stazioni termali Terriccio e composti per giardinaggio Impianti idrici di riuniti odontoiatrici	Torri di raffreddamento Impianti idrici Vasche idromassaggio Stabilimenti termali Umidificatori	Torri di raffreddamento Impianti idrici Piscine riabilitative Dispositivi per la respirazione assistita Vasche per il parto in acqua Altri trattamenti medici
Luogo e occasione di infezione	Siti industriali Centri commerciali Ristoranti Centri sportivi e centri benessere Residenze private	Alberghi Navi Campeggi Ristoranti Club Centri sportivi e centri benessere	Ospedali Utilizzo di dispositivi medici
Fattori di rischio (ambientali)	Vicinanza a sorgenti di trasmissione quali: torri di raffreddamento/condensatori evaporativi non mantenuti adeguatamente. Impianti idrici complessi e presenza di rami morti.	Soggiorno in alberghi o in camere con occupazione discontinua; erogazione intermittente dell'acqua, difficile controllo della temperatura; impianti idrici complessi; personale non formato per la prevenzione della legionellosi	Vapori in uscita da torri evaporative Impianti idrici complessi vetusti, con rami morti Impossibilità di garantire le temperature raccomandate Bassa pressione o flusso intermittente dell'acqua
Fattori di rischio (personali)  Età > 40 anni Sesso maschile Tabagismo Viaggi recenti Malattie concomitanti (diabete, malattie cardiovascolari, immunosoppressione da corticosteroidi, malattie cronich debilitanti, insufficienza renale cronica, malattie ematologiche, tumori, ipersideremia).		Età > 40 anni Sesso maschile Tabagismo Abuso di alcool Cambiamenti dello stile di vita Malattie concomitanti (diabete, malattie cardiovascolari e immunodepressione)	Immunosoppressione dovuta a trapianti o ad altre cause Interventi chirurgici a testa e collo, tumori, leucemie e linfomi, diabete, malattie croniche dell'apparato cardiaco e polmonare Utilizzo di dispositivi per la respirazione assistita Tabagismo e alcolismo

### 1.3. Frequenza della malattia

- Sebbene la sorveglianza epidemiologica della legionellosi sia notevolmente migliorata negli ultimi anni, grazie alla maggiore sensibilizzazione dei medici e alla disponibilità di un test diagnostico semplice e non invasivo (antigene solubile nelle urine), questa malattia resta sottodiagnosticatae anche sotto-notificata. Ecco perché nella maggior parte dei paesi è difficiledeterminare con precisione il tasso di morbosità e di mortalità.
- Nel 2012 in Europa sono statiriportati 5852 casi di legionellosi recensiti in 29 paesi europei. L'incidenza globale annuale dellamalattia in Europa nel 2012 si situa a 11,5 casi per 1.000.000 di abitanti, con un tasso di letalitàdel 9% (Fonte: ECDC, www.ecdc.europa.eu).Nel 2013, secondo le notifiche pervenute all'ISS, l'incidenza della legionellosi in Italia è statadi 22,6 casi per 1.000.000 di abitanti con un tasso di letalità del 10,4%. Per informazioni piùdettagliate, il lettore può consultare il sito dell'ISS http://www.iss.it/binary/publ dove sonopubblicati i dati epidemiologici a partire dal 1997. La Febbre di Pontiac e le altre infezioniextrapolmonari da *Legionella* non sono incluse nelle statistiche nazionali, nelle quali vengonoconteggiate solo le polmoniti da *Legionella* confermate e probabili.
- In Tabella 2 è riportato ilnumero di casi di legionellosi notificato per regione, in Italia, negli ultimi cinque anni (Rota etal., 2012).

Tabella 2. Casi di legionellosi notificati per regione in ordine geografico da Nord a Sud e per anno nel quinquennio 2009-2013

Regione	2009	2010	2011	2012	2013
Piemonte	78	69	75	55	77
Valle D'Aosta	3	3	3	5	2
Lombardia	451	455	363	420	428
P.A. Bolzano	20	9	11	22	23
P.A.Trento	40	51	48	47	31
Veneto	82	96	60	130	82
Friuli V. G.	16	22	19	25	23
Liguria	29	36	22	17	46
Emilia R.	102	122	95	147	142
Toscana	132	97	94	116	127
Umbria	15	19	22	34	26
Marche	23	26	19	37	25
Lazio	117	104	63	151	153
Abruzzo	5	9	13	21	24
Molise	1	0	1	1	0
Campania	51	81	46	72	74
Puglia	20	14	16	24	26
Basilicata	0	7	5	7	16
Calabria	7	3	6	6	3
Sicilia	10	6	20	10	15
Sardegna	5	5	7	3	4
Totale	1207	1234	1008	1350	1347

#### 1.4. Sintomatologia

- La legionellosi può manifestarsi con due distinti quadri clinici: la Febbre di Pontiac e la Malattia dei Legionari.
- La Febbre di Pontiac, dopo un periodo di incubazione di 24-48 ore, si manifesta in formaacuta simil-influenzale senza interessamento polmonare, e si risolve in 2-5 giorni. I prodromi sono: malessere generale, mialgie e cefalea, seguiti rapidamente da febbre, a volte con tosse egola arrossata. Possono essere presenti diarrea, nausea e lievi sintomi neurologici quali vertiginio fotofobia. La prima epidemia di Febbre di Pontiac è stata causata da *L. pneumophila* di sierogruppo 1 mentre epidemie successive sono state attribuite a *L. feeleii*, *L. anisa* e *L. micdadei*.
- La Malattia dei Legionari, dopo un periodo di incubazione variabile da 2 a 10 giorni (inmedia 5-6 giorni), si manifesta come una polmonite infettiva, con o senza manifestazioni extrapolmonari. La sindrome pneumonitica non ha caratteri di specificità né clinici néradiologici. Nei casi classificabili come gravi secondo il punteggio "pneumonia severity index" (Fine et al., 1997) può insorgere bruscamente con febbre, dolore toracico, dispnea, cianosi, tosse produttiva associati alla obiettività fisica semeiologica del consolidamento polmonare. Nei casi classificabili come di gravità lieve (ma che poi se non adeguatamente trattati possono evolvere in polmonite grave) l"esordio può essere insidioso con febbre, malessere, osteoartralgie, tosse lieve, non produttiva. I quadri radiologici non sono patognomonici potendosi riscontrare addensamenti di tipo alveolare focali, singoli o multipli, monolaterali o disseminati con o senza evoluzione escavativa, come quadri inizialmente a impegno interstiziale. A volte possono essere presenti sintomi gastrointestinali, neurologici e cardiaci; alterazioni dello stato mentale sono comuni, generalmente non associati a meningismo. In un paziente affetto da legionellosi, a impronta sistemica possono essere presenti uno o più dei seguenti segnie sintomi: bradicardia relativa, lieve aumento delle transaminasi, ipofosfatemia, diarrea e dolore addominale. Tra le complicanze della legionellosi vi possono essere: ascesso polmonare, empiema, insufficienza respiratoria, shock, coagulazione intravasale disseminata, porporatrombocitopenica e insufficienza renale.
- La polmonite da *Legionella* non ha quindi caratteristiche cliniche che permettano didistinguerla da altre forme atipiche o batteriche di polmonite comunitaria, né ha stigmate specifiche che consentano di sospettarla tra le eziologie di polmonite nosocomiale e/o dell'ospite immunocompromesso. Come tale va sempre sospettata sul piano clinico tra le infezioni polmonari comunitarie e nosocomiali. Non a caso le linee guida della American Thoracic Society prevedono antibiotici sempre attivi verso *Legionella* anche per le polmoniti comunitarie di lieve gravità e di considerare l'eziologia in tutte le forme nosocomiali sino a quando non venga esclusa dalle indagini di laboratorio (American Thoracic Society, 2005; Mandell et al., 2007). (Rota etal., 2012).

### 1.5. Diagnosi di laboratorio: ricerca di Legionella in campioni di provenienza umana

• La polmonite da Legionella ha dei sintomi che sono spesso indistinguibili dalle polmoniti causate da altri microrganismi e, per questo motivo, la diagnosi di laboratorio della legionellosi deve essere considerata complemento indispensabile alle procedure diagnostiche cliniche. Gli accertamenti di laboratorio devono essere attuati possibilmente prima che i risultati possano essere influenzati dalla terapia e devono essere richiesti al fine di attuare una terapia antibiotica mirata, contenere così l'uso di antibiotici non necessari, evitare effetti collaterali, l'insorgenza di microrganismi antibiotico-resistenti, ed in ultimo, ma non meno importante, ridurre i tempi di degenza e le spese sanitarie del nostro paese

#### • Test diagnostici per la legionellosi dovrebbero essere idealmente eseguiti in tutti i seguenti casi di polmonite:

- ¬ in pazienti con malattia severa che richieda il ricovero in un reparto di terapia intensiva;
- ¬ in pazienti che riferiscano fattori di rischio (Tabella 1);
- ¬ in pazienti che siano stati esposti a Legionella durante un"epidemia;
- $\neg$  in pazienti in cui nessun altra eziologia è probabile.
- La sensibilità e specificità dei metodi diagnostici per L. pneumophila sierogruppo 1 sono abbastanza elevate mentre sono inferiori per gli altri sierogruppi di L. pneumophila o per altre specie di Legionella.
- I metodi di diagnosi per l'infezione da Legionella correntemente utilizzati sono i seguenti:
  - ¬ isolamento del batterio mediante coltura;
  - ¬ rilevazione di anticorpi su sieri nella fase acuta e convalescente della malattia;
  - ¬ rilevazione dell"antigene urinario;
  - ¬ rilevazione del batterio nei tessuti o nei fluidi corporei mediante test di immunofluorescenza;
  - ¬ rilevazione del DNA batterico mediante PCR (metodo non ancora validato). Si suggerisce vivamente l'esecuzione di questo test come rapida analisi nei casi di polmonite sopra elencati. I campioni che da questo test avranno esito positivo, saranno saggiati poi mediante coltura. Questa pratica, adottata già da alcuni paesi europei, e suggerita dall'ECDC, ha consentito di isolare un maggior numero di ceppidai pazienti dando la possibilità di risalire alla fonte di infezione. **Tuttavia, poiché nessun metodo di diagnosi di legionellosi è sensibile e specifico al 100% (come indicato nei paragrafi successivi), è ormai opinione condivisa a livello internazionale, chemaggiore è il numero di metodi diagnostici utilizzati, più corretta sarà la diagnosi di legionellosi. Infatti, la negatività di uno o di tutti i test diagnostici utilizzati e validati non esclude che ci sipossa trovare di fronte ad un caso di legionellosi.**

Tabella 3. Confronto di metodi per la diagnosi di laboratorio della legionellosi (Legionella and the prevention of legionellosis WHO, 2007).

Metodo	Sensibilità %	Specificità %	Commenti
Coltura			Gold standard
Escreato	5-70	100	
BAL o aspirato trans-tracheale	30-90	100	
Biopsia di tessuto polmonare	90-99	100	
Sangue	10-30	100	
Sierologia			Può richiedere da 3 a 9 settimane. In
Sieroconversione	70-90	95-99	pazienti immunocompromessi la risposta
Singolo siero	Non nota	50-70	anticorpale può essere assente.
Antigene urinario	75-99*	99-100	Solo per <i>Lp. 1</i> . Poche informazioni disponibili per altri sierogruppi o specie. Molto rapido (15 min-3 h); generalmente molto precoce, può rimanere positivo per settimane e/o mesi.
Immmunofluorescenza Diretta (DFA)			Molto rapido (2-4h); sensibilità limitata,
Escreato o BAL	25-75	95-99	richiede esperienza.
Biopsia di tessuto polmonare	80-90	99	Reagenti non validati per non <i>Lp</i> species.
PCR			
Secrezioni del tratto respiratorio	85-92	94-99	Rapido. Metodo non ancora validato per
Urine, siero	33-70	98	la diagnosi; rileva tutte le specie di Legionella.

<sup>\*</sup>La sensibilità della rilevazione delli'antigene urinario effettuata mediante test immunocromatografico può decrescere da questo valore fino ad arrivare al 32% in alcuni kit disponibili in commercio, pertanto questo tipo di test dovrebbe essere utilizzato in aggiunta ad altri metodi per la diagnosi di legionellosi.

- Metodo colturale
- L'isolamento mediante coltura è considerato il metodo diagnostico di elezione per ladiagnosi di legionellosi. I campioni dovrebbero essere prelevati prima del trattamentoantibiotico, sebbene Legionella sia stata isolata da secrezioni del tratto respiratorio e dal sangueanche dopo alcuni giorni di trattamento antibiotico. I campioni del tratto respiratorio (BAL, tracheoaspirato, liquido pleurico) e il parenchimapolmonare, dovrebbero essere tempestivamente coltivati (Allegato 2) (Stout et al., 2003). Inoltre, un'emocoltura negativa, seminata successivamente su terreno specifico per Legionella, può dar luogo all'isolamento del microrganismo. In alcuni casi Legionella è stata trovata in campioni provenienti da siti extra polmonari, specialmente in campioni autoptici (e.g., fegato, milza, fluido pericardico, reni, ascessi cutanei). L'isolamento del batterio richiede terreni di coltura specifici poiché Legionella non crescesui terreni di uso comune (Allegato 2), ed ha tempi di crescita relativamente lunghi (4-10giorni). L'ianalisi dei campioni clinici mediante coltura è estremamente importante, perché è ilcriterio diagnostico più specifico, permette l'isolamento di tutte le specie e sierogruppi econsente lo studio comparativo con ceppi di Legionella isolati dall'ambiente, presumibilmenteassociati all'infezione, al fine di individuare la fonte dell'infezione stessa. L'iuso di colorazioni batteriologiche può essere solo parzialmente utile. Tuttavia, è necessarioprendere in considerazione una diagnosi di legionellosi se si osservano batteri Gram-negativinelle secrezioni delle basse vie respiratorie di un paziente immunocompromesso, con unacoltura negativa dopo 24 ore sui terreni di uso corrente. La coltura è particolarmente importante per la diagnosi in alcuni casi:
- ¬ pazienti in cui la polmonite è severa e causa insufficienza respiratoria;
- pazienti immunocompromessi;
- infezioni nosocomiali;
- $\neg$  casi in cui si sospetta che la causa sia Legionella appartenente a specie differenti da
- L. pneumophila sierogruppo 1

Rilevazione dell'antigene urinarioLa presenza dell'antigene solubile di Legionella nelle urine (antigenuria) si rileva nellamaggior parte dei pazienti da uno a tre giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, con un picco a 5-10giorni; può persistere per alcune settimane o mesi, soprattutto in pazienti immunocompromessi, dove può persistere per quasi un anno (Kohler et al., 1984). Inoltre, essendo la sensibilità al testspesso associata alla gravità della malattia (Yzerman et al., 2002) per evitare una mancatadiagnosi, nei casi di polmonite meno grave, si dovrebbe fare ricorso ad altri test diagnostici. Lasua presenza, tuttavia, può essere a volte intermittente, ma si rileva anche in corso di terapia antibiotica (Luck et al., 2002). Questo test è attualmente validato esclusivamente per L. pneumophila sierogruppo 1, anche se, in una certa percentuale di casi, è stata riscontratapositività a seguito di infezioni causate da altri sierogruppi di Legionella (Benson et al., 2000; Olsen et al., 2009). Pertanto la positività del test non implica necessariamente che l'agente eziologico sia L. pneumophila sierogruppo 1, anche se questa è la situazione più frequente. La conferma puòessere ottenuta solo con l'utilizzo di altri metodi diagnostici (coltura, sierologia). La determinazione può essere effettuata attraverso due metodi: metodo immunoenzimatico (EIA) e metodo immunocromatografico (ICT). Il trattamento del campione prima dell'analisi èindicato nell'Allegato 2. Il metodo immunoenzimatico L'EIA ha una specificità dell'80-85%, simile a quella della coltura (Svarrer CW et al., 2012; Helbig J et al 2003; Hackman et al., 1996; Kazandjian et al., 1997), ma una sensibilitàmaggiore. La determinazione dell'antigene urinario mediante EIA è il metodo di scelta per ladiagnosi di infezione da L. pneumophila sierogrouppo 1 (Svarrer CWet al., 2012;Cosentini etal., 2001; Formica et al., 2001;).Il metodo immunocromatografico E" un saggio molto rapido (15 min-1h) per la rilevazione dell"antigene di L. pneumophilasierogruppo 1 che non richiede particolari attrezzature di laboratorio. L'interpretazione dei risultati si basa sulla presenza o meno di due bande colorate, una delcampione e l'altra del controllo. Qualsiasi linea visibile dà un risultato positivo. Tuttavia, campioni con bassa concentrazione di antigene potrebbero dare una linea di campione deboleche può essere considerata "positiva" con sicurezza se aumenta în intensità, dopo 45" dallaprima osservazione (questo controllo è possibile solo con il test oggetto della pubblicazione diHelbig et al., 2001). Se la banda debole non aumenta di intensità, soprattutto nei casi in cui leurine sono patologiche in partenza (infezioni urinarie, proteinuria, ecc.) il referto deve essereformulato come dubbio, in attesa di essere confermato da altri test (Helbig et al., 2001). Confrontato con altri metodi diagnostici, il test dell'antigene urinario presenta evidentivantaggi: i campioni sono ottenuti facilmente, è rilevabile nelle fasi precoci della malattia e iltest è facile e rapido da effettuare, oltre che specifico. Inoltre può essere rilevato anche nella Febbre di Pontiac (Burnsed et al., 2007). Uno svantaggio consiste nel fatto che, proprio per la sua persistenza, può risultare difficiledistinguere tra infezione acuta, fase di convalescenza o infezione pregressa. In casi sospetti, in presenza di segni clinici di polmonite, oltre al test dell'antigene urinarioandrebbe effettuato un ulteriore test diagnostico (esame colturale, sierologico e PCR), anche se, come dimostrato da recenti studi (Svarrer et al., 2012), questa pratica dovrebbe essere sempreadottata a causa della non elevata sensibilità soprattutto del test immunocromatografico. Unaltro limite del test è che rileva prevalentemente gli antigeni di L. pneumophila sierogruppo 1. Inoltre, benché la sensibilità complessiva del test sia pari al 75-99% per infezioni dovute atale microrganismo, è da rilevare che la sensibilità può variare in particolari sottopopolazioni:pazienti con legionellosi associata ai viaggi, legionellosi acquisita in comunità e nosocomiale. Infatti, in queste tre categorie la sensibilità è rispettivamente pari al 94%, 76-87% e 44-46%(Helbig et al., 2003). Queste differenze sono dovute al fatto che il test rileva principalmentealcuni ceppi di L. pneumophila che sono predominanti nei casi di legionellosi associata aiviaggi. Falsi positivi sono stati descritti in pazienti con malattia da siero (Deforges et al., 1999) e ininfezioni ascrivibili a Nocardia asteroides (Bailleul et al., 2004) ed in un episodiopseudoepidemico correlato ad alcuni lotti di un test immunocromatografico fallaci (Rota et al.2014). Uno studio sistematico che ha saggiato il test con numerosi ceppi di Legionella ha rilevato una totale assenza di reattività di antigeni di specie di Legionella non-pneumophila(Okada et al., 2002). Per rendere più affidabile la diagnosi mediante rilevazione dell'antigene urinario èconsigliabile bollire le urine (vedi paragrafo dedicato nell'Allegato 2). La concentrazione delleurine migliora la sensibilità del test anche se può interferire con la specificità (Svarrer CW et al2012).

#### Metodi sierologici

- Immunofluorescenza indiretta (IFI)I metodi sierologici sono utili per indagini epidemiologiche retrospettive ma sono menovalidi per quelle cliniche, data la comparsa talvolta tardiva degli anticorpi specifici a livellisignificativi e a causa della necessità di controllare un ulteriore campione di siero in fase diconvalescenza.Un aumento significativo del titolo anticorpale si presenta da 1 a 9 settimane dopol'insorgenza della malattia in circa i tre quarti dei pazienti con coltura positiva per *L.pneumophila* sierogrouppo 1. In media i pazienti sviluppano anticorpi in due settimane, tuttaviaoltre il 25% delle sieroconversioni non viene rilevato perché i sieri non vengono correttamenteprelevati nella fase precoce e convalescente della malattia. Inoltre la determinazione della classeanticorpale non è d'aiuto nel differenziare tra un'infezione in atto e un'infezione pregressa. Inalcuni studi le IgM si riscontano precocemente, altri studi hanno dimostrato che in questa fase cisono sia IgM che IgG. In alcuni pazienti inoltre sono state riscontrate solo le IgG o solo le IgM, oppure possono persistere a lungo le IgM. Le IgA possono essere presenti in infezioni recentima vanno incontro a degradazione. Per questo motivo è opportuno utilizzare un test che metta inevidenza tutte le classi anticorpali.Un aumento di quattro volte o più del titolo anticorpale tra due sieri prelevati nella fase acutae convalescente della malattia ha valore diagnostico.Un risultato positivo su un singolo siero (≥256) ha un valore diagnostico presuntivo.
- La definizione di questi criteri aiuta ad evitare falsi positivi dovuti a reazioni crociate conaltri patogeni. In generale, il metodo sierologico ha un valore predittivo positivo (proporzione direalmente malati tra i positivi al test) piuttosto basso. Inoltre si possono avere falsi negativi acausa della scarsa risposta anticorpale di pazienti con polmonite da Legionella che generalmentehanno difese immunitarie compromesse oppure a causa della sieroconversione a volte moltotardiva, oppure semplicemente a causa dell'età avanzata in cui si verifica un naturale declinodella risposta immunitaria. La sieroconversione può anche non essere osservata se nel test siutilizza un antigene non omologo (esistono ad esempio diversi sottotipi di L. pneumophila) chenon reagisce con gli anticorpi sviluppati dal contatto con un altro sottotipo che può aver causatol'infezione. Si deve infine rilevare che la specificità e la sensibilità dell'immunofluorescenza indiretta èstata valutata solo per L. pneumophila sierogruppo 1; la sensibilità e la specificità per altrisierogruppi o specie non sono note (Luck et al., 2002; Muder, 2000). A causa della formazione di anticorpi cross-reattivi, circa il 50% dei pazienti infettati con L.pneumophila non-sierogrouppo 1 manifesta una sieroconversione con antigeni specifici di L.pneumophila sierogrouppo 1 (Edelstein, 2002). Un risultato negativo non esclude la diagnosi dilegionellosi. Inoltre le preparazioni antigeniche differiscono nei diversi laboratori e tra le ditteproduttrici di kit, e ciò produce diversi livelli anticorpali critici, pertanto per alcune preparazioniantigeniche la specificità potrebbe essere relativamente alta per un certo campione e bassa perun altro (Rose et al, 2002). L'esistenza di reattività crociata tra Legionelle e altri microrganismi come ad esempio Campylobacter e Pseudomonas species (Boswell, 1996; Marshall et al., 1994), e la difficoltà di distinguere tra infezione in atto o infezione pregressa in caso dicampione singolo di siero o di titolo anticorpale costante,

- Microagglutinazione ed ELISASono test sierologici più specifici per *L. pneumophila* sierogruppo 1 (Edelstein, 2002).La microagglutinazione è un metodo rapido ed economico che permette di evidenziareanticorpi appartenenti essenzialmente, alla classe IgM, per questo motivo, e per tutto quantodetto in merito alla risposta anticorpale è una tecnica scarsamente utilizzata nella diagnosi dilegionellosi.Il metodo ELISA viene utilizzato sempre più frequentemente nei laboratori di diagnostica,grazie alla diffusione di numerosi kit commerciali; la concordanza tra il test ELISA el"immunofluorescenza è del 91% circa (Edelstein, 2002). La sensibilità è tra 1"80% e il 90% e laspecificità è di circa il 98%.
- Immunofluorescenza diretta (DFA)L"evidenziazione di *Legionella* nei campioni clinici per mezzo dell"immunofluorescenzadiretta, pur permettendo di confermare la diagnosi di polmonite da *Legionella* entro poche ore,ha una validità inferiore al metodo colturale. La tecnica si esegue in 2-3 ore circa, richiede unacerta preparazione ed esperienza nella lettura del preparato ed è influenzata dalla specificitàdegli antisieri utilizzati e dalle dimensioni del preparato esaminato (Allegato 2). La DFA effettuata su escreato può dare risultati positivi fino a 2–4 giorni dopo l"inizio della terapiaantibiotica e spesso anche per periodi più lunghi in casi di polmonite cavitaria (Luck et al.,2002).La DFA è un metodo efficace con campioni di espettorato, aspirati endotracheali e transtrachealie su biopsie polmonari (Stout et al., 2003). Pazienti con legionellosi diagnosticatamediante coltura hanno una DFA positiva tra il 25% e il 70%, tuttavia la specificità del test èsuperiore al 99,9%. Pertanto un risultato negativo non esclude la diagnosi di legionellosi, ma unrisultato positivo ha quasi sempre un valore diagnostico se la lettura del vetrino è stata fatta inmodo corretto. Molta attenzione deve essere posta per prevenire i falsi positivi in DFA, quando icampioni sono stati a contatto con acqua o tamponi contaminati.L"uso della coltura o dell"immunofluorescenza diretta è diminuito e la maggior parte dei casidi legionellosi è attualmente diagnosticata mediante rilevazione dell"antigene urinario. Comeconseguenza di questo cambiamento la rilevazione di Lp1 è aumentata, ma tutti gli altrisierogruppi o specie sono sotto-diagnosticati.

- Amplificazione di geni specifici mediante PCRLa diagnosi di legionellosi in campioni clinici mediante *Polymerase Chain Reaction*(reazione a catena della polimerasi o PCR) si basa sulla determinazione della presenza di DNAgenomico di *Legionella*, attraverso amplificazione di geni specifici (Cloud et al., 2000; Murdoch, 2003). L'introduzione della Real-Time PCR ha invece, rispetto alla PCR classica, ilvantaggio di visualizzare la reazione in tempo reale, dando eventualmente anche informazionisulla quantità di DNA presente nel campione. Per questo è molto spesso denominata anche PCRquantitativa (q-PCR). La Real-Time PCR è stata applicata per la singola determinazione diinfezione da *L. pneumophila* e/o *Legionella species* (Templeton et al., 2003). Più recentemente inoltre sono stati pubblicati numerosi articoli in cui sono descritti protocolli di "multiplex realtimePCR" per la diagnosi di polmoniti causate da *Legionella*, in cui si evidenzianocontemporaneamente *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, tutti i sierogruppi di *Legionellapneumophila* e le altre specie di *Legionella* (Benitez AJ, Winchell JM, 2013). Attraverso la multiplex real-time PCR sono stati sviluppati anche dei saggi attraverso i quali è possibilemettere in evidenzia simultaneamente il DNA di *Legionella* e di alcuni dei microorganismi più frequentemente associati con le infezioni polmonari quali *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Streptococcus* (Nomanpour et al 2012; Al-Marzooq et al 2011, McDonough et al., 2005).
- Gli articoli pubblicati illustrano come la diagnosi mediante amplificazione di geni specificisia vantaggiosa rispetto all'esame colturale perché richiede tempi di analisi di poche ore, ed ha una sensibilità pari, se non superiore, all'esame colturale, pur utilizzando quantità minime diDNA genomico. La sensibilità della PCR dipende dal tipo di campione: è più elevata (> 99%)per analisi effettuate su campioni del tratto respiratorio (espettorato, broncoaspirato,broncolavaggio) e si riduce per campioni rappresentati da altri liquidi corporei (sieri o urine)(Murdoch 2003; Aoki et al., 2003; Diederen et al., 2007). La specificità è data dal gene e/o dallaporzione di gene target scelto per l'amplificazione. I geni target più frequentemente analizzatisono: mip, 16S rDNA, 5S rDNA. I saggi di Real-Time PCR per la rilevazione di Legionella su campioni clinici hanno il vantaggio rispetto alla PCR qualitativa di ridurre il rischio di contaminazione del campione, minimizzare il tempo di analisi ed essere ancora più specifici. Inoltre, rispetto ai metodi classici di identificazione, la Real-Time PCR permette il riconoscimento delle numerose specie ad oggi identificate e di tutti i sierogruppi della specie pneumophila.

## 1.6 Ricerca di Legionella in campioni di provenienza ambientale

#### Metodo colturale

• A livello internazionale sono state redatte due norme che descrivono la determinazione di*Legionella* in matrici ambientali: ISO 11731-1:1998 "Water quality-detection and enumeration of *Legionella*" Part 2: "Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts".Le matrici ambientali che vengono generalmente utilizzate per la ricerca di *Legionella* incampioni ambientali sono: acqua, sedimenti, biofilm. Il metodo analitico è riportato nell"Allegato 4.

#### Real-Time PCR

La prima norma relativa all'uso di questa metodologia è stata elaborata dall'AssociationFrançaise de Normalisation (AFNOR) che ha sviluppato uno standard (Détection etquantification de polymérisation par concentration et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) NF T90-471, 2010) per assicurare l'equivalenza dei risultati ottenuti da differenti q-PCR (Anon., 2010) e alcuni kit commerciali sono stati messi a punto sulla base di tale norma. Recentemente è stata pubblicata la norma ISO "Water quality- Detection and quantification of Legionella spp and/or Legionella pneumophila by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR)" (ISO/TS 12869, 2012) che aggiorna especifica i requisiti metodologici, di valutazione e controllo di qualità del metodo qPCRapplicato a Legionella. Tale normativa detta le linee-guida per l'elaborazione di un metodoaffidabile e riproducibile tra differenti laboratori. Tuttavia, a meno di non disporre di un sistema per l'analisi di DNA di Legionella mediante PCR per il quale siano stati verificati tutti i criteri di un metodo standard, la qPCR resta non validato. Inoltre, poiché, così come specificato nella stessa norma, la qPCR non da informazione riguardo lo stato delle cellule, la quantificazione dovrà sempre essere determinata mediante esame colturale. Alcuni studi condotti al fine di confrontare il metodo colturale con la Real-Time PCR mostrano un più elevato numero di campioni positivi e valori più alti di quantificazione rilevati con la Real-Time PCR rispetto alla coltura (Behets et al., 2007; Buchbinder et al., 2002; Joly et al., 2006a; Levi et al., 2003; Yamamoto et al., 1993; Yaradou et al., 2007). Diverse ragioni sono state indicate per spiegare queste differenze tra cui le più importanti sono la rilevazione di DNA di batteri morti o danneggiati o di cellule vitali ma non coltivabili, oppure di DNA di Legionella intra-amoeba (Alleron et al., 2008; Shih and Lin, 2006). Ciò che maggiormente limita l'usodella qPCR rispetto alla coltura è che nella legislazione nazionale, così come in quella europea edell"OMS, i livelli di azione sono espressi in unità formanti colonia per litro e non in unità genomiche per litro e non esiste a tutt"oggi un consenso di come i risultati ottenuti da un metodo possano essere raffrontati con quelli ottenuti dall"altro. In uno studio multicentricointernazionale, recentemente pubblicato, è stato analizzato un numero elevato di campioniambientali e i risultati ottenuti da analisi mediante qPCR e mediante coltura sono staticonfrontati (Lee et al., 2011). L'elaborazione dei dati raccolti ha consentito la determinazione dilivelli di allerta e/o di azione espressi come unità genomiche per litro che comunque sono strettamente legati al tipo di protocollo di qPCR utilizzato come confronto con il metodocolturale. Poiché la q-PCR è effettivamente vantaggiosa per molteplici aspetti ma non ancora validata alivello internazionale, essa può, ad oggi, essere solo consigliata per una rapida analisi dinumerosi campioni prelevati da siti probabilmente associati ad un caso o ancor più a un clusterdi legionellosi, potendo in tempi brevi escludere i siti negativi ed identificare quelli positivi. Icampioni risultati positivi devono essere comunque analizzati con il metodo colturale.

1.7 Terapia I batteri appartenenti al genere Legionella sono microrganismi essenzialmente intracellulari. Di conseguenza, tutti gli agenti antimicrobici efficaci nel trattamento delle legionellosi devonoessere in grado di concentrarsi ed essere attivi a livello intracellulare (Horwitz, 1983). Inoltre, questi stessi farmaci devono essere in grado di distribuirsi e persistere adeguatamente nei tessutiinfetti da Legionella. La Febbre di Pontiac ha una evoluzione benigna anche in assenza dispecifico trattamento chemioterapico. Tutte le altre malattie sostenute da Legionella species, dalle più comuni polmoniti, alle meno frequenti infezioni extrapolmonari, viceversa, richiedonoun trattamento specifico per ridurre la probabilità di un esito infausto. Gli antibiotici che rispondono adeguatamente ai suddetti requisiti sono i chinoloni, imacrolidi e, con minor efficienza, le tetracicline. Al contrario, tutte le betalattamine, icarbapenem, gli aminoglicosidi ed il cloramfenicolo sono inutili per il trattamento dellelegionellosi in quanto non raggiungono concentrazioni intracellulari in grado di esplicare uneffetto antibatterico (Edelstein and Cianciotto, 2005). Sulla base di numerosi studi condotti in vitro misurando l'attività anti-Legionella (nellamaggior parte dei casi L. pneumophila sierogruppo 1) in macrofagi alveolari polmonari di cavie e, meno frequentemente, in monociti umani o altre linee cellulari, i chinoloni (in particolare lalevofloxacina) sono risultati superiori ai macrolidi Tra questi ultimi, azitromicina è apparsasuperiore a claritromicina, ed entrambi questi due farmaci si sono dimostrati superiori allaeritromicina (Edelstein and Cianciotto, 2005; Pedro-Botet and Yu, 2006). Sul piano clinico nonesistono studi prospettici randomizzati di paragone tra un macrolide ed un chinolone o fraantibiotici appartenenti alla stessa classe di farmaci nel trattamento della polmonite da Legionella. Infatti, gli unici dati disponibili in letteratura fanno riferimento a studiosservazionali. Tra questi quelli più validi in termini di numero di casi osservati sono tre, tuttipubblicati nel 2005 (Blazquez Garrido et al., 2005; Mykietiuk et al., 2005; Sabria et al., 2005):due sono retrospettivi ed uno prospettico. Visti nel loro complesso i dati cumulativi dei tre studiriguardarono 658 pazienti, di cui 221 trattati con un macrolide e 237 con un chinolone. Ipazienti trattati con il chinolone ebbero una più rapida defervescenza (mediamente in 66 ore, contro 97 ore con il macrolide), una minore durata della degenza ospedaliera (mediamente 6,6giorni, contro 9,0 con il macrolide) una minore incidenza di complicanze, quali ascessocavitazionepolmonare, empiema pleurico, shock settico, necessità di supporto respiratorio conventilazione meccanica (8,4% contro 18,5% con il macrolide) e una più bassa mortalità (2,1% contro 4,5% con il macrolide). Anche gli effetti collaterali indesiderati furono 12,5% con ilchinolone contro 23,4% con il macrolide. Nel considerare questi dati è importante tuttavia tener conto che, mentre tra i chinoloni ilfarmaco impiegato fu in tutti i casi, con solo 4 eccezioni, la levofloxacina, per i macrolidifurono impiegate due possibili opzioni: claritromicina, nella maggior parte dei casi, ederitromicina (Blazquez Garrido et al., 2005; Murdoch, 2003; Mykietiuk et al., 2005; Sabria etal., 2005). Giova ricordare che entrambi questi due macrolidi risultano meno efficaci diazitromicina nei confronti di Legionella in vari modelli di attività intracellulare; inoltre proprioazitromicina, unico dei macrolidi, ha dimostrato in alcuni esperimenti in vitro la stessaefficienza anti-Legionella dei chinoloni (Pedro-Botet and Yu, 2006). Pertanto sul piano cliniconon vi è al momento evidenza della superiorità dei chinoloni, e in particolare di levofloxacina, su azitromicina nel trattamento delle legionellosi. A far spostare l'ago della bilancia leggermente a favore della levofloxacina sono una serie diconsiderazioni. Innanzitutto esiste una vasta esperienza con questo farmaco, che è superiorerispetto a tutti gli altri farmaci anti-Legionella. Un dato estremamente impressionante fu lo 0% in termini di mortalità che fu registrato nei sei studi clinici condotti per la approvazione delfarmaco da parte della Food and Drug Administration (Yu et al., 2004). Infine, il più ampiospettro antimicrobico (esteso ai ceppi penicillina-macrolide resistenti di Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus meticillina sensibile, Pseudomonas aeruginosa e leenterobacteriaceae, che possono co-infettare pazienti resi immunodeficienti dalla stessa malattiada Legionella) di levofloxacina rispetto a tutti gli altri antibiotici anti-Legionella (Edelstein and Cianciotto, 2005). Azitromicina, come mostra la Tabella 4b, rappresenta comunque una primascelta nella terapia della legionellosi. Sulla base di tutte le osservazioni e considerazioni menzionate nel presente paragrafo, esintetizzando le opinioni riportate da esperti in trattati di riferimento (Edelstein and Cianciotto, 2005; Gilbert et al., 2008), è stata elaborata la Tabella 4 ove le varie opzioni terapeutiche sonoindicate in prima, seconda o terza scelta per il trattamento di polmoniti da Legionella condiverso grado di gravità e/o in pazienti con diverso grado di immunocompetenza.La durata delle varie terapie antibiotiche indicate in Tabella 4a e 4b si riferisce alle infezionipolmonari non complicate: ascessi polmonari, empiemi pleurici, endocarditi o altre infezioniextrapolmonari possono richiedere trattamenti assai prolungati, secondo il giudizio del clinicoinfettivologo. Deve essere sottolineato che le polmoniti da Legionella comportano alterazioniradiologiche che regrediscono assai lentamente, a volte solo dopo cinque-sei mesi, così come un"antigenuria che può persistere positiva per mesi (Edelstein and Cianciotto, 2005). Per questomotivo tali esami non vanno considerati per modificare la durata "standard" delle varie terapieantibiotiche.

Tabella 4a: Trattamenti raccomandati per polmonite di grado lieve\* in paziente non immunocompromesso

Antibiotico	Dosi e durata ** di trattamento		
Prima scelta:			
levofloxacina	500 mg per os ogni 24 ore per 7-10 gg.		
moxifloxacina	400 mg per os ogni 24 ore per 7-10 gg.		
ciprofloxacina	500 mg per os ogni 12 ore per 7-10 gg.		
azitromicina	500 mg per os ogni 24 ore per 3-5 gg.		
claritromicina	500 mg per os ogni 12 ore per 10-14 gg.		
Seconda scelta:			
eritromicina	500 mg per os ogni 6 ore per 10-14 gg.		
doxiciclina	200 mg per os prima dose, poi		
	100 mg ogni 12 ore per 10-14 gg.		

<sup>\*</sup>definizione di polmonite di "grado lieve":

Levofloxacina, ciprofloxacina, claritromicina, eritromicina, rifampicina richiedono aggiustamenti posologici in caso di insufficienza renale.

Moxifloxacina, azitromicina, doxiciclina non richiedono aggiustamenti posologici in caso di insufficienza renale.

Tabella 4b: Trattamenti raccomandati per polmonite di grado grave\* o in paziente immunocompromesso

Antibiotico	Dosi e durata** di trattamento
Prima scelta:	
levofloxacina	500-750 mg ev ogni 24 h. per 10-14 gg ***
azitromicina	500 mg ev ogni 24 h. per 7-10 gg ***
Seconda scelta:	
ciprofloxacina	400 mg ev ogni 8 ore per 14 gg o 750 per os BID ***
moxifloxacina	400 mg ev ogni 24 ore per 14 gg ***
Terza scelta:	
eritromicina	0.75-1gr ev ogni 6 ore per 3-7 gg., poi 500 mg ogni 6 ore per 21
	gg,
in combinazione con rifampicina	300-600 mg per os o ev ogni 12 ore per 5 gg

<sup>\*</sup>definizione di polmonite di "grado grave":

Levofloxacina, ciprofloxacina, claritromicina, eritromicina, rifampicina richiedono aggiustamenti posologici in caso di insufficienza renale.

Moxifloxacina, azitromicina, doxiciclina non richiedono aggiustamenti posologici in caso di insufficienza renale.

<sup>1. &</sup>quot;pneumonia severity index" score: classi I-III

<sup>2. &</sup>quot;CURB-65" score: classe I

<sup>\*\*</sup>La durata delle varie terapie antibiotiche raccomandate si riferisce alle infezioni polmonari: questa può essere significativamente più lunga nei pazienti con ascesso polmonare, empiema, endocardite o altre infezioni a sede extrapolmonare.

<sup>1.&</sup>quot;pneumonia severity index" score: classi IV e V.

<sup>2.&</sup>quot;CURB-65" score: classi II e III

<sup>\*\*</sup>La durata delle varie terapie antibiotiche raccomandate si riferisce alle infezioni polmonari: questa può essere significativamente più lunga nei pazienti con ascesso polmonare, empiema, endocardite o altre infezioni a sede extrapolmonare.

<sup>\*\*\*</sup> il passaggio dalla somministrazione endovenosa a quella orale può essere considerato nei pazienti clinicamente stabili, che migliorano prontamente dopo l'inizio della terapia endovenosa.

### 2. SORVEGLIANZA E INDAGINE EPIDEMIOLOGICA

- 2.1 La sorveglianza epidemiologica
- Obiettivi
- I principali obiettivi della sorveglianza epidemiologica della legionellosi sono:
- monitorare la frequenza di legionellosi sia dal punto epidemiologico che clinico, con
- particolare attenzione ai fattori di rischio per l'acquisizione della malattia;
- 🗗 identificare eventuali variazioni nell"andamento della malattia;
- identificare cluster epidemici di legionellosi dovuti a particolari condizioni ambientali al
- fine di evidenziare i fattori di rischio ed interrompere la catena di trasmissione.

## Definizione di caso

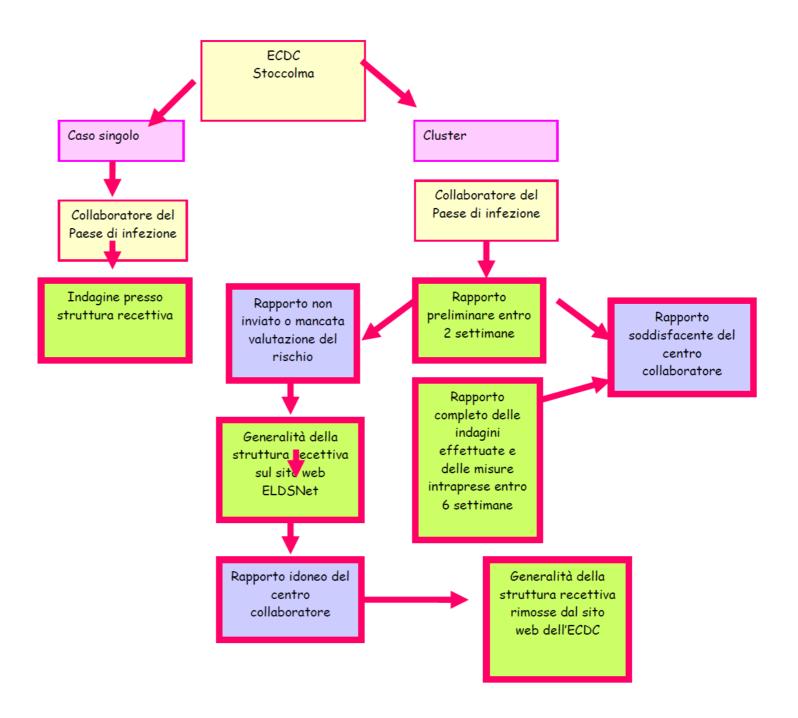
- La definizione di caso sotto riportata è stata aggiornata in accordo con la Decisione della Commissione Europea dell'8 agosto 2012 recante modifica della Decisione 2002/253/CE che stabilisce la definizione dei casi ai fini della dichiarazione delle malattie trasmissibili alla rete di sorveglianza comunitaria istituita ai sensi della Decisione n. 2119/98/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio. 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 da materiale organico (secrezioni respiratorie, broncolavaggio, tessuto polmonare, essudato pleurico, essudato pericardico, sangue) o da un sito; 2. riconoscimento dell'antigene specifico solubile nelle urine; 3. aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico verso L. pneumophila sg 1, rilevato sierologicamente tra due sieri prelevati a distanza di almeno 10 giorni.
- Caso probabile: 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. rilevazione di Legionella pneumophila nelle secrezioni respiratorie o nel tessuto polmonare mediante immunofluorescenza diretta utilizzando reagenti a base di anticorpi monoclonali; 2. identificazione dell'acido nucleico di Legionella in un campione clinico; 3. aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico, relativo a sierogruppi o specie diverse da L. pneumophila sg1; 4. singolo titolo anticorpale elevato (>1:256) verso L. pneumophila sg1

Tabella 5. Definizioni di caso in relazione all'esposizione. (Legionella and the prevention of legionellosis WHO, 2007)

Legionellosi	Definizioni di caso secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità
Caso associato all'assistenza sanitaria	Accertato: caso confermato mediante indagini di laboratorio verificatosi in un paziente ospedalizzato continuativamente per almeno 10 giorni prima dell'inizio dei sintomi.  Probabile: caso dilegionellosi in un .paziente ricoverato per 1-9 giorni nei 10 giorni precedenti l'inizio dei sintomi (con data di inizio dei sintomi tra il terzo e il nono giorno) in una struttura sanitaria associata:  -con uno o più precedenti casi di legionellosi oppure -in cui venga isolato un ceppo clinico identico (mediante tipizzazione molecolare) al ceppo ambientale isolato nello stesso periodo nell'impianto idrico della struttura sanitaria.  Possibile: caso di legionellosi in una persona ricoverata per un periodo variabile da 1 a 9 giorni nei 10 giorni precedenti l'inizio dei sintomi in una struttura sanitaria non precedentemente associata con casi di legionellosi e in cui non è stata stabilita un'associazione microbiologica tra l'infezione e la struttura stessa.
Caso associato a viaggi	Caso associato con soggiorno fuori casa di durata variabile da una a più notti, nei 10 giorni precedenti l'inizio dei sintomi, nel proprio paese di residenza o all'estero.
Cluster associato a viaggi/nosocomiale	Due o più casi che hanno soggiornato nella stessa struttura recettiva o sanitaria nell'arco di due anni.
Cluster comunitario	Aumento del numero di casi di malattia in una cerchia relativamente ristretta di popolazione e in un arco di tempo limitato (due o più casi correlati, ad es. per area di lavoro, di residenza o per luogo visitato, fino ad un massimo di 10 casi)
Focolaio epidemico (o epidemia) comunitario	Aumento del numero di casi di malattia (>10) in una cerchia relativamente ristretta di popolazione e in un arco di tempo limitato con forte sospetto epidemiologico di comune sorgente di infezione con o senza evidenza microbiologica.

- Il sistema di notifica La notifica dei casi di legionellosi è obbligatoria, secondo le indicazioni del D.M. 15/12/90 e successive integrazioni. Tale decreto è in corso di aggiornamento, ai fini del recepimento delle decisioni n. 2119/98/CE, n. 2002/253/CE e n. 2012/506/UE del Parlamento e del Consiglio europeo, riguardanti la rete di sorveglianza comunitaria, la definizione dei casi ai fini della dichiarazione delle malattie trasmissibili e le reti di sorveglianza dedicate per le malattie trasmissibili L'invio della notifica secondo il DM 15/12/90 non sostituisce l'invio della scheda di sorveglianza (Allegato 7), secondo quanto previsto dalla Circolare 400.2/9/5708 del 29/12/93 e sue successive modifiche. I dati riguardanti i casi notificati di legionellosi sono pubblicati annualmente sul Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità, stratificati per regione, provincia, età esessohttp://www.iss.it/index.php?id=30&lang=1&tipo=45. Inoltre è possibile consultare unasintesi della sorveglianza epidemiologica relativa al periodo 2000-2011 nella pubblicazione diRota et al. 2013.
- Il sistema di sorveglianza speciale: il registro nazionale della legionellosill medico che pone la diagnosi deve compilare la scheda di sorveglianza (Circolare400.2/9/5708 del 29/12/93 e successive integrazioni) che deve essere inviata alla ASL di competenza, al Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute(CNESPS) e al Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate (DMIPI)dell"ISS entro 48 ore. I ceppi clinici di Legionella eventualmente isolati dal materiale biologico del paziente devono essere inviati per la tipizzazione o la conferma al Laboratorio Nazionale di Riferimentoper la legionellosi del DMIPI. L'invio dei ceppi isolati da matrici ambientali, deve avvenire in tutti i casi in cui si sono verificati dei cluster o nei casi in cui è possibile effettuare un confrontotra il ceppo clinico e quello ambientale correlato. I risultati della tipizzazione/conferma o del confronto tra ceppi clinici e ambientali vengono comunicati ai laboratori e alle ASL/regioni cheli hanno inviati. Poiché, la scheda di sorveglianza deve essere inviata all'ISS entro 48 ore dalla diagnosi, anche se incompleta, tutte le informazioni raccolte successivamente (ad es. data di dimissione, esito della malattia, esito delle indagini, ecc.), devono essere re-inviate all'ISS.I dati contenuti nella scheda di sorveglianza speciale (anagrafici, statistico-epidemiologici, clinici) vengono elaborati periodicamente e annualmente viene redatto un rapporto informativosui risultati della sorveglianza (Notiziario ISS, http://www.iss.it/publ/?lang=1) La ricerca di Legionella è tecnicamente difficile, richiede laboratori specializzati e accreditati per la ricerca di Legionella e personale addestrato. Per questo motivo, ai fini di unaefficace sorveglianza sul territorio nazionale è stata costituita una rete di Laboratori individuati dalle Regioni, in base ai requisiti necessari per svolgere attività di diagnosi e controllo perLegionella spp., organizzati in livelli gerarchici, con ordine crescente di res
- La sorveglianza internazionale della legionellosi nei viaggiatori Parallelamente al sistema di sorveglianza dei casi italiani, esiste dal 1986 un programma disorveglianza internazionale della legionellosi nei viaggiatori che è stato coordinato fino al 1993dal National Bacteriology Laboratory di Stoccolma e dal 1994 a marzo 2010 dall''HealthProtection Agency di Londra Tale programma, al quale aderisce anche l'Italia, attualmente denominato ELDSNet ecoordinato dall''European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) di Stoccolma, sibasa su una rete di collaboratori nominati dal Ministero della Salute dei vari Paesi. I collaboratori di ELDSNet, in genere due per ogni paese (un microbiologo e un epidemiologo)sono incaricati di raccogliere e trasmettere informazioni relative ai viaggi e alle indagini epidemiologiche ed ambientali effettuate per tutti i casi, sia italiani che stranieri, di legionellosiassociata ai viaggi che si verificano nel loro paese. I casi vengono generalmente notificati dai collaboratori del paese di residenza del turista alcentro di coordinamento di Stoccolma (occasionalmente è possibile che la notifica venga fattada un Paese diverso da quello di residenza del paziente) tramite una password protetta del sitoELDSNet. I casi devono essere notificati appena si hanno le informazioni epidemiologiche, microbiologiche e relative al viaggio. Il caso viene inserito nel database internazionale e il centro di coordinamento verifical''esistenza di altri casi collegati alla stessa struttura recettiva. Se non ce ne sono, il centro dicoordinamento notifica immediatamente il caso singolo al collaboratore del paese in cui è statacontratta l''infezione, che deve attivare l''indagine epidemiologica ed ambientale. La Figura 1 illustra i flussi informativi e le procedure d''intervento da attuare in presenza dicasi di legionellosi associata ai viaggi.

• L"ELDSNet segnala all'Istituto Superiore di Sanità (CNESPS e DIPMIPI) i casi dilegionellosi che si sono verificati in viaggiatori stranieri che hanno trascorso un periodo inItalia, riportando informazioni sulle strutture recettive in cui hanno soggiornato i pazienti e chepotrebbero rappresentare le fonti dell'infezione. Il CNESPS provvede, a sua volta, a segnalare icasi alle competenti Autorità delle Regioni e delle ASL coinvolte, al fine di attivare l'indagineambientale ed epidemiologica locale.Il risultato finale delle indagini che i referenti regionali e di ASL inviano all'ISS viene poitrasmesso al gruppo di lavoro europeo.



- Cluster di casi L'identificazione di un cluster (due o più casi di legionellosi associati al soggiorno presso lamedesima struttura recettiva nell'arco di due anni) richiede una risposta immediata da parte dell'ECDC e del collaboratore del paese nel quale è stata contratta l'infezione. Il cluster vieneinserito nel database internazionale e tutti i collaboratori ELDSnet vengono immediatamenteinformati. Anche l''Organizzazione Mondiale della Sanità viene informata di tutti i clusterassociati a strutture recettive, verificatisi sia nei Paesi appartenenti alla rete di sorveglianza che in quelli non appartenenti alla rete europea. Qualora il paese coinvolto non faccia parte dallarete, l''OMS provvede ad informare il Ministero della Salute del paese interessato (Europeanguidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease, 2004).
- Risposta del collaboratore nel paese in cui è stata contratta l'infezione Il collaboratore deve informare l'autorità sanitaria locale competente affinché venga organizzata tempestivamente l'ispezione della struttura, la valutazione del rischio, l'indagineambientale e l'attuazione di idonee misure di controllo.
- Rapporto preliminare entro due settimane Il collaboratore è tenuto a inviare entro due settimane dalla notifica di un cluster un rapportopreliminare all"ECDC (Modulo A, Allegato 9) in cui si specifica se è avvenuta o menoun"ispezione e una valutazione del rischio nella struttura. Il periodo di due settimane ha iniziouna volta che i dettagli relativi alla struttura recettiva (ad es. nome e indirizzo) siano stativerificati come corretti dal collaboratore del paese in cui è stata contratta l'infezione. Il rapportodeve anche specificare se sono in corso misure di controllo e se la struttura rimane aperta omeno. Qualora il rapporto preliminare non venga inviato entro i termini indicati, ovvero nel caso incui tale rapporto indichi la mancata attuazione della valutazione del rischio o l'inadeguatezza delle misure di controllo intraprese, i collaboratori di tutti i Paesi verranno informati e il nomedell'albergo verrà reso noto sulla sezione del sito dell'ECDC (ELDSNet) accessibile alpubblico. Questa segnalazione rimarrà sul sito finché non verrà inviato un rapporto che comunichi la messa in atto di idonee misure di controllo.
- Rapporto finale entro sei settimane dalla notifica del cluster Dopo ulteriori quattro settimane (cioè dopo 6 settimane dalla notifica), è necessario inviareal centro di coordinamento un rapporto conclusivo (Modulo B, Allegato 10) che descrive leindagini e le misure di controllo intraprese, compresi i risultati del campionamento effettuato. Se questo rapporto non viene inviato o se riporta che le misure di controllo sono insoddisfacenti, il nome della struttura recettiva viene pubblicato sul sito web dell'ECDC(http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/ELDSNet/Pages/Index.aspx). Il nomedella struttura viene cancellato dal sito solo a fronte di un rapporto che dichiari che sono stateintraprese misure di controllo adeguate.

## 2.2. Indagine epidemiologica

- L'indagine epidemiologica ha l'obiettivo di identificare la possibile fonte di infezione, lapresenza di altri casi correlati alla stessa fonte di infezione e l'esistenza di altri soggetti esposti allo stesso rischio per attuare adeguate misure di controllo del rischio e della contaminazione.
- A seguito della segnalazione di un caso di legionellosi è compito dei servizi territoriali effettuare l'inchiesta epidemiologica finalizzata a stabilire se il caso è collegato a un viaggio e quindi alla permanenza in strutture turistico-recettive, se ha origine nosocomiale o lavorativa, oppure se la malattia è associata al proprio domicilio. Inoltre devono essere raccolte tutte le informazioni previste per la compilazione della schedadi sorveglianza. Tranne che in caso di legionellosi associata a esposizioni note (ad es.: cure termali, strutturerecettive, ospedali, ecc.) in cui le strutture interessate devono immediatamente effettuare un'indagine ambientale con prelievo di campioni, l'indagine in presenza di un caso isolato, senza esposizioni ambientali a rischio, non necessita, in genere, di essere corredata da prelievi ambientali sistematici al domicilio del malato.
- Considerata la molteplicità delle fonti potenziali e dell'ampia diffusione di *Legionella*nell'ambiente, la decisione di effettuare l'indagine presso l'abitazione del malato è lasciata al competente servizio territoriale che deve valutare di volta in volta l'opportunità di effettuare o meno dei campionamenti ambientali, sulla base della valutazione dei rischio.L'approfondimento 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 pazienteaffetto da legionellosi, di informazioni precise su una eventuale esposizione a rischio nei 10giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi.
- L'anamnesi deve approfondire almeno i punti seguenti: Professione, esposizione ad acqua nebulizzata sul luogo di lavoro. Luogo di soggiorno frequentato: abitazione, ospedale, casa di cura, casa di riposo, strutture turistico-recettive. Frequentazione di impianti termali, impianti natatori, centri sportivi, centri benessere, utilizzo di idromassaggi. Partecipazione a crociere, fiere, esposizioni. Terapia respiratoria, trattamenti odontoiatrici. Frequentazione di ambienti climatizzati e/o ad uso collettivo.

- **Casi isolati** I casi isolati di legionellosi necessitano di essere validati da un'anamnesi approfondita e eventualmente confermati da un secondo esame di laboratorio.
- I passi da intraprendere, in presenza di un caso singolo, sono i seguenti: conferma della diagnosi ricerca dell'esposizione mediante anamnesi mirata: frequentazione di luoghi a rischio nei10 giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi; notifica alle autorità sanitarie. Se si tratta di una legionellosi associata ai viaggi comunicare la data e il luogo esatto del soggiorno (città, struttura recettiva, numero distanza) perché questo tipo d'infezione è sottoposto a notifica internazionale (ELDSNet); aumentata vigilanza verso la segnalazione ripetuta di situazioni simili; un caso confermato per il quale si sospetta un'infezione di origine nosocomiale, associataai viaggi, professionale o termale, richiede indagini supplementari. Ricerca di altri casi, ispezione dei luoghi, ricerca di Legionella nell'acqua; in alcune situazioni particolari (ad esempio in pazienti immunodepressi) sonoparticolarmente raccomandati dei controlli sulla rete idrica domestica

- **Cluster** In presenza di 2 o più casi di supposta origine comune, è necessario identificare la fonte diinfezione. Se l'anamnesi non evidenzia alcuna esposizione a rischio comune, può essereimpossibile trovare l'origine dell'infezione. Dopo un'analisi descrittiva, possono esserenecessarie un'indagine ambientale e uno studio epidemiologico-analitico (coorte, casocontrollo).
- I passi da intraprendere, in presenza di un cluster o di un focolaio epidemico, sono i seguenti: conferma di laboratorio della diagnosi. Si raccomanda, quando possibile, coltura dellesecrezioni bronchiali o dell'espettorato e tipizzazione del germe in causa; notifica immediata alle autorità sanitarie e all'ISS (da completare in seguito con i risultatidell'indagine epidemiologica); ricerca di altri possibili casi nei co-esposti alla stessa fonte e conferma della diagnosi; descrizione della distribuzione nel tempo e nello spazio dei casi confermati, dei casipossibili e eventualmente dei casi dubbi. Rappresentazione grafica della curvaepidemica; ricerca delle caratteristiche comuni: interviste sul luogo di soggiorno e attività svolte nei10 giorni precedenti la malattia; formulazione di ipotesi riguardo all'origine dell'infezione; a seconda della dimensione del problema e delle ipotesi emerse dall'analisi descrittivaeffettuare indagini ambientali e confronto dei ceppi di *Legionella* isolati dal malato conquelli ambientali; per la tipizzazione e il confronto inviare gli isolati a un laboratorio diriferimento (regionale o nazionale); ricerca della fonte d'infezione con uno studio epidemiologico-analitico.
- In Allegato 11 è riportato un esempio di questionario da utilizzare per l'indagineepidemiologica di un focolaio di casi di legionellosi di origine comunitaria..

## 3. PROTOCOLLO DI CONTROLLO DEL RISCHIOLEGIONELLOSI 3.1. Introduzione

- Il Protocollo di Controllo del Rischio legionellosi si divide in tre fasi sequenziali e correlatetr a loro: Valutazione del rischio: indagine che individua le specificità della struttura e degli impianti in essa esercitati, per le quali si possono realizzare condizioni che collegano la presenza effettiva o potenziale di Legionella negli impianti alla possibilità di contrarre l'infezione. Le informazioni relative alla Valutazione del rischio ed al relativo Piano di Controllo devono essere comunicate dall'incaricato della Valutazione al gestore della struttura o a un suo preposto che, a loro volta, dovranno informare tutte le persone che sono coinvolte nelcontrollo e nella prevenzione della legionellosi nella struttura. • Gestione del rischio: tutti gli interventi e le procedure volte a rimuovere definitivamente o a contenere costantemente le criticità individuate nella fase precedente. Qualsiasi intervento manutentivo o preventivo attuato deve essere il risultato di una strategia che preveda un gruppo di lavoro multidisciplinare, che consideri tutte le caratteristiche dell'impianto e lepossibili interazioni nell'equilibrio del sistema. • Comunicazione del rischio: tutte le azioni finalizzate a informare, formare, sensibilizzare isoggetti interessati dal rischio potenziale (gestori degli impianti, personale addetto alcontrollo, esposti, ecc.). A tale scopo l'informazione e la formazione sono un elemento essenziale per garantire lacorretta applicazione delle indicazioni per la prevenzione ed il controllo della legionellosi. Tale aspetto è valido nei riguardi di qualunque struttura nella quale siano esercitati impianti a rischiolegionellosi. E" quindi auspicabile che i Dipartimenti di Prevenzione delle ASL organizzino attività formative /informative rivolte a: ✓ tecnici progettisti ✓ impiantisti ✓ albergatori e le loro associazioni di categoria responsabili di: strutture nosocomiali, strutture di riposo per anziani, edifici penitenziari, impianti sportivi, natatori, centri benessere, strutture ad uso collettivo (ricoveri, teatri, cinema, centri commerciali, ecc.) e in generale di tutti gli edifici pubblici responsabili (Direttori, Responsabili del Servizio di Prevenzione e Protezione) della tutela della salute e sicurezza dei lavoratori nei siti civili, industriali, produttivi e le loroassociazioni di categoria, con l'obiettivo di favorire l'acquisizione delle conoscenze necessarie a controllare l'interociclo d'analisi e riduzione del rischio, adottando le migliori soluzioni impiantistico-gestionaliatte a minimizzare il rischio nell'ambito delle rispettive strutture di competenza. Dipartimenti di Prevenzione delle ASL dovranno inoltre valutare l'opportunità di informare i medici e la popolazione generale sulle misure utili a ridurre il rischio, in particolare, presso le proprie abitazioni, soprattutto laddove vi siano pazienti immunocompressi.
- È necessario che il Protocollo venga applicato in ogni struttura (sia civile sia industriale) nel quale siano presenti impianti potenzialmente a rischio legionellosi. A seguire, sono riportati i riferimenti specifici alle comuni differenti tipologie di struttura ed"impianto a rischio legionellosi, al fine di fornire una guida nell"applicare il Protocollo delrischio (in particolare le fasi 1 e 2) nella maniera più adeguata alle specificità di ogni singolocaso (rif. Decreto Legislativo 9 Aprile 2008, n. 81 e successive modifiche).

#### 3.2. Valutazione e gestione del rischio nelle struttureturistico-recettive

Molti studi hanno dimostrato l'ampia diffusione del genere Legionella nei sistemi idrici dellestrutture turistico-recettive e termali (Bonetta et al., 2010, Borella et al., 2005, Bornstein et al., 1989; Castellani et al., 1999; Costa et al., 2010; Erdogan and Arslan, 2007; Kura et al., 2006; Martinelli et al., 2001; Mouchtouri et al., 2007). Per questo motivo e per le importanti ricadutein termini di salute pubblica, di immagine e di implicazioni legali è importante adottare misuredi prevenzione e controllo attraverso una attenta valutazione e gestione del rischio. Valutazione del rischio Per un'efficace prevenzione è d'obbligo che il gestore di ogni struttura turisticorecettivaeffettui con periodicità (biennale, preferibilmente annuale) la valutazione del rischiolegionellosi, ovvero del rischio che nella struttura possano verificarsi uno o più casi di malattia. La valutazione deve essere effettuata da una figura competente, responsabile dell'esecuzione ditale attività (ad es. igienista, microbiologo, ingegnere con esperienza specifica, ecc.).La valutazione del rischio è fondamentale per acquisire conoscenze sulla vulnerabilità degliimpianti in termini di: potenziali di proliferazione batterica al loro interno e di esposizione ad aerosol d'acquache essi possono determinare; • stima del possibile impatto potenzialmente causato dagli impianti sulla salute dei loroutenti e, più in generale dei frequentatori (lavoratori compresi); definizione ed implementazione delle contromisure adeguate a mitigare il rischio, con unimpegno di sforzi e risorse commisurati al potenziale impatto. Una corretta valutazione del rischio correlato ad una struttura turistico-recettiva deve partireda un"ispezione degli impianti a rischio, supportata, qualora disponibili, dagli schemid"impianto aggiornati. Tale analisi ispettiva deve essere finalizzata ad individuare i punti critici di ciascun impiantoa rischio, in considerazione delle condizioni di esercizio e manutenzione che lo caratterizzano. In base all'ispezione ed agli schemi d'impianto disponibili, deve essere valutato quali siano ipunti della rete (idrica ed aeraulica) e le specifiche d'esercizio e di controllo che possanodeterminare un rischio per gli ospiti e per i dipendenti della struttura. L'ispezione della struttura deve essere accurata, per poter evidenziare eventuali fonti dirischio e valutare, nella loro complessità, gli impianti e non solamente i loro singoli componenti. Il Rischio legionellosi dipende da un certo numero di fattori. A seguire, si elencano quelli piùimportanti, di cui tenere sempre in debito conto: Temperatura dell'acqua compresa tra 20 e 50°C. Presenza di tubazioni con flusso d'acqua minimo o assente (tratti poco o per nullautilizzati della rete, utilizzo saltuario delle fonti di erogazione). > Utilizzo stagionale o discontinuo della struttura o di una sua parte. Caratteristiche e manutenzione degli impianti e dei terminali di erogazione (pulizia, disinfezione). > Caratteristiche dell'acqua di approvvigionamento a ciascun impianto (fonte dierogazione, disponibilità di nutrimento per *Legionella*, presenza di eventualidisinfettanti). Vetustà, complessità e dimensioni dell'impianto. Ampliamento o modifica d'impianto esistente (lavori di ristrutturazione). Dell'internationale dispositivi di tenuta. Presenza e concentrazione di Legionella, evidenziata a seguito di eventuali pregressiaccertamenti ambientali (campionamenti microbiologici). Nell''Allegato 12, è riportata una Lista di controllo per agevolare la raccolta delleinformazioni base di riferimento per l'effettuazione di una preliminare stima dei fattori dirischio presenti in una determinata struttura. È importante evidenziare che la Lista di controllo rappresenta solo il primo passo di Valutazione del Rischio legionellosi, in quanto è necessario elaborare ed approfondire i datiraccolti, in maniera tale da poter definire, su una scala la gravità del rischio e le relative prioritàd"intervento. Per tale ragione, maggiore è la complessità impiantistica maggiore è l'esperienza di cui ilvalutatore del rischio deve disporre per definire con precisione il livello di rischio e le relativeazioni di gestione necessarie a controllarlo.

- Periodicità della valutazione del rischio I gestori di strutture recettive devono effettuare e revisionare regolarmente la valutazione del rischio, almeno ogni 2 anni (preferibilmente ogni anno) ed ogni volta che ci sia motivo di considerare che la situazione possa essersi modificata (ad esempio: lavori di ristrutturazioni o rifacimento di parti d'impianto, esame batteriologico positivo con valori di legionella che richiedono intervento. Vedi Tabelle 6 e 7). La revisione deve essere documentata formalmente. La valutazione del rischio, deve, comunque, essere sottoposta a revisione, con carattere d'urgenza, ad ogni segnalazione di un possibile caso di legionellosi. In base ai risultati complessivi della valutazione del rischio, andrà preparato, anche conl'ausilio di personale tecnico qualificato, un Piano scritto per il controllo e la manutenzione di ciascun impianto a rischio, che specifichi tutti gli interventi da mettere in atto per controllarlo, con particolare riferimento alle procedure di pulizia e disinfezione e loro relativa periodicità.
- **Gestione del rischio** Per assicurare una riduzione ed un controllo del rischio legionellosi è necessario che i gestori di strutture recettive adottino le misure preventive riportate nelle presenti Linee guida alCapitolo 4.Nel caso in cui queste misure di controllo non possano essere tutte immediatamente messe in atto e in una struttura turistico-recettiva si valuti la presenza di un potenziale rischio derivante da uno o più impianti (ad esempio la temperatura dell'acqua calda sanitaria è diversa da quella raccomandata oppure vi è la presenza di rami morti nella rete di distribuzione idrica od altro)occorre effettuare celermente un campionamento dell'acqua per la ricerca di *Legionella*. In relazione alla concentrazione di *Legionella* riscontrata dal campionamento (vedi Tabelle 6e 7), è necessario definire, sempre con l'ausilio di un'adeguata valutazione del rischio, un programma per applicare prioritariamente quelle misure correttive tali da contenere il rischio evidenziato. Fino a quando non sia possibile mettere in atto tutte le misure correttive e di mantenimentorichieste dalla valutazione del rischio, il campionamento ambientale dovrà essere ripetuto mensilmente per i primi sei mesi e successivamente con cadenza da stabilirsi sulla basedell'analisi complessiva del rischio. Se si rendesse necessario effettuare la disinfezione di uno o più impianti, il piano di controlloandrà aggiornato, tenendo conto della periodicità di campionamento da rivalutarsi a seguitodella situazione occorsa.
- Per le strutture a funzionamento stagionale, il campionamento dovrà, comunque, essere **sempre** effettuato prima della loro riapertura.

- **Campionamento** Il campionamento deve essere effettuato prima che venga attuato un qualunque intervento di disinfezione o pratica preventiva (pulizia e/o disinfezione con qualunque metodo) oppure a distanza di un tempo congruo dalla sua esecuzione (rif. dopo circa 48 ore dall'avvenuta messa aregime dell'impianto post intervento). Il protocollo operativo per effettuare il campionamento è descritto nell'Allegato 3.E" opportuno che il numero di campioni sia proporzionato alle dimensioni dell'impianto.
- Per ciascun impianto di acqua calda sanitaria devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi: 
  mandata (oppure dal rubinetto più vicino al serbatoio/i• ricircolo• fondo serbatoio/i• almeno 3 punti 
  rappresentativi (ovvero i più lontani nella distribuzione idrica e i più freddi) Per ciascun impianto di acqua 
  fredda devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi: fondo serbatoio/i• almeno 2 in punti 
  rappresentativi (ovvero il più lontano nella distribuzione idrica ed il più caldo).

## Esiti del campionamento

- Nelle Tabelle 6 e 7 che seguono sono descritti gli interventi da effettuare, sulla base delle concentrazioni di *Legionella* rilevate negli impianti idrici, in presenza o meno di casi di legionellosi. Si sottolinea che il riscontro di positività in un impianto non comprova in modo automatico il nesso di causalità con un eventuale caso di malattia. La *Legionella*, infatti, è un batterio ubiquitario e, quindi, il suo ritrovamento in un sito ambientale non è correlabile in maniera univoca al caso, a meno che gli accertamenti di biologia molecolare non evidenzino un alto grado di omologia con il ceppo isolato dal malato.
- La ricerca del batterio ha comunque significato in termini epidemiologici ed anche preventivi nei confronti di altri soggetti esposti. Si precisa che le indicazioni riportate nelle Tabelle 6 e 7 sono da intendersi valide anche per gli impianti esercitati presso tutti gli altri siti civili e per tutti i siti industriali, ad esclusionedi:1. Strutture nosocomiali/sanitarie 2. Impianti che erogano acque termali. 3. Impianti di umidificazione dell'aria che utilizzano acqua. in quanto, le situazioni indicate al punto 1 e 2 devono essere contraddistinte da assenza di Legionella (ossia inferiore al limite di rilevabilità del Metodo d'analisi normato utilizzato).

Tabella 6. Tipi di intervento indicati per concentrazione di *Legionella* (UFC/L) negli impianti idrici a rischio legionellosi esercitati in tutti i siti.

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto	
Sino a 100	Verificare che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate.	
Tra 101 e 1.000	In assenza di casi:  Verificare che la struttura abbia effettuato una valutazione del rischio e che le misure di controllo elencate nelle presenti lineeguida siano correttamente applicate.	
	In presenza di casi: Verificare che siano in atto le misure di controllo elencate nelle presenti lineeguida, sottopporre a revisione la specifica valutazione del rischio e effettuare una disinfezione dell'impianto	
Tra 1001 e 10.000	In assenza di casi: -Se meno del 20% dei campioni prelevati risulta positivo l'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate. Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato,dopo l'applicazione delle misure correttive.	
	-Se oltre il 20% dei campioni prelevati risultano positivi, è necessaria la disinfezione dell'impianto e deve essere effettuata una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi.	
	In presenza di casi: A prescindere dal numero di campioni positivi, è necessario effettuare la disinfezione dell'impianto e una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato dopo la disinfezione, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi	
Superiore a 10.000	Sia in presenza che in assenza di casi, l'impianto deve essere sottoposto a una disinfezione (sostituendo i terminali positivi) e a una revisione della valutazione del rischio.  L'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi.	

- Dopo la disinfezione dell"impianto, il controllo microbiologico deve essere ripetuto periodicamente come segue, se non altrimenti disposto: • dopo circa 48 ore dalla disinfezione. • Se il risultato è negativo, dopo 1 mese. • Se anche il secondo controllo risulta negativo, dopo 3 mesi. • In caso si confermi, anche con il terzo controllo la negatività, dopo 6 mesi operiodicamente, secondo quanto previsto dalla valutazione e dal relativo Piano di controllo del rischio. Nel caso in cui uno dei campionamenti evidenzi positività, essa dovrà comportare un'ulteriore azione di controllo da valutarsi sulla base delle Tabelle 6-7 e di quanto raccomandato dal responsabile della valutazione del rischio e/o dall"Organo di Controllo.
- Il Dipartimento di Prevenzione o altro organo di controllo, per quanto di competenza, può disporre controlli.

Tabella 7 - Tipi di intervento indicati per concentrazioni di Legionella (UFC/L) negli impianti di raffreddamento a torri evaporative o a condensatori evaporativi.

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Sino a 1.000	Verificare che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate.
Tra 1.001 e 10.000	L'impianto idrico deve essere ricampionato, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate e dopo aver incrementato il dosaggio di un biocida appropriato.
	Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una revisione della valutazione del rischio per identificare le necessarie ulteriori misure correttive.
Tra 10.000 e 100.000	Effettuare una disinfezione con un biocida appropriato e la revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive, quale l'eventuale pulizia meccanica del bacino dell'impianto a supporto della disinfezione.
Maggiore di 100.000	Fermare l'impianto, effettuare una disinfezione con un biocida appropriato e la revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive, quale l'eventuale pulizia meccanica del bacino dell'impianto a supporto della disinfezione.  Riavviare l'impianto quando l'esito del campionamento dopo disinfezione torna a livelli <1000 UFC/L

### Vasche idromassaggio

- Le vasche idromassaggio sono note per essere causa di casi di Malattia dei Legionari e, soprattutto quelle di grandi dimensioni, possono rappresentare un rischio anche quando nonvengono usate da bagnanti (ad es. anche quando vengono utilizzate a scopo dimostrativo)(Coetzee N. et al, 2012). Molta attenzione deve essere posta alla costruzione, mantenimento epulizia di tutte le parti e al regolare trattamento dell'acqua per prevenire e controllare il rischio di infezione. Per vasche idromassaggio si intendono vasche o piscine di piccole o grandi dimensioni in cuil"acqua calda viene continuamente fatta ricircolare attraverso getti ad alta velocità. Latemperatura dell"acqua è generalmente superiore ai 30°C e l"agitazione a cui è sottoposta genera un aerosol sopra la superficie dell'acqua. L'acqua non viene cambiata dopo ogni utilizzatore, ma viene filtrata e trattata chimicamente. Effettuare la sostituzione, almeno giornaliera, di metàdell acqua delle vasche per idromassaggio collettive (solo per vasche ≤ a 10 m3), in condizioni dielevato utilizzo e qualora il monitoraggio microbiologico indicato nei punti successivi, abbiaindividuato rischi specifici. Il trattamento non si applica alle piscine natatorie. Le piscine devono essere dotate di un filtro a sabbia adatto per piscine e questo dovrebbeessere lavato in contro corrente ogni giorno. Filtri di carta o poliestere non devono essereutilizzati per scopi commerciali, oppure in centri termali o in alloggi per vacanze. La piscina deve essere trattata automaticamente continuamente con un biocida ossidante, preferibilmente cloro, idealmente iniettato a monte del filtro. Il dosaggio a mano non deve essere usato se non incaso di emergenza. Il cloro libero residuo dovrebbe raggiungere e mantenersi nellaconcentrazione di 0,7-1,5. Il pH dovrebbe essere 7,0-7,6. Le pompe e i sistemi di disinfezionedevono essere lasciati in funzione 24 ore al giorno. La concentrazione del disinfettante residuo eil pH dovrebbe essere misurato prima dell'uso e ogni due ore durante l'uso. Piscine in esposizione presso fiere, centri commerciali, ecc., devono essere trattate nello stesso modo. Maggiori dettagli sulla manutenzione di piscinetermali sono indicate nel libretto di Gestione di piscine termali: Controllo del rischio diinfezione (HPA &HSE 2006) e in Surman-Lee et al. 2007.
- Campionamento nelle vasche idromassaggio Il campionamento per la ricerca di *Legionella* deve essere effettuato una volta ogni 3 mesi,r accogliendo un litro d'acqua dalla piscina e, se presente, dalla vasca di compenso. In alcuneindagini sono state riscontrate basse concentrazioni di *Legionella* nell'acqua della piscina almomento del campionamento sebbene nei filtri e nel biofilm all'interno dei tubi erano presenti grandi quantità di *Legionella*. Questo probabilmente riflette il tipo e il posizionamento deltrattamento biocida e zone all'interno della tubazione in cui l'effetto biocida non penetravaadeguatamente. Pertanto, è anche importante ispezionare le tubature ei tubi di circolazionedell'aria e dell'acqua per la presenza di biofilm contenente *Legionella*. Campioni di biofilmdevono essere raccolti con tamponi dall'interno dei getti e alcune sezioni di questi tubi. Talvoltaè possibile farlo rimuovendo un getto ma molto spesso sezioni di tubo dovrà essere tagliato perottenere l'accesso adeguato.L"acqua della vasca deve essere testata microbiologicamente una volta al mese per la contamicrobica aerobica totale, coliformi, *E. coli e Pseudomonas aeruginosa*. La conta microbica aerobica totale a 37°C deve essere <100 UFC/mL e preferibilmente <10 UFC/mL; *Pseudomonas aeruginosa* dovrebbe essere presente in concentrazioni <10 UFC in 100 mL e i coliformi assenti in 100 ml.

Tabella 8 - Tipi di intervento indicati per concentrazioni di *Legionella* (UFC/L) nelle vasche per idromassaggio.

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Sino a 100	Verificare che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate.
Più 100 fino a 1000	L'impianto idrico deve essere ricampionato, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate.  Drenare l'acqua e riempire di nuovo la vasca. Ripetere il test il giorno successivo e 1-4 settimane più tardi.  Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una revisione della valutazione del rischio per identificare le necessarie ulteriori misure correttive.
Maggiore di 1000	Chiudere immediatamente la piscina e escludere il pubblico dall'area circostante Effettuare una clorazione shock con 50 mg/L di cloro per un'ora facendo circolare l'acqua e assicurando che tutte le parti dell'impianto siano disinfettate. Svuotare e pulire e disinfettare di nuovo con le stesse modalità. Rivedere la valutazione e il controllo del rischio e effettuare tutte le misure correttive individuate. Riempire la vasca e ripetere il campionamento il giorno successivo e 1-4 settimane più tardi. Tenere chiuso l'impianto fino a che la concetrazione di Legionella torni ad essere <100CFU/L e la valutazione del rischio non sia soddisfacente.

## 3.3. Valutazione e gestione del rischio negli stabilimenti termali

La definizione di acqua termale è indicata nella legge 24/10/2000, n. 323 (art. 2, comma 1,lett. a) acque termali: le acque minerali naturali, di cui al regio decreto 28 settembre 1919, n.1924, e successive modificazioni, utilizzate a fini terapeutici. Molte acque termali sono calde (temperatura maggiore di 20°C, alcune anche maggiore di 60°C), ma la sola temperatura non è un parametro che le contraddistingue dalle acque mineralinaturali poiché esistono acque termali fredde. Altra caratteristica delle acque minerali termali è quella di possedere, a volte, una florabatterica propria, che favorisce il formarsi di biofilm sulle superfici di contatto. Le applicazioni termali individuate nel Decreto del Ministro della Sanità 15 dicembre 1994sono: fanghi, con o senza "doccia d"annettamento", bagni con o senza idromassaggio, grotte, cure inalatorie (inalazioni, nebulizzazioni e polverizzazioni, aerosol, docce nasali, humages), insufflazioni endotimpaniche, irrigazioni vaginali, docce rettali, cure idroponiche, percorsivascolari. In relazione alle caratteristiche delle acque termali, della patologia da trattare, dell"applicazione termale, l"acqua può essere utilizzata tal quale, trattata o diluita con acqua di acquedotto, per ridurne la densità per i bagni, ove il trattamento e/o la diluizione siano espressamente previsti e consentiti nell"ambito del riconoscimento ministeriale dell'acqua termale e delle relative proprietà e utilizzi dell'acqua medesima. Gli stabilimenti e gli alberghi termali, in ambienti diversi da quelli dedicati alle cure, da anni ormai integrano l'offerta delle prestazioni terapeutiche con quelle più propriamente di benessere. Le prestazioni comprendono: bagni con idromassaggio, docce filiformi, "docce francesi", bagno turco, sauna, fanghi, massaggi, piscine con zone con idromassaggio, ecc. Le caratteristiche della microflora tipica delle acque termali ed il fatto che queste siano utilizzate a temperature per lo più comprese tra i 30 ed i 40°C costituiscono condizioni favorenti lo sviluppo e la sopravvivenza di Legionella. Le apparecchiature/le cure termali per le quali maggiore è il rischio di trasmissione possono essere: cure inalatorie (inalazioni, aerosol-humages, nebulizzazioni, docce nasali), sia per lecaratteristiche delle apparecchiature utilizzate che per la tipologia degli utenti (soggetti arischio per patologie croniche dell'apparato respiratorio); bagni con idromassaggio; docce d'annettamento (se previste).

Analogamente, rappresentano una fonte di pericolo tutte le prestazioni, erogate con acqua termale o non termale, nei reparti "benessere" degli stabilimenti termali che comportano la formazione di aerosol. Inoltre, anche negli stabilimenti termali possono rappresentare una fonte di pericolo gli impianti di condizionamento e quelli idrosanitari.

- Valutazione del rischio Anche in questo caso, lo strumento fondamentale per assicurare una riduzione del rischio di contrarre la legionellosi negli stabilimenti termali è costituito dall'adozione di misure preventive. Pertanto i gestori sono tenuti ad eseguire la valutazione del rischio che andrà regolarmente aggiornata e documentata formalmente. È necessario che tale valutazione ed il conseguente Piano di autocontrollo comprendano, in primo luogo, gli impianti di distribuzione ed erogazione delle acque termali, ma anche gli altri impianti idrici ed aeraulici a rischio.
- **Periodicità della valutazione del rischio** I gestori di stabilimenti termali devono effettuare e revisionare la valutazione del rischio, ogni anno ed ogni volta che ci sia motivo di considerare che la situazione possa essersi modificata (ad esempio: lavori di ristrutturazioni o rifacimento di parti d'impianto, esame batteriologico positivo con valori di *Legionella* che richiedono intervento).
- **Gestione del rischio** Di seguito si forniscono le indicazioni principali per la gestione degli impianti d'acquatermale. Per le rimanenti tipologie d'impianto, si deve fare riferimento alle specificheindicazioni riportate nelle altre sezioni delle presenti Linee guida. Per quanto attiene all'impianto relativo all'erogazione delle cure termali è necessario:
- Disporre della descrizione dettagliata della rete idrica, al fine di identificare percorsi, eventuali punti di potenziale stagnazione ecc., con particolare analiticità ed accuratezza per quanto riguarda le sezioni delle cure inalatorie.
- Effettuare interventi analoghi a quelli previsti sulle reti idrosanitarie normali, inclusa la disinfezione con mezzi chimici o fisici, cercando di salvaguardia delle caratteristichedelle acque termali.
- Effettuare trattamenti di pulizia, decalcificazione e sostituzione periodica dei soffioni delle "docce d"annettamento".
- Effettuare la regolare manutenzione degli eventuali filtri presenti nelle piscine termali con particolare riferimento ai lavaggi controcorrente, e prevedere la regolarerigenerazione e sostituzione dei filtri secondo le indicazioni del produttore, in modo da mantenere sempre l'efficienza di ciascun filtro.
- Effettuare la sostituzione, almeno giornaliera, di metà dell'acqua delle vasche peridromassaggio collettive, in condizioni di elevato utilizzo e qualora il indicato nei punti successivi, abbia individuato rischi specifici e,comunque, se sostenibile dal giacimento. Il trattamento non si applica alle piscine.
- Effettuare una rigorosa pulizia della superficie delle vasche, dei dispositivi perl'idromassaggio e degli skimmer, per la rimozione dello strato di biofilm microbico.
- Effettuare interventi di formazione del personale sugli aspetti della manutenzione e dellapulizia, con evidenziazione della presenza di rischi aumentati rispetto alle normalipiscine.
- Effettuare un monitoraggio microbiologico degli impianti termali almeno ogni 6 mesi ecomunque ogni volta che ci sia una ripresa dell'attività dopo un periodo di chiusura delloStabilimento, prevedendo interventi di disinfezione nel caso le indagini ambientalirilevino la presenza di *Legionella*.
- Sostituire i dispositivi per i trattamenti individuali di terapia inalatoria dopo ogni utilizzoda parte di un paziente o sottoporli a sterilizzazione.
- Prevedere che gli impianti che servono i reparti per le cure inalatorie individuali sianosottoposti ad interventi periodici di disinfezione (di regola settimanali) per garantire larimozione del biofilm, disponendo eventualmente la rotazione nell'utilizzo degliimpianti per tutta la durata della stagione termale.
- Vasche idromassaggio Per quanto riguarda la prevenzione ed il controllo della contaminazione da legionella in questestrutture vale quello che è stato detto nello stesso paragrafo dedicato nel capitolo 3.2, fermorestando la verifica in ordine alla sostenibilità dal giacimento.

## 3.4. Valutazione e gestione del rischio nelle strutture sanitarie

- Negli ultimi anni, in molti paesi sono stati descritti, in ospedale o in altre strutture sanitarie, incluse le case di riposo e le residenze sanitarie assistenziali (RSA), casi singoli ed epidemie sostenute da *Legionella*, ed in particolare da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 (Alary andJoly, 1992; Martinelli et al., 2001; Napoli et al., 2010; Scaturro et al., 2007; Yu et al., 2008). Il rischio di contrarre la legionellosi in ospedale o in altre strutture sanitarie dipende da moltissimi fattori; tra questi, la colonizzazione degli impianti idrici o aeraulici rappresenta una condizione necessaria ma non sufficiente a determinare l'insorgenza di casi. La frequenza di colonizzazione degli impianti ospedalieri riportata in letteratura è, infatti, rilevante, variando, ad esempio, dal 12% al 73% degli ospedali campionati in paesi anglosassoni(Yu, 1998). Tuttavia, numerosi studi hanno dimostrato come vi possa essere colonizzazione ambientale in assenza di casi di malattia. Pertanto, l'obiettivo da perseguire è la minimizzazione del rischio di colonizzazione o il suo contenimento piuttosto che l'eliminazione completa di *Legionella* dagli impianti, condizione,quest''ultima, spesso neppure raggiungibile (Stout and Yu, 2003) soprattutto nel lungo periodo. Ciò non vale per i reparti che ospitano pazienti profondamente immunocompromessi: in questo caso, l'incapacità del sistema immunitario di rispondere a una eventuale esposizione rende necessari interventi atti a garantire l'assenza di *Legionella* (non rilevabilità).
- Valutazione del rischio La valutazione del rischio deve essere effettuata in ciascuna struttura sanitaria, tenendo conto delle caratteristiche ambientali e impiantistiche, come già riportato nel paragrafo relativo alle strutture turistico-recettive (paragrafo 3.2), e sviluppando maggiormente la raccolta e l'elaborazione dei dati inerenti la tipologia di popolazione ospit Reparti che assistono pazienti a rischio aumentato (Medicine, Pneumologie, Geriatrie, Chirurgie, ecc.). L'obiettivo generale di prevenzione e controllo sarà definito anche in funzione dei precedenti storici quali ad esempio la presenza di casi di sospetta o accertata origine nosocomiale ed illivello di contaminazione. Le procedure assistenziali in genere e, fra queste quelle correlate all'assistenza respiratoria ed all'igiene personale, devono essere valutate in merito al rischio potenziale di esporre ilpaziente alla possibilità di contrarre l'infezione da *Legionella* durante il periodo di ricoveronelle strutture sanitarie.
- La Tabella 10 sintetizza le possibili fonti ed i meccanismi di trasmissione della *Legionella* correlata a procedure assistenziali (Guidelines for Preventing Health-Care-AssociatedPneumonia, 2004; Singh et al., 2004).

## Tabella 10 - Fonti e meccanismi di trasmissione della legionellosi correlata a procedure assistenziali

#### L'esposizione al rischio avviene per via respiratoria:

- per inalazione dei microrganismi da goccioline di acqua contaminata aerosolizzata che può essere prodotta da docce, umidificatori dell'aria
- per contaminazione dei presidi usati per la terapia respiratoria o dispositivi medici usati sulle viel respiratorie
- attraverso meccanismi di aspirazione dell'acqua (pazienti portatori di sonde nasogastriche)

Non è mai stata dimostrata trasmissione interumana.

#### Procedure coinvolte

Procedure che coinvolgono l'apparato respiratorio, invasive e non, e che necessitano di acqua per la sterilizzazione degli strumenti o per il loro funzionamento.

### Possibili pratiche a rischio

- Broncoscopia
- Broncoaspirazione
- Broncolavaggio
- Ventilazione assistita
- Intubazione orotracheale
- Tracheostomia
- Sondino naso-gastrico
- Trattamenti odontoiatrici
- Aerosol terapia
- Ossigeno terapia
- Parto in acqua

### Esempi di articoli semicritici usati sul tratto respiratorio

- Maschere facciali o tubi endotracheali
- Tubi del circuito inspiratorio ed espiratorio
- Raccordo ad Y
- Pallone reservoir per la rianimazione
- Umidificatore
- Circuiti respiratori di ventilatori meccanici
- Spirometria e boccagli
- Broncoscopi e loro accessori (pinze per biopsia e spazzolini per campioni devono essere sterili)
- Tubi endotracheali ed endobronchiali
- Lame del laringoscopio
- Boccagli e tubi per le prove di funzionalità respiratoria nebulizzatori e reservoir maschere ed occhialini per l'ossigenazione
- Sonde dell'analizzatore di CO<sub>2</sub> e dei monitor della pressione dell'aria palloni per la rianimazione manuale
- Mandrini per intubazione sondini per aspirazione
- Sensori di temperatura

## Periodicità della valutazione del rischio

- La valutazione del rischio nelle strutture sanitarie deve essere revisionata almeno con **periodicità annuale** e documentata formalmente. Inoltre deve essere ripetuta ogni volta che vi siano modifiche degli impianti, della tipologia di pazienti assistiti o della situazione epidemiologica della struttura interessata o, infine, in caso di reiterata ed anomala presenza di *Legionella* negli impianti riscontrata a seguito dell'attività di monitoraggio.
- **Gestione del rischio** Per assicurare una riduzione ed un controllo del rischio legionellosi è necessario che le misure preventive riportate nelle presenti Linee guida al Capitolo5.
- Nel caso in cui le misure di controllo non possano essere tutte immediatamente messe in atto e si valuti la presenza di un potenziale rischio derivante da uno o più impianti (ad esempio la temperatura dell'acqua calda sanitaria è diversa da quella raccomandata oppure vi è la presenza di rami morti nella rete di distribuzione idrica od altro) occorre effettuare celermente un campionamento dell'acqua per la ricerca di *Legionella*. In relazione alla concentrazione di *Legionella* riscontrata dal campionamento è necessario definire, sempre con l'ausilio di un'adeguata valutazione del rischio, un programma per applicare prioritariamente quelle misure correttive tali da contenere il rischio evidenziato. Fino a quando non sia possibile mettere in atto tutte le misure correttive e di mantenimento richieste dalla Valutazione del rischio, il campionamento ambientale dovrà essere ripetuto mensilmente per i primi sei mesi e successivamente con cadenza da stabilirsi sulla basedell'analisi complessiva del rischio. Se si rendesse necessario effettuare la disinfezione di uno o più impianti, il piano di controllo andrà aggiornato, tenendo conto della periodicità di campionamento da rivalutarsi a seguito della situazione occorsa

# Campionamento

- I reparti che ospitano pazienti profondamente immunocompromessi (trapianto allogenico dicellule staminali ematopoietiche, trapianto di organo solido) devono avere impianti privi di*Legionella*. Inoltre in questi reparti deve essere eseguito un campionamento ambientale almeno **trimestrale** per controllare l'assenza di colonizzazione con *Legionella*. Il protocollo operativo per effettuare il campionamento è descritto nell'Allegato 3.E" opportuno che il numero di campioni sia proporzionato alle dimensioni dell'impianto.
- Perciascun impianto di acqua calda sanitaria devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi: mandata (oppure dal rubinetto più vicino al serbatoio/i ricircolo fondo serbatoio/i almeno 3 punti rappresentativi (ovvero i più lontani nella distribuzione idrica e i piùfreddi) Per strutture con numero di posti letto superiore a 150, considerare almeno un punto diprelievo aggiuntivo ogni 100 posti letto in più. Per ciascun impianto di acqua fredda devono essere effettuati almeno i seguenti prelievi: fondo serbatoio/i almeno 2 in punti rappresentativi (ovvero il più lontano nella distribuzione idrica ed ilpiù caldo). Per strutture con numero di posti letto superiore a 150, considerare almeno un punto di prelievo aggiuntivo ogni 100 posti letto in più.
- Quando viene diagnosticato un caso di legionellosi, in un qualsiasi reparto o struttura sanitaria, è necessario eseguire l'indagine epidemiologica ed il campionamento ambientale. Sulla base di questi aspetti, si forniscono le seguenti indicazioni: Tutti gli ospedali che ospitano reparti ove vengono ricoverati pazienti che devono essere sottoposti a trapianto allogenico di cellule ematopoietiche staminali o di organo solido, devono pianificare interventi specifici per garantire in questi reparti l'assenza di colonizzazione degli impianti di trattamento dell'aria e l'assenza di Legionella (nonrilevabile in relazione al metodo analitico utilizzato e comunque sempre <100 UFC/L) nell'acqua erogata. Quanto indicato per i Centri trapianto si raccomanda sia esteso ancheai reparti che assistono le altre tipologie di pazienti a rischio molto elevato. L'assenza di Legionella deve essere garantita anche nell'acqua utilizzata per il parto invasca. Per gli altri reparti si raccomanda una ricerca attiva di Legionella almeno ogni sei mesi, eannualmente l'esecuzione/riesame della valutazione del rischio. In tutti i reparti deve comunque essere garantita la ricerca dell'antigene urinario in tutti i casi di polmonite comparsa dopo ilricovero.

- Esiti del campionamento Per decidere, sulla base dei risultati dei monitoraggi microbiologici, la necessità di bonificheimmediate negli impianti idrici o aeraulici contaminati, sono descritti in letteratura dueprincipali tipi di criteri: la concentrazione di *Legionella* e la percentuale di campioni positivi.
- Le indicazioni riportate nelle Tabelle 6 e 10 forniscono un connubio tra i due criteri divalutazione delle risultanze analitiche, riportati in letteratura. Questo al fine di migliorare ilcontrollo del rischio legionellosi e per rendere più accurate le eventuali azioni di rimedio. Sono da escludersi dalle indicazioni riportate in 1i seguenti impianti:1. Erogazioni dei Reparti Ospedalieri che assistono pazienti a rischio molto elevato2. Alimentazioni idriche a servizio delle vasche per il parto in acqua.

Tabella 11 - Tipi di intervento indicati per concentrazione di Legionella (UFC/L) negli impianti idrici a rischio legionellosi, esercitati in strutture nosocomiali/sanitarie.

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Sino a 100	Nessuno
Tra 101 e 1.000	In assenza di casi: -Se meno del 30% dei campioni prelevati risulta positivo l'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate. Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive.
	-Se oltre 30% dei campioni prelevati risulta positivo l'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate.  Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una disinfezione e una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive.
	In presenza di casi: A prescindere dal numero di campioni positivi,effettuare una revisione della valutazione del rischio ed effettuareuna disinfezione dell'impianto,
Tra 1001 e 10.000	In assenza di casi: -Se meno del 20% dei campioni prelevati risulta positivo l'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate. Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive.
	-Se oltre il 20% dei campioni prelevati risultano positivi, è necessaria la disinfezione dell'impianto e deve essere effettuata una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi.
	Si raccomanda <b>un'aumentata sorveglianza clinica</b> , in particolare per i pazienti a rischio. Evitare l'uso dell'acqua dell'impianto idrico per docce o abluzioni che possano provocare la formazione di aerosol.
	In presenza di casi: A prescindere dal numero di campioni positivi, è necessario effettuare la disinfezione dell'impianto e una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato dopo la disinfezione, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi.
Superiore a 10.000	Sia in presenza che in assenza di casi, l'impianto deve essere sottoposto a una disinfezione (sostituendo i terminali positivi) e a una revisione della valutazione del rischio. L'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi.

## Prevenzione della legionellosi correlata a procedure assistenziali

## Procedure inerenti le vie respiratorie

- Quando è possibile, per trattare le **attrezzature ed i dispositivi semicritici** (articoli chevengono in contatto diretto o indiretto con le mucose delle basse vie respiratorie) non alterabili dal calore e dall'umidità, **usare la sterilizzazione a vapore o un alto livello di disinfezione.** Usare metodi di sterilizzazione a bassa temperatura per le attrezzature o i dispositivi sensibili alcalore o all'umidità. La disinfezione deve essere seguita da un appropriato risciacquo, asciugatura e confezionamento prestando attenzione a non contaminare gli articoli durante taleprocesso. Usare **acqua sterile per risciacquare** i nebulizzatori e le altre attrezzature semicritiche perl'assistenza respiratoria, dopo che sono stati puliti e/o disinfettati. Se questo non è possibilerisciacquare lo strumento con acqua filtrata (es. acqua che è passata attraverso un filtro di 0,2µm) e quindi risciacquare con alcool isopropilico ed asciugare con aria forzata o in unessiccatoio. Usare **solo acqua sterile** (non acqua distillata che è non sterile) per riempire i serbatoi deidispositivi usati per l'umidificazione e nebulizzazione. Seguire le specifiche istruzioni del produttore per l'uso degli umidificatori per l'ossigeno. Non utilizzare umidificatori ambientali di largo volume che producono aerosol (es. umidificatori tipo venturi, a ultrasuoni o disco rotante e che sono quindi veri nebulizzatori) ameno che non sia possibile sterilizzarli o sottoporli a disinfezione di alto livello almeno unavolta al giorno e riempirli solo con acqua sterile. Tra un trattamento e l'altro sullo stesso paziente pulire, disinfettare, risciacquare con acquasterile (se il risciacquo è necessario) e asciugare i nebulizzatori di farmaci di piccolo volume inlineo manuali.
- Parto in acquall sistema di alimentazione dell'apposita vasca deve essere privo di *Legionella*, in analogiacon quanto indicato per i reparti a rischio molto elevato. Le vasche per il parto, preferibilmenteprogettate per questo specifico uso, dopo il parto devono essere ben pulite e successivamentedisinfettate con prodotti adeguati (ad es. clorodonatori). Un intervento aggiuntivo di pulizia edisinfezione anche prima del parto, può essere opportuno se è trascorso molto tempo dall'ultimotrattamento disinfettante (ad es. più di 72 ore).
- **Procedure odontoiatriche**I rischi legati alle pratiche odontoiatriche e le relative misure di contenimento sono descrittenel capitolo 6.
- Misure per pazienti sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminaliemopoietiche I pazienti profondamente immunocompromessi possono sviluppare legionellosi anche seesposti a cariche molto basse di Legionella. Per questo motivo il contatto con acquacontaminata, anche nell'esecuzione di semplici pratiche, può rappresentare un rischio per ipazienti. Tra le pratiche a rischio vi sono: > igiene del cavo orale (lavarsi i denti, lavare le protesi dentarie) > igiene personale (parziale, totale, doccia, vasca, ecc.) > assunzione di acqua della rete idrica e ghiaccio prodotto con acqua della rete idrica > pulizia ambientale. Le principali misure raccomandate per prevenire la legionellosi correlata a procedureassistenziali nei pazienti sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche, qualora sia rilevata Legionella nell'acqua potabile delle Unità di trapianto e finché la Legionellanon sia più isolata nelle colture ambientali, sono le seguenti: > non consentire di eseguire la doccia ai pazienti in fase di grave immunocompromissione > usare acqua sicuramente non contaminata con Legionella (ad es. filtrata o sterile) per lespugnature dei pazienti > fornire ai pazienti acqua sterile per lavarsi i denti, per bere o per il lavaggio dei tubinaso-gastrici > non utilizzare acqua proveniente da rubinetti che erogano acqua potenzialmentecontaminata da Legionella nelle stanze dei degenti, per evitare di creare aerosol infetti.

- Diagnosi di legionellosi e sorveglianza attiva
- Diagnosi L'incidenza di legionellosi viene spesso sottostimata per diversi motivi: ➤ il basso sospetto diagnostico da parte dei clinici; ➤ la non disponibilità, nella struttura o in service, di esami di laboratorio specifici, quali la ricerca dell'antigene urinario e la coltura; ➤ la presentazione della malattia con quadri clinici atipici, evento più frequente tra i pazienti immunocompromessi (localizzazioni diverse da quella polmonare, quali tessuti molli o endocardio, sieroconversione ritardata). Il fatto che la diagnosi eziologica di infezione da Legionella non sia tempestiva o non venga per nulla effettuata ha due principali conseguenze: ➤ la mancata prescrizione di un trattamento antibiotico mirato; ➤ la mancata attivazione degli opportuni interventi di controllo, sia in ambito assistenziale che comunitario. Pertanto, tra gli obiettivi di un piano di controllo della legionellosi correlata all'assistenza occorre: ➤ garantire che tutti gli ospedali abbiano accesso ai test di laboratorio appropriati per la diagnosi di legionellosi; ➤ assicurare la possibilità di eseguire il test dell'antigene urinario, all'interno dell'ospedale o in service, nell'arco di 24-48 ore (esecuzione del test e refertazione); ➤ tutti gli ospedali che hanno reparti per trapianto di cellule staminali o di organo solido devono avere la possibilità di eseguire la coltura per Legionella. Questa esigenza deriva dal fatto che tra i pazienti immunocompromessi sono frequenti casi di legionellosi sostenuti da ceppi diversi da L. pneumophila di sierogruppo 1 e, quindi, la ricerca dell'antigene urinario non è sufficientemente sensibile; ➤ tutti gli ospedali che non ospitano reparti per trapianto di cellule staminali o di organo solido devono, comunque, assicurare la possibilità di eseguire la coltura per Legionella (in quanto rappresenta lo standard diagnostico) ma ciò può avvenire anche in service o mediante invio dei campioni ai laboratori clinici di riferimento regionale ➤ incrementare nei clinici il sospetto diagnostico per la legionellos
- Sorveglianza attiva Oltre che promuovere l'esecuzione di test di laboratorio per la diagnosi di legionellosi, è altresì importante rendere operanti sistemi di sorveglianza attiva (ad esempio la segnalazione a partire dai laboratori) che informino tempestivamente i responsabili dei gruppi operativi di controllo delle infezioni nosocomiali. Questi potranno così tempestivamente verificare se si tratti di casi di legionellosi in pazienti che erano stati ricoverati in ospedale senza questa patologia o con un precedente ricovero in data compatibile con il periodo di incubazione.
- Indagine epidemiologica In presenza di uno o più casi di legionellosi di origine nosocomiale è necessario che il Comitato per le Infezioni Ospedaliere (CIO), e il personale addetto alla gestione e alla manutenzione degli impianti collaborino strettamente tra loro. Occorre innanzitutto: > valutare la pertinenza della segnalazione, eventualmente eseguendo un secondo esame di laboratorio per la conferma diagnostica; > definire il caso in base ai criteri clinici e di laboratorio riportati al paragrafo 2.1; > verificare la sussistenza dei criteri temporali utili a definire il caso come nosocomiale; > valutare se si è in presenza di un caso sporadico o di un cluster, sia tramite un'analisi delle segnalazioni nei 24 mesi precedenti, sia tramite una eventuale revisione dei casi di polmonite nosocomiale diagnosticati nell'ultimo periodo.
- Cluster nosocomiale di legionellosi In presenza di un cluster (2 o più casi nell'arco di 2 anni) l'indagine deve seguire le seguenti tappe: > conferma di laboratorio della diagnosi. Si raccomandano, qualora possibili, l'isolamento colturale e la tipizzazione del microrganismo in causa; > notifica tempestiva alle autorità sanitarie, secondo le indicazioni riportate nei sistemi di sorveglianza; > inchiesta epidemiologica (ricerca dell'esposizione, luoghi frequentati e trattamenti a rischio); > ricerca di altri possibili casi; verifica della presenza (o, in caso negativo, adozione) di un protocollo per la ricerca di Legionella in tutti i 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); > descrizione della distribuzione nel tempo e nello spazio dei casi confermati e dei casi presunti. Rappresentazione grafica della curva epidemica. Descrizione dei trattamenti a rischio e del tipo di acqua utilizzata per i differenti trattamenti; > ricerca di esposizioni comuni; > formulazione di ipotesi sulla possibile origine dell'infezione; > indagini ambientali sulla rete idrica e le attrezzature sospette, mirate in base alle ipotesi emerse dallo studio descrittivo; > confronto dei ceppi di Legionella isolati dal malati con quelli isolati dall'ambiente; per la tipizzazione e il confronto, inviare gli isolati al laboratorio di riferimento; > programmazione di uno studio epidemiologico-analitico nei casi in cui l'origine del cluster/epidemia resta difficile da identificare,
- Indagine ambientale A seguito di ogni caso segnalato: ➤ deve essere effettuata una verifica sulle condizioni di funzionamento e di manutenzione della rete idrosanitaria (in particolar modo sui punti a rischio: rami morti, terminali scarsamente utilizzati, pulizia e disinfezione dei serbatoi e della rete idrica, pulizia dei terminali, ecc.) e della rete aeraulica; ➤ deve essere effettuata una valutazione sulle condizioni di eventuale utilizzo di dispositivi medici a rischio; ➤ devono essere programmati controlli microbiologica e dalle osservazioni dei tecnici del settore interessato. Le modalità di campionamento della rete idrica dovranno essere volte a monitorare l'impianto idrico nella sua completezza (serbatoi, ricircolo, punti più distali dai serbatoi d'accumulo, ecc.). In caso di riscontro di contaminazione degli impianti in esercizio presso strutture nosocomiali, la frequenza dei controlli microbiologica, a seguire nelle presenti Linee guida. Per impianti in esercizio presso strutture nosocomiali, la frequenza dei controlli microbiologici, a seguito degli interventi di disinfezione, è stabilita sulla base del livello di contaminazione riscontrato e di rischio: di norma, in caso di riscontri negativi, i controlli, successivi alla prima fase di monitoraggio microbiologico post disinfezione, dovrebbero essere eseguiti, per il primo anno a seguire, almeno una volta a trimestre. Se persiste la negatività, nel secondo anno a seguire dovrebbero essere almeno semestrali, dopo di che possono essere programmati secondo le risultanze della valutazione del rischio. Se dopo l'intervento di disinfezione i campioni sono ancora positivi, deve essere effettuato un nuovo intervento e due successivi campionamenti immediatamente dopo la disinfezione e a distanza di circa 48 ore dalla stessa. Tale procedura di rimedio deve essere ripetuta fino alla non rilevabilità della Legionella nei campioni di controllo microbiologico, ricadendo, a seguire, nella situazione descritta precedentemente in merito agli estit dell'analisi micro
- Comunicazione e formazione Data la peculiarità delle strutture sanitarie, gli interventi fortemente raccomandati sono: > Formare i medici a mantenere elevato il sospetto per la polmonite da Legionella associata a pratiche assistenziali e ad usare appropriati test diagnostici. > Mantenere elevato il sospetto di polmonite da Legionella nei pazienti trapiantati, con polmonite nosocomiale, anche quando gli accertamenti di sorveglianza ambientale non dimostrano presenza di Legionella. > Formare il personale di assistenza, il personale addetto al controllo delle infezioni e quello addetto alla gestione e manutenzione degli impianti, sulle misure di controllo delle legionellosi associata alle pratiche assistenziali. > Comunicare formalmente ai reparti gli esiti della valutazione del rischio. > Garantire la tracciabilità delle attività svolte attraverso adeguate registrazioni.

# 4. METODI DI PREVENZIONE E CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DEL SISTEMA IDRICO

• Nell'Allegato 13 si riporta, una rassegna dei metodi attualmente più utilizzati (ACHD, 1997; AWT T C o, 2003; EPA, 2001; EWGLINet and EWGLI, 2005; Health D o, 2010; HSC, 2000) che potranno essere adottati, singolarmente o in combinazione, previa valutazione del singolo impianto, del sistema idrico e dell'ambiente nel quale si opera. Ciascun trattamento descritto presenta limitazioni nell'uso e nell'efficacia temporale e, nel caso di ospedali, stabilimenti termali e ricoveri per anziani, risulta fortemente influenzato dalle caratteristiche progettuali dell'impianto in esame. Ciò implica la necessità di selezionare la strategia più idonea al trattamento delle differenti parti del sistema da disinfettare. I metodi descritti risultano, comunque, scarsamente efficaci nelle aree di ristagno o in presenza di problemi di ricircolo all'interno del sistema di distribuzione. La presenza di biofilm e di depositi di calcare, la corrosione, i materiali impiegati nella rete idrica e le caratteristiche chimiche e chimico-fisiche dell"acqua (quali, ad esempio, il pH, la temperatura, la torbidità, la durezza e la sostanza organica disciolta) possono interferire con il metodo adottato, riducendone l'efficacia. Il risultato di ciascun trattamento è inoltre influenzato dalle condizioni operative adottate; quest"ultime devono essere costantemente monitorate ed eventualmente corrette anche in base ai risultati derivanti dai controlli microbiologici. Per il monitoraggio della concentrazione dei disinfettanti chimici e l'analisi batteriologica è necessario il ricorso a personale qualificato. I trattamenti di disinfezione chimica descritti nella presente rassegna potrebbero rendere l'acqua calda sanitaria temporaneamente o permanentemente non conforme ai requisiti di qualità richiesti dalla normativa vigente sulle acque destinate al consumo umano. Nel caso in cui ciò si verifichi è necessario adottare alcune limitazioni d'uso come, ad esempio, interdire il suo impiego nella preparazione dei pasti. E" inoltre necessario informare adeguatamente gli operatori sanitari e l'utenza. Anche eventuali nuove tecniche di disinfezione dovranno essere compatibili con i criteri di potabilità dell"acqua stabiliti dalla legge e sottoposte ad una valutazione da parte del Ministero della Salute.

# 5. INDICAZIONI PER LA PROGETTAZIONE, LA REALIZZAZIONE E LA GESTIONE DEGLI IMPIANTI

- 5.1. Introduzione La prevenzione delle infezioni da Legionella si basa essenzialmente: > sulla corretta progettazione e realizzazione degli impianti tecnologici che comportano un riscaldamento dell'acqua e/o la sua nebulizzazione (impianti a rischio). Sono considerati tali, in primis, gli impianti idro-sanitari, gli impianti di condizionamento con umidificazione dell'aria ad acqua, gli impianti di raffreddamento a torri evaporative o a condensatori evaporativi, gli impianti che distribuiscono ed erogano acque termali, le piscine e le vasche idromassaggio. > sull'adozione di misure preventive (manutenzione e, all'occorrenza, disinfezione) atte a contrastare la moltiplicazione e la diffusione di Legionella negli impianti a rischio. Per quanto tali misure non garantiscano che un sistema o un suo componente siano privi di Legionella, esse contribuiscono a diminuire la probabilità di una contaminazione batterica grave. Fermo restando il rispetto delle regole previste da norme e leggi esistenti (norme UNI, ecc.) per la costruzione e la manutenzione delle varie tipologie di impianti, nel presente capitolo si richiamano le principali indicazioni che dovrebbero essere rispettate per un ottimale controllo della contaminazione da Legionella.
- 5.2. Impianti idro-sanitari Nelle strutture di nuova edificazione e in quelle soggette a ristrutturazione totale, le reti dell'acqua fredda e della acqua calda sanitaria devono essere adeguatamente distanziate tra loro e da altre fonti di calore oltre che adeguatamente isolate termicamente (Approved Code of Practice and guidance (ACoP), 2000). Le reti, inoltre, devono essere il più possibile lineari, evitando tubazioni con tratti terminali ciechi e senza circolazione dell"acqua. Nella rete dell"acqua fredda il rischio di colonizzazione e crescita di Legionella è trascurabile se la temperatura dell'acqua non supera i 20°C. I serbatoi di accumulo, quando installati, devono essere facilmente ispezionabili al loro interno e disporre, alla base, di un rubinetto, tramite il quale effettuare le operazioni di spurgo del sedimento. Un secondo rubinetto, necessario per prelevare campioni di acqua da sottoporre ad indagini analitiche, posto ad un'altezza non inferiore a 1/3 del serbatoio, deve essere installato sul serbatoio se quello di cui al punto precedente non dovesse risultare adatto allo scopo. Tutti i nuovi impianti d'acqua calda sanitaria, che prevedono l'utilizzo di boiler/serbatoi centralizzati, devono essere dotati di tali rubinetti. La tipologia dei materiali (Rogers et al., 1994), utilizzati per la realizzazione dell'impianto, deve garantire la possibilità di eseguire adeguati trattamenti di disinfezione. Copie dello schema dettagliato della rete idrica devono accompagnare la presentazione del progetto edilizio e restare a disposizione del proprietario/gestore/amministratore della struttura per la gestione degli interventi di manutenzione ordinaria e per eventuali richieste dei soggetti titolati ad eseguire controlli. Ogni modifica delle reti deve comportare l'aggiornamento delle suddette planimetrie. Negli impianti d'acqua calda sanitaria centralizzati il rischio di colonizzazione e crescita di Legionella può essere minimizzato mantenendo costantemente la temperatura di distribuzione dell'acqua al di sopra di 50°C. Pertanto oltre a quanto sopra riportato, nelle strutture con impianto centralizzato, si raccomanda la realizzazione della rete di ricircolo dell'acqua calda correttamente dimensionata, tenuto conto della specifica del mantenimento dei 50°C. Per evitare salti termici lungo la distribuzione idrica e raffreddamenti eccessivi dell'acqua, la rete di ricircolo deve essere pertanto adeguatamente bilanciata. Negli impianti con rete di ricircolo la temperatura dell'acqua calda sanitaria: • deve essere mantenuta a T ≥ 60°C nei serbatoi di accumulo, • non deve scendere sotto i 50°C alla base di ciascuna colonna di ricircolo. Ove si evidenziasse il rischio di ustioni dovranno essere prese adeguate precauzioni per minimizzare tale rischio, ad esempio mediante l'installazione di opportune tutele quali le valvole termostatiche di miscelazione (TMV) in prossimità o sui terminali di erogazione. Tuttavia, se vengono istallate TMV, queste dovrebbero essere poste quanto più vicine al punto d'uso. Idealmente una TMV non dovrebbe servire più di un rubinetto e la distanza tra rubinetto e TMV dovrebbe essere inferiore ai 2 metri. Dove una singola TMV serve molti rubinetti o docce, in attesa di una modifica dell'impianto che garantisca una TMV per ciascun punto distale, è necessario assicurare che esse vengano frequentemente flussate. Si ribadisce che, qualora le temperature di sicurezza non possano essere rispettate a causa di problemi tecnici, occorre predisporre un sistema di disinfezione alternativo, al fine di compensare tale mancanza ed ovviare all'impossibilità di controllare il rischio proliferazione batterica con il ricorso a temperature al di fuori dell'intervallo di sviluppo delle Legionelle (20 - 50°C). E" inoltre da tener presente l'importanza nella corretta progettazione delle reti idriche al fine di assicurare un corretto bilanciamento idrodinamico (flusso dell'acqua), una riduzione al minimo del volume accumulato e un"opportuna scelta dei materiali in relazione ai trattamenti di prevenzione e controllo della contaminazione microbiologica.

### 5.3. Impianti aeraulici

- **Prese d'aria esterna** Le prese d'aria esterna, se poste su pareti verticali non protette, devono essere dimensionate per velocità non superiori a 2 m/s e devono essere dotate di efficaci sistemi per evitare che l'acqua penetri al loro interno. Occorre inoltre che siano ubicate ad idonee distanze (distanza minima 20 metri, preferibilmente superiore ai 50 metri o ancora superiore in presenza di venti prevalenti) da camini e da altre fonti di emissione di aria potenzialmente contaminata, con particolare riferimento a torri di raffreddamento, condensatori evaporativi e bocche di espulsione dell'aria dello stesso o di altri impianti aeraulici.
- **Filtri** Il costo di una filtrazione più efficace è molto inferiore a quello della pulizia dei componenti delle reti di distribuzione. Si consiglia pertanto di installare filtri di classe Eurovent EU7 a monte delle unità di trattamento dell'aria e ulteriori filtri di classe EU8/9 a valle di dette unità e comunque a valle degli eventuali silenziatori. Sui sistemi di ripresa dell'aria dovrebbero essere installati filtri almeno di pari classe. Ove la tipologia dei locali o della struttura lo richieda dovranno essere installati filtri a maggiore efficienza.
- **Sistemi di umidificazione** Non è consentito l'utilizzo di sistemi di umidificazione che possono determinare ristagni d'acqua. Si sconsiglia l'uso di umidificatori con ricircolo d'acqua interno all'Unità di Trattamento dell'Aria.
- Batterie di scambio termico Nel caso di batterie di raffreddamento, le superfici alettate ed in particolare le vasche di raccolta della condensa costituiscono i luoghi dove maggiormente possono proliferare microrganismi e muffe. Risulta pertanto necessario installare vasche dotate della dovuta inclinazione in modo da evitare ristagni, e realizzarle con materiali anticorrosivi per agevolarne la pulizia. Gli scarichi delle vasche devono essere adeguatamente sifonati.
- **Silenziatori** I materiali fonoassorbenti impiegati di solito sono del tipo poroso e fibroso, e quindi particolarmente adatti a trattenere lo sporco e di difficile pulizia. Si raccomanda quindi l'impiego di finiture superficiali che limitino tali inconvenienti, anche se questo porta ad una maggiore estensione delle superfici e quindi a costi più elevati. Inoltre si raccomanda di osservare le distanze consigliate dai costruttori tra tali dispositivi e gli umidificatori.
- Canalizzazioni Ai fini di una buona manutenzione delle condotte dell"aria occorre progettare, costruire ed installare i sistemi aeraulici tenendo anche presente le seguenti esigenze manutentive: > prevedere la possibilità di drenare efficacemente i fluidi usati per la pulizia > evitare di collocare l"isolamento termico all"interno delle condotte, considerata la difficoltà di pulire in modo efficace l"isolante stesso > dotare (a monte ed a valle) gli accessori posti sui condotti (serrande, scambiatori, ecc.) di apposite aperture di dimensioni idonee a consentire la loro pulizia, e di raccordi tali da consentirne un rapido ed agevole smontaggio e rimontaggio, assicurandosi che siano fornite accurate istruzioni per il montaggio e lo smontaggio dei componenti > ridurre al minimo l"uso di condotti flessibili corrugati e utilizzare materiali sufficientemente solidi per permetterne una facile pulizia meccanica > utilizzare terminali smontabili per la mandata e il recupero dell'aria

5.4. Impianti di raffreddamento a torri di evaporative e condensatori evaporativi Le torri di raffreddamento ed i condensatori evaporativi sono apparecchiature che consentono di raffreddare un flusso d'acqua riscaldatosi durante il raffreddamento di un impianto tecnologico. Il rischio è collegato alla presenza nell'acqua di Legionella ed alla dispersione in atmosfera di un aerosol contaminato, costituito da gocce di varie dimensioni. Tali apparecchiature, componenti importanti di molti processi industriali e commerciali nonché di impianti di condizionamento centralizzati, in conseguenza di quanto sopra esposto, non devono essere installate: > in prossimità di finestre, prese d'aria a parete di edifici, prese d'aria di impianti di condizionamento, in modo da evitare che l'aria di scarico proveniente dalle torri e dai condensatori evaporativi entri negli edifici; > in zone destinate a frequentazione o raccolta di pubblico. In particolare, le bocche di scarico delle torri e dei condensatori devono essere posizionate almeno 2 metri al di sopra della parte superiore di qualsiasi elemento o luogo da proteggere (finestre, prese d'aria, luoghi frequentati da persone) o ad una distanza, in orizzontale, di almeno 20 metri (preferibilmente superiore ai 50 metri o più elevate in presenza di venti dominanti). Per il calcolo delle distanze, si considerino come riferimento i punti più vicini tra loro tra la bocca di scarico ed il luogo da proteggere. Se la bocca di scarico dovesse essere posizionata al di sotto dei luoghi da proteggere, per calcolare la distanza minima di separazione, si deve tenere conto dell'entità del flusso di emissione, della sua velocità e della direzione del pennacchio nell"atmosfera. Specifiche di installazione possono essere desunte da linee guida tecniche e dalla legislazione vigente in Spagna (Abad Sanz Isabel et al., 2006; Ministerio de Sanidad y Consumo, 2003) In ogni caso si dovrà tenere in debita considerazione la direzione dei venti dominanti della zona oggetto dell'installazione. I materiali costitutivi del circuito idraulico devono resistere all'azione aggressiva dell'acqua, del cloro e di altri disinfettanti, al fine di evitare fenomeni di corrosione. Si devono evitare materiali porosi e/o assorbenti che facilitano lo sviluppo di batteri e funghi quali cuoio, legno, fibrocemento, cemento, derivati della cellulosa. Si raccomanda che le parti metalliche del sistema siano sottoposte a trattamento chimico, fisico-chimico o fisico per agevolare la prevenzione delle corrosioni durante il suo esercizio. L'impianto deve essere facilmente accessibile anche nelle parti interne, onde favorirne l'ispezione e le operazioni di manutenzione ordinaria e straordinaria, pulizia, disinfezione e campionamento. Le superfici interne della vasca di raccolta devono essere il più possibile lisce, con angoli arrotondati, di facile pulizia e disinfezione. Il fondo della vasca deve essere realizzato in maniera da evitare il ristagno di acqua e possedere almeno uno scarico, posizionato nel punto più basso, per l'evacuazione del sedimento. Gli impianti devono disporre dei separatori di goccia ad alta efficienza, che coprano tutta la superficie di scarico, di alta efficienza in modo che le perdite di acqua sotto forma di aerosol siano contenute a meno dello 0,05% della massa d'acqua circolante. Le Amministrazioni locali o gli Enti delegati devono predisporre e curare la tenuta di un apposito "Catasto" delle torri di raffreddamento ad umido e dei condensatori "aria. evaporativi esistenti, da implementarsi mediante notifica da parte dei responsabili degli impianti di raffreddamento.

- 5.6. Gestione degli impianti aeraulici Durante l'esercizio degli impianti è importante eseguire: > ispezioni tecniche per controllarne e rilevarne il corretto funzionamento come riportato dall'Accordo del 7 Febbraio 2013 tra il Governo, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano sul Documento recante "Procedura operativa per la valutazione e gestione dei rischi correlati all'igiene degli impianti di trattamento aria" e dalle Linee Guida del 5 Ottobre 2006 emesse dalla Presidenza del Consiglio (Conferenza Permanente Stato-Regioni) denominate "Schema di Linee Guida per la definizione di protocolli tecnici di manutenzione predittiva sugli impianti di climatizzazione". > l'ispezione igienico sanitaria deve verificare le condizioni dell'impianto nel suo insieme, dalla presa d'aria primaria, alle unità di trattamento dell'aria (UTA), ai canali di mandata e di ripresa, fino alle bocchette di immissione in ambiente. > visite di controllo, con periodicità da definirsi anche in base alla valutazione del rischio, per verificarne le condizioni igienico-sanitarie nel suo complesso. In particolare i controlli sono da eseguirsi presso le seguenti sezioni dell'impianto considerate più critiche:
- Filtri È da controllare lo stato di efficienza dei filtri (misura della pressione differenziale, tempo di esercizio). Si raccomanda il periodico ricambio dei filtri, nel rispetto delle specifiche fornite dal costruttore.
- Batterie di scambio termico Vanno periodicamente pulite e disinfettate le vasche di raccolta della condensa e le superfici alettate con la rimozione dello sporco organico ed inorganico.
- **Umidificatori dell'aria ambiente** Deve essere assicurato che non si verifichi formazione di acqua di condensa durante il funzionamento; tutte le parti a contatto con acqua in modo permanente devono essere pulite e, se necessario, periodicamente disinfettate.
- Umidificatori adiabatici La qualità dell'acqua utilizzata nelle sezioni di umidificazione adiabatica deve essere periodicamente controllata. La frequenza di controllo deve essere fornita dalla valutazione del rischio legionellosi. L'incremento della carica batterica deve essere prevenuta mediante sistemi di disinfezione oppure mediante periodica pulizia dei sistemi. La carica batterica totale dell'acqua circolante non deve eccedere il valore standard di 106 UFC/L con una temperatura di incubazione di 20°C±1°C e 36°C ±1°C. La presenza di Legionella negli umidificatori è prossima allo 0, se la carica batterica non eccede 103 UFC/L. Sulla base delle evidenze emerse durante l'ispezione igienico sanitaria, qualsiasi fattore che potrebbe comportare un pericolo immediato per la salute umana, dovuto all'inquinamento dell'aria respirata, deve essere eliminato mediante sanificazione dell'impianto.
- Sanificazione dell'impianto
- Unità di trattamento aria Tutte le batterie di scambio termico, le vasche di raccolta dell'acqua di condensa, gli umidificatori, i ventilatori, le serrande e le griglie devono essere puliti utilizzando uno o una combinazione dei seguenti metodi: ✓ lance ad aria ad alta pressione. ✓ sistemi a vapore. ✓ apparecchiature ad acqua. ✓ aspirazione con aspiratori dotati di filtri HEPA. ✓ detergenti non aggressivi. ✓ disinfettanti. ✓ sistemi manuali. Le operazioni di pulizia non devono causare alcun danno apprezzabile, né provocare l'erosione o la modifica della disposizione delle alette di passaggio dell'aria.
- **Sezione filtrante** La sezione filtrante deve essere accuratamente pulita ed ogni residuo o ruggine deve essere rimosso. I filtri devono essere regolarmente sostituiti, nel rispetto delle specifiche fornite dal costruttore.
- **Umidificatori adiabatici** Sulla base della valutazione del rischio, il circuito della sezione di umidificazione deve essere regolarmente sanificato senza compromettere l'integrità del componente. Qualora necessario, è richiesta anche la disincrostazione e la regolazione degli ugelli nebulizzatori.
- Canalizzazioni degli impianti centralizzati Sulla base della valutazione del rischio, le canalizzazioni devono essere preliminarmente pulite e successivamente disinfettate mediante nebulizzazione, con apparecchiature idonee, del prodotto disinfettante. Tale operazione deve essere eseguita in più punti della distribuzione aeraulica, per consentire il dispensamento del prodotto disinfettante su tutta la superficie delle canalizzazioni

• 5.7. Gestione degli impianti di raffreddamento a torri evaporative o a condensatori evaporativi La qualità dell'acqua utilizzata nelle torri evaporative e nei condensatori evaporativi deve essere controllata attraverso analisi microbiologiche periodiche. In Tabella 7 sono indicati i tipi di intervento da attuare sulla base della concentrazione di Legionella riscontrata in tale tipologia d'impianto. Si raccomanda di sottoporre a trattamento chimico, o analogo per risultati, l'acqua di raffreddamento, al fine di controllare il rischio che possa essere favorito lo sviluppo microbico a causa della mancanza di un"adeguata copertura biocida. Il trattamento dell'acqua di raffreddamento deve essere anche finalizzato a ridurre il rischio incrostazioni e corrosioni nell'impianto, la cui influenza indiretta nei confronti del potenziale di proliferazione batterica è significativa. Tali trattamenti devono costituire parte integrante del processo di valutazione del rischio legionellosi. Il trattamento biocida su base continua (il cui utilizzo deve essere modulato sulla base del corretto esercizio tecnologico dell'impianto) deve essere supportato mediante interventi di disinfezione routinari, le cui modalità e frequenza devono essere motivati dalla valutazione del rischio legionellosi. Vanno inoltre attuati interventi, di pulizia e drenaggio del sistema, accompagnati dalla sua disinfezione: ✓ prima del collaudo ✓ alla fine della stagione di raffreddamento o prima di un lungo periodo di inattività (la cui durata, dipendendo dalla tipologia di struttura presso cui l'impianto è esercitato, deve essere definita dalla valutazione del rischio legionellosi) ✓ all"inizio della stagione di raffreddamento o dopo un lungo periodo di inattività (la cui durata, dipendendo dalla tipologia di struttura presso cui l'impianto è esercitato, deve essere definita dalla valutazione del rischio legionellosi) ✓ almeno due volte l'anno nel caso di funzionamento continuativo dell"impianto. Per minimizzare i problemi dovuti alla precipitazione di sali, responsabili di incrostazioni, va previsto il ricambio periodico di parte della massa d'acqua circolante e, qualora necessario, l'addolcimento dell'acqua di reintegro all'impianto. I separatori di gocce sulle torri di raffreddamento e sui condensatori evaporativi devono essere mantenuti sempre in perfetta efficienza.

- 5.8. Gestione degli impianti a servizio delle piscine e degli idromassaggi alimentati con acqua dolce Per quanto riguarda le piscine, la normativa vigente prevede una concentrazione di cloro residuo libero nell'acqua della vasca da 0,7 1,5 mg/L. Sebbene tali valori del cloro rendano improbabile un"eventuale contaminazione da *Legionella*, tuttavia, si raccomanda almeno una volta all'anno la pulizia e la disinfezione shock della vasca, delle tubazioni, la sostituzione dei filtri della vasca, la revisione accurata dei sistemi di circolazione dell'acqua, con eliminazione di ogni deposito. I filtri dell'acqua, inoltre, devono essere puliti e disinfettati ogni 1-3 mesi. Le vasche per idromassaggio vanno sottoposte a controllo da parte di personale esperto, che deve provvedere all"effettuazione delle operazioni di pulizia e di corretta conduzione igienica quali: ➤ Sostituzione giornaliera di almeno metà della massa d"acqua contenuta nell"impianto (solo per vasche ≤ a 10 m3); ➤ Mantenimento di una concentrazione di cloro attivo libero nell'acqua della vasca pari a 0.7-1,5 mg/L e del pH tra 7,0-7,6. ➤ Pulizia e risciacquo giornaliero dei filtri. ➤ Controllo, almeno tre volte al giorno, della temperatura e della concentrazione del cloro e del pH in impianto. ➤ Disinfezione accurata dell"impianto almeno una volta a settimana.
- 5.9. Documentazione degli interventi I gestori di tutti gli impianti elencati sono tenuti a conservare la documentazione relativa a: > eventuali modifiche apportate a ciascun impianto a rischio > interventi di manutenzione ordinari e straordinari, relativi al controllo del rischio, applicati su ciascun impianto a rischio > operazioni di pulizia e disinfezione applicati su ciascun impianto a rischio. Tale documentazione deve essere messa a disposizione degli Organi di Controllo, quando richiesto.
- 5.10. Provvedimenti di emergenza in presenza di cluster Disattivazioni di impianti. A scopo preventivo, subito dopo averle ispezionate e provveduto a raccogliere campioni per il controllo analitico, tutte le attrezzature non essenziali identificate come possibili fonte di contagio (ad esempio piscine per idromassaggio, fontane ornamentali, ecc.), devono essere disattivate, fino a che vengano completati gli accertamenti analitici del caso; una volta ultimati gli accertamenti, qualora gli stessi risultino positivi, deve essere effettuata al più presto la disinfezione ambientale, seguita dalla successiva verifica della sua efficacia. Sospensione dell'attività della struttura interessata. La decisione se chiudere o meno la struttura, in presenza di un cluster, deve essere presa sulla base della valutazione del rischio, effettuata tenendo conto della tipologia della struttura coinvolta, dell'attuazione da parte del gestore delle misure raccomandate nei paragrafi precedenti, delle caratteristiche degli eventuali altri soggetti esposti, degli esiti ispettivi e, se disponibili, degli esiti analitici.

# 6. RISCHIO LEGIONELLOSI ASSOCIATO AD ATTIVITÀ PROFESSIONALE

**6.1. Introduzione** Dato il numero elevato, non è qui possibile elencare tutte le attività lavorative che possono presentare un rischio di legionellosi: d'altra parte la frequenza di questa patologia nei luoghi di lavoro non può essere facilmente stimata in quanto non sono disponibili statistiche. Il Decreto Legislativo 9 Aprile 2008, n. 81, le cui disposizioni costituiscono attuazione dell'articolo 1 della Legge del 3 Agosto 2007, n. 123, per il riassetto e la riforma delle norme in materia di Salute e Sicurezza delle lavoratrici e dei lavoratori nei luoghi di lavoro, mediante il riordino e il coordinamento delle medesime in un unico testo normativo, considera il rischio derivante da Legionella, nel suo Titolo X (Esposizione ad agenti biologici). All"Allegato XLVI sia la Legionella pneumophila sia le rimanenti specie di legionelle patogene per l'uomo (Legionella spp.) sono classificate quali agente biologico del gruppo 2 ossia, come definito all'articolo 268 (Classificazione degli agenti biologici) "un agente che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche". Pertanto, sulla base di quanto definito all"Art. 271, il Datore di Lavoro ha l"obbligo di valutare il rischio legionellosi presso ciascun sito di sua responsabilità e, di conseguenza, deve: > effettuare la valutazione del rischio legionellosi, tenendo conto di tutte le informazioni disponibili sulle caratteristiche dell'agente biologico e sulle modalità lavorative che possano determinarne l'esposizione > adottare misure protettive e preventive in relazione al rischio valutato > revisionare la valutazione del rischio legionellosi in occasione di modifiche significative dell'attività lavorativa o degli impianti idrici od aeraulici o qualora siano passati 3 anni dall'ultima redazione (fanno eccezione quelle tipologie di strutture per cui è richiesto un più frequente aggiornamento della valutazione del rischio: strutture sanitarie, termali) > se la valutazione mette in evidenza un rischio per la salute o la sicurezza dei lavoratori, adottare misure tecniche, organizzative, procedurali ed igieniche idonee, al fine di minimizzare il rischio relativo > adottare misure specifiche per le strutture sanitarie e veterinarie, per i laboratori e per i processi industriali > adottare specifiche misure per l'emergenza, in caso di incidenti che possono provocare la dispersione nell'ambiente dell'agente biologico > adottare misure idonee affinché i lavoratori e/o i loro rappresentanti ricevano una formazione sufficientemente adeguata. Per l'adozione delle misure protettive, preventive, tecniche, organizzative, procedurali ed igieniche idonee, si deve fare riferimento a quanto definito nelle presenti Linee guida.

**6.2.** Il rischio per operatori sanitari La trasmissione della malattia da persona a persona non è mai stata dimostrata. Pertanto per gli operatori sanitari di assistenza, il rischio di contrarre la legionellosi si riduce ai casi in cui avvenga l'inalazione di aerosol contaminato (ad esempio durante operazioni che riguardano l'igiene personale del paziente con utilizzo di acqua) al quale peraltro sono esposti anche i pazienti. Tale evento si configura come poco probabile se la struttura sanitaria si è dotata di un programma di controllo del rischio legionellosi correlata all'assistenza ed alla luce del più ridotto grado di suscettibilità all'infezione da parte di individui con sistema immunitario integro (in particolare in assenza di fattori predisponenti). All'opposto, i tecnici della prevenzione addetti agli interventi di ispezione, controllo e campionamento e, più in generale, gli addetti alla manutenzione degli impianti idrici e aeraulici, capaci di generare aerosol potenzialmente contaminati, devono ritenersi a maggior rischio di esposizione alla Legionella. Le aziende sanitarie, in relazione alla valutazione del rischio (v. Titolo X – D. Lgs 81/2008 e s.m.i.), individueranno tutte le misure di sicurezza di tipo collettivo necessarie da realizzare ed i dispositivi di protezione individuale (DPI) appropriati per tale rischio, da fornire agli operatori preposti alle attività in questione per tutelare la salute di questi soggetti nei confronti del rischio di esposizione a Legionella o nei confronti di rischi di natura non microbiologica, come ad esempio ustioni, lesioni da acqua in pressione, ecc. I Dispositivi di protezione collettiva sono: > sistemi filtranti da posizionare ai punti terminali o in alternativa agli snodi degli impianti per la produzione di acqua decontaminata da Legionella > sistemi di disinfezione dell'acqua che dimostrino nelle condizioni di impiego una comprovata efficacia (si deve verificare la documentazione tecnico –scientifica che attesti tale efficacia). Al riguardo tali sistemi devono essere classificati quali dispositivi di protezione collettiva ai sensi del D.Lgs 81/2008 e s.m.i., ne deriva quindi, in base a quanto indicato al Titolo I, Art.15 e Art.18 della suddetta legislazione che la misura di sicurezza scelta debba essere la migliore e la più appropriata per assicurare la protezione dal rischio specifico. Tali dispositivi dovrebbero pertanto essere in possesso di certificazioni di efficacia e di conformità per rispondere ai requisiti legislativi sopra menzionati, tra queste è senz'altro di riconosciuta validità la certificazione CE rilasciata da Organismo Notificato che abbia verificato le caratteristiche tecniche e funzionali di tali sistemi e che attesti il rilascio della menzionata certificazione quale atto di propria responsabilità per la commercializzazione all'interno dei paesi della UE. I Dispositivi di protezione individuale sono: > facciali filtranti per la protezione delle vie respiratorie provvisti di certificazione CE di cui al capitolo II della Direttiva 89/686/CE, basata sulla norma europea armonizzata EN 149. > occhiali di protezione per la protezione da schizzi di liquidi, per i quali sia stata rilasciata da un Organismo Notificato la certificazione CE di Tipo che attesti la qualifica come DPI ai sensi della Direttiva 686/89 in seconda categoria (o terza) e che evidenzi la protezione nei confronti degli schizzi di liquidi o nei confronti di rischi di natura non microbiologica, come ad esempio ustioni, lesioni da acqua in pressione, ecc. > guanti di protezione, per i quali sia stata rilasciata da un Organismo Notificato la certificazione CE di Tipo che attesti la qualifica come DPI ai sensi della Direttiva 686/89 in terza categoria e che evidenzi la conformità alla EN 374 > tute di protezione, per le quali sia stata rilasciata da un Organismo Notificato la certificazione CE di Tipo che attesti la qualifica come DPI ai sensi della Direttiva 686/89 in terza categoria e la conformità alle norme tecniche di tipo generale e specifico, necessarie a garantire la protezione da agenti biologici e da agenti chimici, quali la EN 14126, la EN 17491-4, la EN 14605, la EN 14325, la EN ISO 13982-1/2. Gli operatori devono essere addestrati al corretto utilizzo dei DPI e disporne in quantità e taglia adeguata.

- Settore odontoiatrico La qualità dell'acqua dei riuniti odontoiatrici è di considerevole importanza poiché sia i pazienti che gli operatori sono regolarmente esposti all'acqua ed all'aerosol generato dagli strumenti rotanti. Infatti una delle caratteristiche peculiari dell'acqua che alimenta la poltrona odontoiatrica è quella di combinare la capacità di sviluppare rapidamente il biofilm con quella di generare aerosol potenzialmente contaminato. Il biofilm, prodotto dai batteri che provengono dall'acqua d'alimento, diventa poi una fonte continua per la contaminazione del sistema. Allo stato attuale, pur essendo stato dimostrato il nesso di causalità tra infezione da legionella e contaminazione del circuito del riunito odontoiatrico (Ricci et al 2012.), non c'è evidenza di una larga diffusione di casi di legionellosi attraverso l'esposizione all'acqua di tali circuiti. Tuttavia è ampiamente dimostrata la presenza di Legionella al loro interno (Dutil et al., 2006; Montagna et al., 2006; Pasquarella et al., 2010). Per questo motivo, è importante ai sensi del citato D. Lgs 81/2008 attuare sempre tutte le misure di sicurezza per evitare il rischio di esposizione a potenziali patogeni e creare un ambiente di lavoro sicuro nel quale trattare i pazienti. Per minimizzare il rischio nel corso di procedure odontoiatriche, vengono di seguito fornite indicazioni di buona pratica da applicare in tale ambito. Per ridurre la contaminazione microbica e/o la formazione del biofilm all'interno dei circuiti idrici del riunito, si raccomanda di: > eliminare dal circuito i tratti esclusi dalle correnti di flusso > installare dispositivi antiristagno in grado di far circolare l'acqua in continuo, in particolare durante le pause lavorative > alimentare il circuito con soluzioni sterili, dopo averlo isolato dalla rete idrica b disinfettare l'acqua con trattamenti in continuo o discontinui. Questi ultimi, effettuati periodicamente o tra un paziente e il successivo utilizzando disinfettanti di alto livello, evitano la possibilità di contaminazioni chimiche del campo operatorio, riducono l'esposizione degli operatori e minimizzano il rischio di selezionare microrganismi resistenti, ma richiedono maggiore impegno di risorse e attenzione rispetto ai trattamenti in continuo. d Per ridurre l'esposizione del paziente ad aerosol potenzialmente contaminati e/o minimizzare il rischio nei pazienti più vulnerabili si consiglia di: > flussare ciascuno strumento accendendolo a vuoto, all'inizio di ogni giornata lavorativa (tempo minimo 2 minuti) e prima di ogni intervento (tempo minimo 20-30 sec.) (CDC, 2003) > installare, subito a monte dei manipoli, filtri (≤ 0,2 μm) in grado di trattenere i microrganismi provenienti dall'interno del circuito acquisire, preliminarmente all'inizio delle cure, informazioni sulla salute del paziente, con particolare riguardo alle condizioni che definiscono il "rischio molto elevato" (Tabella 9). In questo caso dovrebbero essere adottate rigorosamente le misure sopra illustrate, volte a contenere il rischio di contaminazione da Legionella. In considerazione dei dati di letteratura che dimostrano un"ampia contaminazione da Legionella dei circuiti dei riuniti odontoiatrici, la ricerca del microorganismo è raccomandata almeno una volta all"anno qualora le misure di minimizzazione del rischio sopra elencate non vengano messe in atto e ogni volta che si verifica un caso di malattia. Ogni studio odontoiatrico deve inoltre tenere un registro degli interventi effettuati. A tutela della salute del paziente, si sottolinea, infine, che per le procedure chirurgiche invasive devono essere utilizzate esclusivamente soluzioni sterili in circuiti di distribuzione a loro volta sterili. Nel caso in cui non vi fosse la garanzia di ottenere il requisito di sterilità per i circuiti propri del riunito, andrebbe realizzato un sistema di bypass utilizzando dispositivi sterili monouso o sterilizzabili.
- Il rischio per altre categorie di lavoratori In letteratura sono riportati casi di legionellosi verificatisi tra lavoratori delle seguenti categorie: ✓ Vigili del fuoco e altri operatori del soccorso pubblico e della difesa civile; ✓ Movimentatori di terra, minatori; ✓ Lavoratori dell'industria automobilistica; ✓ Personale addetto alle operazioni di manutenzione/pulizia delle torri evaporative (Buehler et al., 1985) e degli impianti di distribuzione /trattamento acqua sanitaria; ✓ Addetti alle piattaforme di trivellazione (Pastoris et al., 1987); ✓ Addetti agli impianti di depurazione; ✓ Addetti alla pulizia di turbine nel settore industriale; ✓ Giardinieri (Den Boer et al., 2007; Patten et al., 2010; Stojek and Dutkiewicz, 2002); ✓ Personale addetto alla vendita/manutenzione di vasche per idromassaggio; ✓ Operatori ecologici durante la pulizia delle strade con acqua a pressione; ✓ Lavoratori delle cave di marmo (durante le operazioni di taglio del marmo con acqua); ✓ Addetti alla pulizia negli autolavaggi; Anche sulla base di questa considerazione ciascun Datore di lavoro, secondo quanto previsto dal D. Lgs 81/2008 e successive modifiche ha l'obbligo di considerare che il rischio di legionellosi può riguardare sia i propri lavoratori che coloro che frequentano ciascun sito di sua responsabilità e pertanto si ribadisce l'obbligo di effettuare una valutazione del rischio (revisionandola almeno ogni 3 anni, salvo disposizioni più restrittive), così da mettere in atto tutte le misure di prevenzione e controllo descritte nei paragrafi precedenti, non solamente in risposta ad un caso di legionellosi, ma prima che questo si verifichi, quale prevenzione del rischio.

# ALLEGATO 13: Metodi di prevenzione e controllo della contaminazione del sistema idrico

- Misure a breve termine Poiché in assenza di interventi strutturali i metodi massivi di disinfezione non sono sufficienti ad eliminare definitivamente la presenza di Legionella dalle reti di distribuzione di acqua calda, è necessario mettere in atto le seguenti misure a breve termine indicate, in ogni caso, come buone pratiche di manutenzione di un impianto idrico per prevenire e contenere la contaminazione: > Decalcificazione degli elementi meno usurati mediante immersione in soluzione acida (acido sulfamico, acido acetico, ecc.) e successiva disinfezione, per un tempo non inferiore a 30 min, in acqua fredda contenente almeno 50 mg/L di cloro libero. > Sostituzione di giunti, filtri ai rubinetti, soffioni e tubi flessibili usurati alle docce, nonché di ogni altro elemento di discontinuità. La frequenza della sostituzione è usualmente in funzione delle caratteristiche dell'acqua. Ad esempio maggiore è la durezza dell'acqua, più frequente sarà la formazione di calcare e quindi l'usura degli elementi idraulici. Nell'espletamento delle operazioni sopra descritte occorre operare in conformità ai dettami del D.Lgs. 81/2008 e s.m.i., al fine di attuare tutte le misure di sicurezza necessarie ad esercitare la tutela prevista nei confronti del rischio di esposizione degli operatori e degli utenti a Legionella nelle strutture sottoposte a trattamento.
- Misure a lungo termine
- **Filtrazione al punto di utilizzo** La microfiltrazione consente la rimozione di *Legionella* dall"acqua in uscita al punto di utilizzo mediante l"impiego di una barriera meccanica (0,2 µm). E" un sistema di trattamento localizzato, facile da installare, basato sull"impiego di filtri che devono essere sostituiti con regolarità a causa del progressivo intasamento. Trova applicazione, in particolar modo, nei reparti dove sono ricoverati pazienti ad elevato rischio.
- Trattamento Termico Numerosi studi hanno dimostrato l'effetto inattivante prodotto dall'incremento di temperatura dell'acqua calda nelle reti idriche ospedaliere ed alberghiere. Negli impianti, ove l'acqua è costantemente mantenuta a temperature comprese tra 50 e 55°C, viene inibita la proliferazione di Legionella. Valori superiori a 60°C riducono il numero di colonie in modo proporzionale al tempo di esposizione (pastorizzazione). Per il trattamento di disinfezione si utilizzano due approcci: lo shock termico e la disinfezione termica
- Shock termico Procedura Consiste nell''elevare la temperatura dell''acqua a 70-80°C per tre giorni consecutivi assicurando il suo deflusso da tutti i punti di erogazione per almeno 30 min al giorno. Alcuni autori raccomandano lo svuotamento preventivo dei serbatoi di acqua calda, la loro pulizia e la successiva decontaminazione con 100 mg/L di cloro per 12-14 ore. Durante lo shock termico è fondamentale verificare che la temperatura dell''acqua raggiunga o ecceda i 60°C nei punti distali dell''impianto, altrimenti la procedura non assicura il raggiungimento dell''obiettivo. Al termine del trattamento occorre effettuare un controllo batteriologico su campioni di acqua prelevati nei punti distali dell''impianto. In caso di risultato sfavorevole, è necessario ripetere l''intera procedura fino alla decontaminazione della rete. In seguito occorre verificare periodicamente la presenza del batterio applicando i criteri riportati nel Capitolo 3. Vantaggi Non richiede particolari attrezzature e quindi può essere messa in atto immediatamente, soprattutto in presenza di un cluster epidemico. Svantaggi Questa procedura, pur garantendo una buona efficacia, è di difficile attuazione in quanto spesso gli impianti non permettono il raggiungimento di dette temperature. Ha costi elevati in quanto richiede un elevato consumo di energia tale, a volte, da non essere compatibile con le vigenti disposizioni in materia di risparmio energetico. Inoltre, può essere causa di ustioni agli utenti della rete idrica. Richiede tempo e personale nonché l'installazione di sonde remote e strumenti per il controllo sia del tempo di scorrimento che della temperatura dell''acqua nei serbatoi e nei punti distali. E" una modalità di disinfezione sistemica ma temporanea, in quanto non impedisce la ricolonizzazione dell''impianto idrico in un periodo di tempo variabile da alcune settimane ad alcuni mesi dal trattamento qualora la temperatura dell''acqua circolante scenda al di sotto dei 50°C. La tenuta idraulica dell''impianto potrebbe essere comprom

- Mantenimento costante della temperatura a 60°C a monte della miscelazione con acqua fredda (disinfezione termica) Procedura Si applica agevolmente agli impianti con doppio sistema di regolazione della temperatura dell'acqua, nei quali il primo (costituito da un termostato regolato a 60°C) serve a regolare la temperatura di accumulo nei bollitori, mentre il secondo (costituito da un miscelatore con acqua fredda posto all'uscita del bollitori ori primipianti onei primipianti onei primipianti onei di distribuzione di distribuzione di acqua calda a 48-53°C. In base alle temperatura ti inzirate, la Legionella non può svilupparsi nei bollitori, mentre il secondo (costituito da un miscelatore con acqua fredda ori di distribuzione del indicatore del indicatore dell'acqua a 65°C la temperatura di produzione dell'acqua calda sanitaria all'interno dei bollitori (regolazione primaria); ≯ si inibisce la miscelazione con acqua fredda attivando un by-pass al miscelatore mediante l'impiego di una valvola elettrica a due vie asservita ad un orologio programmatore; ≯ si effettua il ricircolo dell'acqua a 55-60°C in tutto l'impianto di distribuzione per almeno 30 min al giorno, preferibilmente durante le ore notturne al fine di limitare il consumo di acqua da parte degli utenti. Vantaggi Negli impianti dotati del doppio sistema di regolazione della temperatura descritto in precedenza, può essere messa in atto immediatamente. Non introduce contaminanti o sottoprodotti di disinfezione. Svantaggi Questa procedura, pur garantendo una buona efficacia, richiede un elevato consumo di energia tale, a volte, da non essere compatibile con le vigenti disposizioni in materia di risparmio energetico. Inoltre, può essere causa di ustioni agli utenti della rete idrica. Nel caso di impianti in cui l'acqua calda è prodotta e distributia a 48-50°C (ovvero ad una temperatura leggermente superiore a quella di utilizzo) la regolazione finale è lasciata ai singoli rubinetti (impianti con singola regolazione). In tali condizioni, a causa della minore
- Irraggiamento UV La luce ultravioletta a 254 nm è in grado di inattivare i batteri dimerizzando la timina presente nel DNA in modo da ostacolarne la replicazione. E" un metodo alternativo di disinfezione efficace in prossimità del punto di applicazione. Non avendo effetto residuo, non è adeguato, come unica modalità, al trattamento di un intero edificio dal momento che Legionella persiste nel biofilm, nei punti morti e nelle sezioni stagnanti dell'impianto. Procedura L'apparecchio deve essere installato in prossimità del punto di utilizzo. L'acqua fluisce all'interno di una camera idraulica, dove viene esposta alla luce ultravioletta generata da lampade al mercurio. All'origine dell'irraggiamento UV è necessario applicare lo shock termico o la clorazione al fine di contenere la contaminazione microbiologica nel resto dell'impianto. Vantaggi L'apparecchio viene facilmente installato negli impianti idrici pre-esistenti. Non sono stati riscontrati effetti avversi alle caratteristiche igienico-sanitarie dell'acqua o all'integrità delle tubature. A differenza di quanto accade con i disinfettanti chimici, il sapore dell'acqua non viene influenzato. Ad oggi non è stata riscontrata la formazione di sottoprodotti. Svantaggi L'irraggiamento UV risulta efficace se lo spessore del filetto fluido è limitato (in genere fino a 3 cm) e se l'acqua è scarsamente torbida. La mancanza di effetto residuo nei punti distali ne limita le potenzialità.
- Clorazione Il cloro è un agente ossidante utilizzato con successo nel controllo igienico-sanitario delle acque potabili. L'inattivazione e la soppressione di L. pneumophila richiedono una concentrazione costante compresa tra 1 e 3 mg/L. Per il trattamento di disinfezione si utilizzano due approcci: l'iperclorazione shock e l'iperclorazione continua. Tali procedure implicano un conseguente aumento della concentrazione in acqua del cloro residuo e dei potenziali sottoprodotti di disinfezione. La concentrazione ottimale di cloro da impiegare nei due approcci varia in base alle proprietà chimiche e chimico-fisiche dell'acqua e alle caratteristiche strutturali dell'impianto. Inoltre, dal momento che la sua attività biocida decresce rapidamente in ambiente alcalino, è necessario mantenere il pH dell'acqua a valori compresi tra 6 e 7 al fine di ridurre la sua concentrazione senza alterarne l'efficacia.
- Iperclorazione shock Procedura Viene praticata, dopo aver disattivato il riscaldamento del boiler ed atteso il raffreddamento dell'impianto a temperature non superiori a 30°C, sull'acqua fredda di reintegro effettuando una singola immissione di disinfettante (ipoclorito di sodio o di calcio) fino ad ottenere concentrazioni di cloro residuo libero di 20-50 mg/L in tutta la rete, ivi compresi i punti distali. Dopo un periodo di contatto di 2 h per 20 mg/L di cloro oppure di 1 h per 50 mg/L di cloro, l'acqua presente nel sistema di distribuzione viene drenata e sostituita con una nuova immissione di acqua fredda in quantità tale da ridurre la concentrazione di cloro residuo entro l'intervallo di 0,5-1,0 mg/L presso i punti distali dell'impianto. Vantaggi L'iperclorazione shock è un trattamento disinfettante forte. Svantaggi E' una modalità di disinfezione sistemica ma temporanea, in quanto non impedisce la ricolonizzazione dell'impianto idrico in un periodo di tempo variabile da alcune settimane ad alcuni mesi dal termine del trattamento. Ha un'azione fortemente corrosiva nei confronti dei materiali impiegati nelle reti idriche. Durante il trattamento è necessario interdire l'uso dell'acqua calda sanitaria da parte degli utenti e operatori al fine di evitare l'esposizione ad elevate concentrazioni del disinfettante.
- Iperclorazione continua Procedura Si ottiene con l'aggiunta continua di cloro che può essere introdotto, di norma, sotto forma di ipoclorito di calcio o di sodio. I livelli residui di cloro in questo caso possono variare a seconda della qualità dell'acqua, del flusso e della presenza di biofilm; ad ogni modo il disinfettante residuo deve essere compreso tra 1 e 3 mg/L. Vantaggi L'iperclorazione continua è una modalità di disinfezione generale che garantisce una concentrazione residua del disinfettante in tutto il sistema di distribuzione dell'acqua in modo da minimizzare la colonizzazione da Legionella nei punti distali. Svantaggi Il cloro è corrosivo e può provocare danni alle tubature. La concentrazione necessaria al trattamento non è compatibile con gli standard attuali sull'acqua potabile sia in termini di disinfettante residuo che come formazione di sottoprodotti. Pertanto, durante tutta la durata dell'iperclorazione continua, si raccomanda l'adozione di misure cautelative nei confronti di pazienti e/o operatori affetti da patologie cutanee o, comunque, sensibili alla presenza di cloro residuo ai livelli impiegati. E" inoltre necessario interdire l'uso potabile dell'acqua calda sanitaria (in particolare nella preparazione di cibi e bevande calde), informando al contempo l'utenza.

- Disinfezione con biossido di cloro Il biossido di cloro è stato utilizzato con successo in acquedottistica e successivamente applicato nel controllo della contaminazione da Legionella negli impianti per la produzione di acqua sanitaria. Rispetto al cloro ha il vantaggio di essere più attivo nei confronti del biofilm. Mostra una diversa efficacia in funzione dei materiali impiegati nella rete di distribuzione (maggiore su gomma rispetto alla plastica, mentre non sembra impiegabile in presenza di tubazioni in rame). Procedura Il biossido di cloro viene prodotto in loco utilizzando un apposito generatore installato in prossimità del punto di immissione in rete. La concentrazione efficace consigliata da alcuni autori varia tra 0,1 e 1,0 mg/L a seconda delle peculiarità dell'impianto, delle caratteristiche chimiche dell'acqua e del livello quali-quantitativo della contaminazione da Legionella. In caso di forte contaminazione microbiologica, è stato proposto il lavaggio temporaneo della rete di distribuzione con biossido di cloro a concentrazioni comprese tra 5 e 10 mg/L, assicurando il flussaggio di tutti i punti di prelievo. Al termine del breve trattamento shock, durante il quale deve essere interdetto il consumo dell'acqua calda sanitaria ad uso potabile, quest''ultima viene drenata e sostituita con un nuovo apporto fino a ridurre la concentrazione del biocida ai livelli di routine (0,1-1,0 mg/L). Vantaggi La sua azione non è influenzata dal pH dell'acqua trattata o dalla presenza di inibitori della corrosione. Non produce composti organoalogenati. Riduce la crescita del biofilm. Svantaggi Dà luogo alla formazione di sottoprodotti inorganici (clorito e clorato) della disinfezione. Alle concentrazioni più elevate (> 0,4 mg/L) manifesta un'azione corrosiva nei confronti delle reti di distribuzione dell'acqua calda sanitaria ed influisce negativamente sulla qualità dell'acqua distribuita.
- **Ozonizzazione** L''ozono è un eccellente biocida in grado di danneggiare irreversibilmente il DNA dei microorganismi. Viene introdotto in acqua alla concentrazione di 1-2 mg/L da un generatore operante in funzione della velocità di flusso dell'acqua da trattare. Essendo caratterizzato da un tempo di emivita estremamente breve non mostra effetto residuo, per cui non può essere impiegato nel trattamento sistemico dell'impianto. Ha un minimo impatto sul biofilm, produce sottoprodotti e, ad alte dosi, può danneggiare le condutture. La sua efficacia risulta moderatamente influenzata dal pH e dalla temperatura dell'acqua.
- Disinfezione con monoclorammina II trattamento con monoclorammina viene impiegato da oltre 20 anni negli USA per la disinfezione delle acque potabili. In Italia è stato recentemente sperimentato nel trattamento di disinfezione dell'acqua calda sanitaria. Procedura Viene introdotto in acqua alla concentrazione di 2-3 mg/L. Vantaggi Ha la stessa modalità di azione del cloro, ma decade più lentamente in quanto è scarsamente volatile e non forma trialometani con la sostanza organica disciolta. La maggiore persistenza in acqua rispetto al cloro e al biossido di cloro ne assicura una più efficace diffusione nelle zone stagnanti e all'interno del biofilm. In generale presenta una maggiore compatibilità con i materiali impiegati nelle reti di distribuzione. E" tuttavia incompatibile con alcuni tipi di gomma impiegata nelle guarnizioni idrauliche. Svantaggi Alcuni studi hanno evidenziato la formazione di N-nitrosodimetilammina e un incremento della concentrazione dello ione nitrito. Allo stato attuale necessita di ulteriori conferme sperimentali.
- lonizzazione rame-argento Metalli come il rame e l'argento sono noti agenti battericidi: l'effetto è dovuto principalmente alla loro azione sulla parete cellulare del microrganismo, che comporta una distorsione della permeabilità cellulare. Ciò, unito alla denaturazione proteica, determina la lisi cellulare. Procedura Gli ioni rame ed argento sono generati elettroliticamente in quantità proporzionale all'intensità di corrente applicata agli elettrodi ed al tempo di elettrolisi. La concentrazione in acqua, proposta da alcuni autori, è di 0,02-0,08 mg/L per lo ione argento e di 0,2-0,8 mg/L per lo ione rame. L'impiego di questa tecnica necessita di verifiche sperimentali sull'efficacia nel sistema di applicazione. Vantaggi Il metodo è di facile applicazione e non è influenzato dalla temperatura dell'accua. Inoltre, a causa dell'accumulo del rame nel biofilm l'effetto battericida persiste per alcune settimane dalla disattivazione del sistema di trattamento riducendo la possibilità di ricolonizzazione. Ad oggi non è stata riscontrata la formazione di sottoprodotti di disinfezione. Svantaggi Poiché le concentrazioni degli ioni rame ed argento sono soggette a fluttuazioni, è necessario controllare sistematicamente il loro valore nonché il pH dell'accua (valore ottimale: 6-8). Sia il cloro libero residuo che gli inibitori della corrosione possono alterare la concentrazione degli ioni rame, riducendone l'efficacia. Tale tecnica non è adatta al trattamento di reti idriche in acciaio inox, acciaio zincato e rame a causa di fenomeni ossido-riduttivi che si possono innescare tra le tubazioni ed il disinfettante.
- Disinfezione con perossido di idrogeno e ioni argento Il trattamento viene effettuato tramite una soluzione stabile e concentrata contenente perossido di idrogeno (acqua ossigenata) e ioni argento, sfruttando l'azione battericida di ciascun componente e la sinergia che tra di loro si sviluppa (effetto catalitico dello ione argento). L'impiego di questo disinfettante è relativamente recente e necessita ulteriori conferme sperimentali. Procedura Il reagente, in soluzione stabilizzata, viene immesso in rete mediante una pompa dosatrice controllata da un idoneo dispositivo di regolazione in funzione del flusso dell'acqua da trattare. La concentrazione in acqua proposta da alcuni autori per il controllo della contaminazione della rete idrica è di 10 mg/L per il perossido di idrogeno e di 10 µg/L per lo ione argento. Vantaggi L'azione ossidante del perossido di idrogeno è meno aggressiva di quella esercitata dal biossido di cloro o dal cloro. Ad oggi non è stata segnalata la formazione di sottoprodotti inorganici ed organici. La concentrazione di ioni argento è estremamente modesta e se ben gestita non determina carichi inquinanti. Svantaggi Allo stato attuale non esistono ancora prove esaustive sul comportamento dinamico di tale disinfettante nel tempo. Uno studio recente ha evidenziato la sua scarsa efficacia nei confronti di Legionella pneumophila sierogruppo 1 sottotipo Philadelphia. Poiché le concentrazioni di perossido di idrogeno e di ioni argento sono soggette a fluttuazioni, è necessario controllare sistematicamente il loro valore. Tale tecnica non è adatta al trattamento di reti idriche in acciaio zincato dal momento che lo zinco è in grado di rimuovere l'argento per ossidoriduzione.
- Disinfezione con acido peracetico Alcune esperienze hanno dimostrato una discreta efficacia di questo biocida nei trattamenti shock.



Grazie per l'attenzione