

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II  
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**Dottorato di Ricerca in Ambiente, Prevenzione e Medicina Pubblica,  
indirizzo Igiene Ambientale (XXI ciclo)  
Coordinatore Prof. Claudio Buccelli**

***TESI DI DOTTORATO***

***Progetto di ricerca triennale per l'implementazione di sistemi di  
sorveglianza ambientale e di controllo del rischio di infezioni da  
Legionella in un'Azienda Ospedaliera***

***Docente guida***

***Prof.ssa Maria Triassi***

***Dottoranda***

***Dott.ssa Sara Montegrosso***

***Anno Accademico 2007 – 2008***

# INDICE

INTRODUZIONE.....	1
IL PROGRAMMA DI SORVEGLIANZA AMBIENTALE .....	5
LA DESCRIZIONE DELLA STRUTTURA.....	8
PROGETTO DI RICERCA.....	10
OBIETTIVI DEL PROGETTO.....	13
MATERIALI E METODI.....	14
RISULTATI.....	18
CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI.....	24
BIBLIOGRAFIA.....	27

## INTRODUZIONE

Il problema della legionellosi è segnalato nel mondo ed anche in Italia da oltre 20 anni ed ha sempre suscitato interesse vivace da parte dei ricercatori, dei gestori delle strutture pubbliche e private, dei responsabili di Sanità Pubblica, della popolazione in generale e talvolta della Magistratura e soprattutto in seguito alla segnalazione di casi isolati o di cluster nosocomiali e comunitari.

Lo studio e la gestione delle problematiche relative alla qualità dell'acqua erogata in strutture sanitarie è divenuto oggi un tema di grande interesse da parte degli organi sanitari responsabili, in quanto una contaminazione dell'acqua destinata al consumo umano rappresenta un pericolo sanitario serio ed un potenziale evento avverso per il paziente che presenta fattori di rischio quale l'immunodepressione.

Una rete idrica non protetta da eventuali contaminazioni di natura microbiologica, sia perché non sottoposta ad interventi di disinfezione e manutenzione, sia per le sue caratteristiche strutturali intrinseche, può determinare l'erogazione di un'acqua che manca dei requisiti di qualità e come tale diviene vettore di infezione.

L'associazione tra la presenza di *Legionella* nella rete idrica e la Malattia dei legionari, infatti, è un esempio noto di infezione nosocomiale.

Gli impianti idrici, nel loro normale funzionamento, possono favorire la diffusione di microrganismi attraverso la formazione di aerosol o nebulizzazioni; tra questi la *Legionella pneumophila* risulta essere di particolare pericolosità nelle strutture sanitarie poiché può generare facilmente infezioni e focolai epidemici. Il paziente ricoverato, infatti, presenta una serie di fattori predisponenti, quali malattie croniche o immunodeficienza, che lo rendono particolarmente esposto al rischio.

Sebbene fino ad oggi siano state descritte 45 diverse specie di *Legionella*, non tutte sono associate alla malattia nell'uomo; la specie più frequentemente rilevata nei casi diagnosticati, infatti è *L. pneumophila*. La specie *Legionella pneumophila* è divisa in 14 sierogruppi antigenicamente diversi; il sierogruppo 1 è il responsabile principale, fino a più dell'80%, dei casi di legionellosi diagnosticati.

Abitualmente l'infezione è acquisita per inalazione o aspirazione di *legionelle* presenti nell'ambiente, principalmente attraverso aerosol contaminati provenienti da impianti di climatizzazione, da rubinetti di lavabi o dagli erogatori delle docce; un veicolo importante in ospedale è costituito anche dagli apparecchi per la respirazione assistita e per le terapie inalatorie.

Secondo alcuni autori le *Legionelle* sono responsabili dell'1-5% dei casi totali di polmonite comunitaria e del 3-20% di tutte le polmoniti nosocomiali. Applicando queste percentuali al numero totale di polmoniti nosocomiali che si verificano ogni anno in Italia si otterrebbe un numero di casi di malattia almeno dieci volte superiore a quello attualmente notificato.

Il Dipartimento di Scienze Mediche Preventive dell'AOU Federico II fa parte dal 1999 del Gruppo Multicentrico di Studio sulla Legionellosi, che ha aggregato ricercatori interessati alla problematica delle infezioni da legionella e che operano prevalentemente nell'ambito dell'Igiene e della Sanità Pubblica con il supporto delle Direzioni Sanitarie di Aziende Ospedaliere di Rilevanza Nazionale. Il Gruppo, coordinato dall'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia e composto da Unità operative dislocate in varie realtà italiane (Bari, Bologna, Catania, Milano, Napoli, Reggio Emilia, Roma e Torino) ha ricevuto due finanziamenti biennali dal Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica, che gli hanno consentito di svolgere due programmi di ricerca, con l'obiettivo di approfondire le conoscenze su alcuni aspetti

critici e tuttora poco conosciuti del rischio legionellosi, attraverso un'indagine multicentrica che si avvale di un approccio integrato epidemiologico e molecolare. In questo modo è stato possibile raccogliere molti dati e informazioni preziose sulla diffusione di legionella nelle strutture italiane, individuare specie e sierogruppi prevalenti, evidenziare le caratteristiche molecolari dei ceppi isolati, stabilire i fattori di rischio associati alla colonizzazione e all'infezione, valutare l'efficacia dei trattamenti di disinfezione attuati, avere un'idea della prevalenza dell'infezione e della malattia.

Negli ultimi anni numerose strutture sanitarie campane si sono rivolte al Dipartimento per affrontare la difficile questione della legionella, che richiede un notevole investimento di risorse sia umane che economiche. Sono state monitorate nel tempo circa 40 strutture, tra Aziende Ospedaliere, Cliniche e Presidi di diverse AASSLL dislocate su tutto il territorio campano, incluso il nostro Policlinico. In questo modo è stato possibile valutare nel tempo il livello di contaminazione da legionella spp sia nell'impianto idrico che di condizionamento e delineare la situazione nella nostra realtà regionale.

Dalla nostra attività di sorveglianza è emerso che:

1. La maggior parte delle strutture sanitarie monitorate è risultata contaminata da Legionella.
2. E' stato necessario molto spesso applicare metodi di bonifica
3. La scelta del sistema di bonifica è stata resa difficile dalla vetustà delle strutture e dalla mancanza di conoscenze delle caratteristiche tecnico-strutturali degli impianti
4. Nessun sistema di disinfezione garantisce un'efficacia del 100%

5. Nella maggior parte dei casi è stato necessario associare diversi tipi di trattamento per avere un risultato soddisfacente
6. L'efficacia di qualsiasi intervento di bonifica è ridotta se non supportato da una corretta e periodica manutenzione degli impianti
7. La conferma dell'efficacia a breve termine di qualsiasi intervento di bonifica, come riportato in letteratura, sottolinea l'importanza della sorveglianza ambientale continua delle strutture, della ripetizione periodica del trattamento, nonché della corretta applicazione dello stesso.

La scelta della metodica più appropriata dipende, previa attenta valutazione dei costi-benefici, dalle caratteristiche della struttura in cui si intende operare (ad esempio reparti a rischio di un ospedale presentano problematiche diverse rispetto ad uno stabilimento termale o ad un albergo), dell'impianto idrico e dell'acqua stessa (ad esempio la complessità ed il materiale di costruzione delle tubazioni possono impedire l'azione di un disinfettante, così come pH, temperatura e torbidità dell'acqua possono ridurre l'efficacia). Gli interventi di bonifica adottati dalle varie strutture sono stati differenti (iperclorazione, shock termico, clorazione continua, lampade a raggi UV, applicazione filtri), per cui è stato possibile confrontarne gli effetti e paragonarne l'efficacia.

L'adozione di misure preventive e di controllo, anche se costose, appare giustificata dal fatto che la malattia viene diagnosticata raramente. Ciò dipende da un mancato accertamento di tutti i casi e per questo la frequenza della malattia può essere sottostimata. Come già sottolineato, i casi sono drammaticamente sottostimati nell'Italia meridionale, ed in particolar modo nella nostra regione, nonostante due considerazioni:

1. rispetto a pochi anni fa le indagini di laboratorio e di microbiologia hanno reso più facile la ricerca e la identificazione del batterio, rendendo la diagnosi più sensibile e specifica ed a costi più accessibile.
2. esistono allo stato attuale efficaci misure preventive e di controllo in grado di minimizzare la contaminazione delle matrici ambientali e le susseguenti infezioni da legionella.

Preoccupa ancora di più la considerazione che molti degli ospedali sorvegliati in Campania risultano fortemente contaminati, e pertanto è molto verosimile la comparsa di casi sporadici o di clusters epidemici.

## **IL PROGRAMMA DI SORVEGLIANZA AMBIENTALE**

Si prende in esame un'Azienda Ospedaliera che ha messo in atto una strategia per la prevenzione e il controllo della Legionellosi, basata sulla stesura di un programma di sorveglianza nato dalla collaborazione tra la Direzione Sanitaria, il Dipartimento di Scienze Mediche Preventive, l'Ufficio Tecnico e la Microbiologia clinica.

Tale programma si pone i seguenti obiettivi:

- 1) Valutare la diffusione del microrganismo nell'ambiente della rete idrica;
- 2) Determinare il livello di contaminazione della rete idrica nei diversi edifici della struttura sanitaria;
- 3) Definire il rischio di infezione corrispondente al livello di contaminazione;
- 4) stimolare i medici a prendere in considerazione le infezioni da legionella nella diagnosi differenziale delle infezioni delle basse vie respiratorie;
- 5) fornire uno strumento operativo per facilitare l'accertamento dei casi;

- 6) individuare le scelte strategiche e le misure preventive e di controllo più appropriate attraverso la valutazione dei risultati ottenuti dalle indagini ambientali ed in base alle risorse disponibili;
- 7) Stimare l'efficacia dell'attuazione del programma di sorveglianza ambientale come strumento indispensabile per programmare gli interventi di bonifica necessari alla riduzione del rischio.

Il piano di autocontrollo e di sorveglianza messo a punto è riassumibile in tre momenti fondamentali:

- Monitoraggio delle matrici ambientali. Rilevazione analitica periodica (ogni sei mesi) delle concentrazioni di legionella nei punti critici della rete di distribuzione e nei reparti con i degenti più a rischio dell'Azienda (in tutto vengono monitorati 15 edifici, i boiler di ciascuno di essi, i serbatoi)
- Sorveglianza clinica: a) sensibilizzazione dei medici di reparto ed arruolamento di pazienti con segni clinici patognomonic e/o concomitanti fattori di rischio di infezione; b) ricerca di antigeni di legionella su un campione urinario; c) ricerca colturale ed identificazione di specie, in pazienti positivi alla ricerca di antigeni urinari, su adeguati campioni delle basse vie respiratorie (espettorato spontaneo o indotto, BAL, broncoaspirati, biopsie), emocolture, raccolte ascessuali o liquido pleurico o pericardico in corso di complicanze
- Protocollo di Manutenzione e Bonifica: in collaborazione con l'Ufficio Tecnico, vengono messe in atto tutte quelle procedure tese alla prevenzione delle possibili cause e condizioni che favoriscono la sopravvivenza e la moltiplicazione dei batteri. I sistemi di riscaldamento, ventilazione e condizionamento dell'aria e i loro componenti, così come l'acqua potabile,



possono favorire e amplificare la diffusione di sostanze aerodisperse. In particolare gli adempimenti routinari dell'Ufficio Tecnico sono:

- evitare la formazione di ristagni d'acqua;
- provvedere ad effettuare la pulizia periodica degli impianti;
- sostituire periodicamente rubinetteria e altre parti terminali
- limitare la possibilità di nicchie biologiche per i microrganismi attraverso la pulizia degli impianti, la prevenzione e la rimozione dei sedimenti dai serbatoi d'acqua calda, bacini di raffreddamento e altre misure igieniche;
- mantenere efficienti i separatori di gocce montati a valle delle sezioni di umidificazione;
- controllare lo stato di efficienza dei filtri ed eliminare l'eventuale presenza di gocce d'acqua sulle loro superfici;
- controllare, ove possibile, la temperatura dell'acqua in modo da evitare l'intervallo critico per la proliferazione dei batteri (25-55°C).

## **DESCRIZIONE DELLA STRUTTURA**

L'Azienda in esame è costruita su di un'area di 40 ettari e rientra nella tipologia a padiglioni collegati da due gallerie di servizio e da una viabilità principale e secondaria. Tale struttura consta di 19 edifici, ognuno comprendente uno o più dipartimenti e conta 1270 posti letto.

## **STATO ATTUALE DEGLI IMPIANTI**

L'impianto idrico sanitario viene alimentato dalla rete idrica cittadina da due punti.

Il primo alimenta a pressione di rete gli edifici 1, 2, 3, 4; l'altro alimenta un serbatoio da 1000 m<sup>3</sup> costituito da due vasche uguali di cui una è fuori servizio. Da questo, attraverso pompe di sollevamento, viene alimentato il serbatoio di piezometrica e da qui, per gravità, tutti i restanti fabbricati.

I serbatoi hanno accesso diretto ed esclusivo dall'esterno.

La compensazione dei volumi dovuta alle modifiche di livello nei serbatoi avviene attraverso grate di ferro; quella relativa al serbatoio di piezometrica è munita di un filtro per trattenere le polveri.

I serbatoi sono realizzati in calcestruzzo cementizio armato e sono impermeabilizzati all'interno, permettono un controllo delle pareti laterali e, allo stato, presentano perdite di lieve entità.

## **LA RETE DI DISTRIBUZIONE**

La rete di distribuzione segue un percorso a grandi maglie in modo da permettere l'alimentazione di ogni fabbricato da due punti. E' costituita da tubazione di vario materiale (ghisa sferoidale, acciaio catramato, acciaio zincato) e vari organi di intercettazione permettono il fermo di alcuni tratti della condotta per poter intervenire in caso di guasto.

Dalla rete vengono alimentati direttamente, e quindi alla stessa pressione, gli impianti antincendio, mentre la pressione dell'acqua potabile a servizio degli edifici viene ridotta a circa 4 barr con apposite apparecchiature poste alle due estremità est-ovest degli edifici.

Nei vari fabbricati le tubazioni di distribuzione principale si sviluppano dal piano cantinato e attraverso montanti alimentano le utilizzazioni ai vari piani.

## **PRODUZIONE DELL'ACQUA CALDA**

Dalla rete fredda vengono alimentati i boiler (preparatori di acqua calda) installati nelle sottocentrali termiche dei fabbricati e l'acqua prodotta dai citati preparatori (fluido primario acqua surriscaldata) ad una temperatura di oltre 60°C, viene successivamente miscelata per portare la temperatura a circa 40°C. Per permettere una pronta immissione alla temperatura predetta, l'impianto è realizzato a circuito con tubazione di mandata e ritorno.

L'impianto, dunque, è singolare per la presenza di serbatoi di grande volume e per la presenza di tratti in cui la circolazione dell'acqua può essere nulla. Analoghi tronchi si possono avere nelle reti di distribuzione secondarie a seguito di dismissione di utilizzazioni o per un mancato utilizzo delle stesse.

## **PROGETTO DI RICERCA**

Nel corso del programma di Sorveglianza ambientale è emersa più volte la necessità di effettuare interventi di bonifica.

Si è cercato sempre di scegliere l'intervento più adatto alle caratteristiche dell'impianto, alla rete di distribuzione e alla produzione di acqua calda.

Purtroppo la struttura in oggetto risale agli anni 70 e gli impianti sono quelli originali, non è stato pertanto possibile effettuare interventi di sanificazione spinta quali shock termico e iperclorazione così come riportati dal Documento di Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi (G.U. n. 103 del 05/05/00) anche perché presentano notevoli difficoltà di realizzazione quali la presenza di tronchi morti difficili da bonificare e la chiusura di reparti di degenza e delle sale operatorie, con conseguenti enormi disagi operativi per l'azienda. Inoltre lo shock termico può avere conseguenze strutturali dannose per gli effetti dovuti alla eccessiva dilatazione delle tubazioni aggravata dalla vetustà dell'impianto pertanto esso è stato utilizzato solo sui boiler ottenendo discreti risultati. Sul sistema idrico inizialmente si è intervenuto tramite interventi di sanificazione dei becchi erogatori ed aumento della temperatura dell'acqua calda sanitaria.

Questi metodiche non sono state sufficienti a contenere l'elevata contaminazione microbica, pertanto sono in fase di sperimentazione soluzioni alternative compatibili con le risorse disponibili. Tenendo presente la complessità della struttura a poliblocco dell'Azienda si è convenuto con la Direzione Sanitaria e il personale dell'Ufficio Tecnico, sulla necessità di adottare contemporaneamente diversi tipi di interventi in maniera tale da sperimentarne l'efficacia e ottenere una significativa diminuzione della carica di legionella in tutta l'Azienda con particolare attenzione alle zone più a rischio.

In un'ottica di miglioramento continuo del programma di sorveglianza è stato promosso un progetto di ricerca della durata di tre anni finalizzato all'attuazione di una sperimentazione che prevede la valutazione di efficacia di sistemi di bonifica per il controllo della contaminazione da legionella.

Nel corso di questi anni pertanto sono state applicate e valutate nel tempo diverse tipologie di interventi attraverso la stretta collaborazione tra la Direzione Sanitaria, il personale addetto al controllo delle infezioni ospedaliere e gli addetti alla conduzione e manutenzione degli impianti idrici.

La mancanza di un mezzo efficace al 100% per la bonifica del sistema idrico rappresenta uno dei punti deboli di ogni strategia di controllo della legionellosi e ha indotto alcune strutture sanitarie a dotarsi di sistemi di disinfezione in continuo. Nell'Azienda in esame dalla fine del 2004 è in funzione un sistema di Clorazione Continua tramite l'applicazione di un impianto per il dosaggio automatico di ipoclorito di sodio nell'acqua distribuita in rete. Il vantaggio di questo metodo 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 della legionella nei punti distali. Lo svantaggio è legato al fatto che il cloro è corrosivo e può provocare danni alle tubature. Inoltre, la quantità di cloro residuo prevista (1-3 mg/l) è difficilmente compatibile con gli standard attuali dell'acqua potabile sia come disinfettante residuo che come presenza di sottoprodotti. L'impianto è ubicato all'interno della sala pompe sottoposta al serbatoio di rilancio verso la vasca di carico ed è costituito da tre pompe dosatrici elettromagnetiche a membrana, dotate di dispositivi divisori elettronici per ottenere una regolazione del quantitativo di ipoclorito immesso.

Da febbraio 2006 tale metodologia è stata associata a un intervento che prevede l'effettuazione dello Shock Termico sull'intera rete idrica della struttura secondo quanto previsto dalle "Raccommenations of CDC and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committe". Sono quattro le fasi di cui si compone:

1. innalzamento della temperatura dei boilers a 71-77 °C con predilezione dell'orario notturno;
2. attivazione delle pompe di ricircolo per distribuire l'acqua così surriscaldata anche nella rete di distribuzione fino ai rubinetti;
3. mantenimento delle condizioni di cui ai punti precedenti per circa 30 minuti;
4. ritorno graduale alle condizioni di esercizio.

Attraverso valutazioni in itinere ottenute da monitoraggi microbiologici ambientali gli interventi di bonifica, periodicamente ripetuti, sono stati adattati alle specifiche caratteristiche strutturali ed organizzative dell'Azienda ed associati alle regolari misure di manutenzione nonché al mantenimento della temperatura dell'acqua al di fuori dell'intervallo critico di 20-50°C.

## **OBIETTIVI DEL PROGETTO**

Gli obiettivi di tale sperimentazione sono stati i seguenti:

1. Determinazione del tipo e dell'entità della contaminazione da legionella nel sistema idrico e di condizionamento della struttura prima e dopo l'effettuazione della bonifica così concepita.
2. Valutazione dell'efficacia dell'associazione degli interventi di bonifica a medio e lungo termine.
3. Individuazione delle criticità percepite come più rilevanti.

Oltre ai prelievi semestrali da effettuare come da protocollo su tutti gli edifici sottoposti a sorveglianza sono stati effettuati ulteriori campionamenti sugli edifici che di volta in volta vengono trattati con lo shock termico. Un primo controllo viene effettuato subito dopo il trattamento e poi i successivi a distanza di due mesi per verifica della bonifica l'efficacia nel tempo .

I risultati dei prelievi di controllo sono stati confrontati con quelli effettuati precedentemente e l'efficacia e l'opportunità del trattamento vengono valutate anche alla luce degli effetti a lungo termine dello stesso.

Inoltre sono state valutate:

1. l'entità della contaminazione da legionella prima e dopo il trattamento di bonifica, sia da un punto di vista qualitativo che quantitativo.
2. la distribuzione dei vari sierotipi di legionella negli edifici prima e dopo la bonifica
3. gli effetti dei trattamenti sul sistema idrico.

## **MATERIALI E METODI**

Il programma di sorveglianza ambientale ha previsto controlli ambientali su tutti i punti di studio individuati, con frequenza periodica e in base all'effettuazione degli interventi di bonifica.

Nel nostro studio sono stati sottoposti a controllo i reparti considerati a rischio per la presenza di degenti con patologie debilitanti o sottoposti a terapie immunosoppressive:

- ❖ **Punto 1:** Edificio A (Centro Trapianti-Ematologia)
- ❖ **Punto 2:** Edificio B (UTIC e Terapia Intensiva)
- ❖ **Punto 3:** Edificio C (Centro dialisi - Sala trapianti)
- ❖ **Punto 4:** Edificio D (Degenza Chirurgia Generale Geriatrica)
- ❖ **Punto 5:** Edificio E (Degenza Terapia Intensiva)
- ❖ **Punto 6:** Edificio F (Degenza Clinica Ostetrica)
- ❖ **Punto 7:** Edificio G (Degenza Dermatologia)
- ❖ **Punto 8:** Edificio H (Degenza Prematuri)
- ❖ **Punto 9:** Edificio I (Degenza Ortopedia)
- ❖ **Punto 10:** Edificio L (Degenza Otorinolaringoiatria)
- ❖ **Punto 11:** Edificio M (Degenza Chirurgia Maxillo-Facciale)
- ❖ **Punto 12:** Edificio M (Degenza Clinica Oculistica)
- ❖ **Punto 13:** Edificio O (Degenza Neurochirurgia)
- ❖ **Punto 14:** Edificio P (Degenza Neurologia)
- ❖ **Punto 15:** Edificio Q (Degenza Clinica Malattie Infettive)

### **Procedura metodologica**



Il programma ha previsto la seguente procedura metodologica:

- Ispezioni e prelevamento di campioni ambientali con frequenza semestrale.
- Registrazione delle visite ispettive con indicazione di data e struttura ispezionata.
- Procedure ispettive per i reparti a rischio: l'unità responsabile si reca presso i reparti a rischio per procedere all'ispezione utilizzando le schede di rilevazione specifica.
- I punti sottoposti al campionamento ambientale sono stati scelti sia sulla base della struttura dell'impianto sia in rapporto al rischio teorico di formazione di aerosols con possibile disseminazione di legionella.

### **Modalità di prelievo**

La Legionella viene ricercata nell'ambiente idrico artificiale (impianti idrici) limitando i prelievi ai reparti di degenza che maggiormente possono essere critici sia in base alla struttura dell'impianto, sia in funzione dei dati epidemiologici. I campioni sono rappresentati dall'acqua del rubinetto o della doccia del circuito dell'acqua calda e di quello dell'acqua fredda, qualora la temperatura sia superiore a 20°C.

Il volume di acqua prelevato è di 2 litri per campione. Per la ricerca di *Legionella* si preleva dal circuito dell'acqua calda, senza flambare al punto di sbocco, a meno che la ricerca non sia quantitativa, e si raccoglie l'acqua in recipienti sterili nei quali viene aggiunto sodio tiosolfato ad una concentrazione finale di 0.01% , nel caso in cui essa contenga cloro. Tutte le operazioni vengono eseguite osservando le precauzioni necessarie alla tutela della salute dell'operatore (mascherine, guanti, occhiali). All'atto del prelievo, il recipiente sterile viene aperto in modo da non contaminare la parte interna del tappo a vite che va a contatto con il campione prelevato, e viene repentinamente chiuso al termine dell'operazione.

Il primo litro di campione viene raccolto senza far scorrere l'acqua, il secondo litro viene invece prelevato dopo averla fatto scorrere per qualche minuto; in tal modo è possibile avere sia l'aliquota di acqua concentrata nel tratto terminale del rubinetto, sia quella proveniente da distretti più distali.

A fine prelievo viene effettuata la misurazione della temperatura e del cloro residuo, due parametri suscettibili di sensibili variazioni durante le procedure di conservazione e trattamento del campione.

La temperatura viene presa con un comune termometro di vetro al mercurio che possa consentire la valutazione dell'intervallo critico per la proliferazione di legionella (25-55°C). La determinazione del cloro residuo (presente in acqua come cloro libero, ioni ipocloroso e ioni ipoclorito), è stata effettuata con un apparecchio per la misurazione istantanea.

## **Trasporto**

I campioni vengono trasportati in contenitori frigo portatili al riparo dalla luce e vanno consegnati al laboratorio in tempo utile affinché l'analisi venga iniziata non oltre 24 ore dal prelievo. In laboratorio essi vengono sottoposti a:

- ✓ registrazione
- ✓ analisi per la ricerca qualitativa e quantitativa del batterio legionella su specifici terreni di coltura
- ✓ eventuali prove biochimiche che possano essere d'aiuto per l'identificazione.
- ✓ Protocollo analitico per legionella, ricerca della carica batterica, procedure di isolamento e identificazione seguono le indicazioni del Documento di linee guida per la prevenzione e controllo della legionellosi. (G.U. n. 103 del 05/05/00)

I risultati vengono poi trascritti, trasmessi alla Direzione Sanitaria e archiviati.

### **Interpretazione dei dati**

Secondo le linee guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi predisposte dal Ministero della Sanità, la valutazione del rischio di contrarre la malattia è suggerita dalle seguenti concentrazioni:

- Presenza di una concentrazione di legionelle fino a  $10^2$  UFC/L (assenza di casi):  
*presenza limitata, non è necessario alcun intervento*
- Presenza di una concentrazione di legionelle compresa tra  $10^3$ - $10^4$  UFC/L:  
*contaminazione, si potrebbero verificare casi sporadici.*
- Presenza di una concentrazione di legionelle  $> 10^4$  UFC/L: *contaminazione importante.*

### **RISULTATI DEL PROGETTO DI RICERCA**

Dal 2002 nell'Azienda Ospedaliera sono cominciati controlli routinari sull'acqua calda sanitaria per la ricerca di Legionella attraverso l'effettuazione di prelievi random con cadenza semestrale su tutti gli edifici (un prelievo per edificio).

Il progetto di ricerca analizza i risultati delle bonifiche effettuate sui punti critici individuati nel corso della Sorveglianza ambientale a partire dal 2005.

Da settembre 2004 è in funzione un sistema di Clorazione Continua che ha assicurato da allora l'aumento della concentrazione di cloro immessa nella rete idrica fino a un valore di 0,2 mg/l. I risultati di tale applicazione hanno evidenziato una netta diminuzione della concentrazione di Legionella sierogruppi 2-14, che in tutti i campionamenti successivi alla bonifica è risultata assente. La concentrazione media di Legionella sierotipo 1 non ha subito variazioni significative. La Legionella spp, invece, ha subito, immediatamente dopo la bonifica, una leggera diminuzione della carica media, ma già al secondo campionamento post-bonifica i valori sono nuovamente aumentati, mantenendo quindi l'andamento oscillante riscontrato anche prima del trattamento.

Per quanto riguarda la distribuzione di Legionella dopo la bonifica si è osservato un aumento del numero di edifici contaminati dal sierotipo 1 in contrapposizione a una completa assenza del sierogruppo 2-14 e una diminuzione della Legionella spp. Ciò si spiega con la resistenza al cloro che sviluppa nel tempo la Legionella Pnemophila sierotipo 1, in accordo con quanto riportato in letteratura.

In seguito a questi risultati è sorta la necessità di associare più sistemi di bonifica per contrastare questo tipo di contaminazione. Pertanto da febbraio 2006 la clorazione continua è stata supportata da un intervento che prevede l'effettuazione dello Shock Termico sull'intera rete idrica della struttura secondo quanto previsto dalle

“Raccommenations of CDC and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committe”. Esso prevede l’applicazione di diverse diverse fasi successive:

1. innalzamento della temperatura dei boilers a 71-77 °C con predilezione dell’orario notturno;
2. attivazione delle pompe di ricircolo per distribuire l’acqua così surriscaldata anche nella rete di distribuzione fino ai rubinetti;
3. mantenimento delle condizioni di cui ai punti precedenti per circa 30 minuti;
4. ritorno graduale alle condizioni di esercizio.

Tali shock sono stati effettuati su tutti gli edifici a partire da quelli con cariche più elevate. Ogni intervento viene preceduto da un incontro informativo ed organizzativo effettuato presso la Direzione Sanitaria con il responsabile dell’ufficio tecnico ATM, i referenti del Dipartimento di Igiene Ospedaliera ed il capo servizio responsabile della struttura interessata all’intervento.

Inoltre cinque giorni prima dell’intervento stesso la Direzione Sanitaria invia una lettera di trasmissione ai caposala ed ai Direttori delle UU.OO. ed effettua, insieme al personale dell’ufficio tecnico, un sopralluogo al fine di garantire la massima collaborazione all’intervento e, con la distribuzione di cartelli informativi, la sicurezza per i degenti.

Durante l’intervento, eseguito nelle ore notturne, gli operatori tecnici addetti, con la collaborazione del personale medico e paramedico di guardia, utilizzano come riferimento la piantina dell’edificio e riportano su di essa tutti i punti acqua bonificati e le temperature raggiunte a livello terminale.

I prelievi di controllo sono stati effettuati subito dopo e a due mesi dalla bonifica. Dato il particolare andamento altalenante delle concentrazioni della legionella, in grado di

annidarsi in biofilm e amebe, e la non precisa conoscenza delle caratteristiche dell'impianto idrico dell'edificio, non è stato facile associare la variazione della carica contaminante agli effetti della bonifica. Dai risultati si evince comunque che la contaminazione, quasi sempre ridottasi subito dopo l'intervento, aumenta nuovamente a distanza di due mesi. Il problema allora è quello di cercare di mantenere a lungo termine gli effetti dello shock che viene pertanto successivamente associato a mantenimento costante della temperatura dell'acqua calda a 55°C e a una appropriata e continua manutenzione degli impianti (sostituzione filtri, tubi flessibili delle docce, decalcificazione di elementi meno usurati etc.). Nel corso del 2006 e del 2007 gli shock termici continuano in tutti gli edifici del policlinico e vengono ripetuti con cadenza mensile a seconda dei risultati ottenuti, cioè in base alla riduzione della carica batterica ottenuta. Essi vengono inizialmente effettuati sull'intera rete idrica di ogni edificio e a seconda della carica iniziale presente possono durare 1 o più giorni. Successivamente in seguito alla individuazione di criticità specifiche e resistenti vengono effettuati shock termici selettivi, cioè sulla singole montanti contaminate.

Nel corso del 2005 sono stati effettuati 87 campioni di acqua calda sanitaria dai diversi reparti dell'Azienda:

- 70 campioni sono risultati positivi (80.5%)
- la maggior parte dei campioni positivi era contaminato dal sierogruppo 1 (94.3%)
- il 40% dei campioni positivi superava la concentrazione di 10.000 ufc/l.

Nel corso del 2006 sono stati effettuati 124 campioni di acqua calda sanitaria:

- 95 campioni sono risultati positivi (76.6%)

- la maggior parte dei campioni positivi era contaminato dal sierogruppo 1 (91.6%)
- il 27.4% dei campioni positivi superava la concentrazione di 10.000 ufc/l.

Nel corso del 2007 sono stati effettuati 270 campioni di acqua calda sanitaria:

- 150 campioni sono risultati positivi (55.5%)
- la maggior parte dei campioni positivi era contaminato dal sierogruppo 1 (90.6%)
- il 21.3% dei campioni positivi superava la concentrazione di 10.000 ufc/l

Finora nel corso del 2008 sono stati effettuati 470 prelievi di acqua calda sanitaria:

- 296 campioni sono risultati positivi (62%)
- La maggior parte dei campioni positivi era contaminato dal sierogruppo 1 (92%)
- Il 23% dei campioni positivi superava la concentrazione di 10.000 ufc/l

Nel periodo 2005-2008 sono stati effettuati in tutto circa 950 campioni di acqua calda sanitaria dai diversi reparti dell'Azienda. Di questi 611 sono risultati positivi (64%). La maggior parte dei campioni positivi era contaminato dal sierogruppo 1 (92%). Il 25% dei campioni positivi superava la concentrazione di 10.000 UFC/L.

Nel corso del 2006 lo shock termico è stato effettuato su 58 punti

- subito dopo il trattamento sono state rinvenute cariche notevolmente ridotte, anche se il 74.1% dei campioni è risultato comunque positivo
- Il 30.2% dei campioni positivi presentava cariche superiori a 10.000 ufc/l

Nel corso del 2007 lo shock termico è stato effettuato su 173 punti:

- subito dopo il trattamento sono state rinvenute cariche notevolmente ridotte, anche se il 53.2% dei campioni è risultato comunque positivo
- Il 18.5% dei campioni positivi presentava cariche superiori a 10.000 ufc/l

Nel corso del 2008 lo shock termico è stato effettuato su circa 120 punti

- subito dopo il trattamento sono state rinvenute cariche notevolmente ridotte, anche se circa il 50% dei campioni è risultato comunque positivo
- Il 15% dei campioni positivi presentava cariche superiori a 10.000 ufc/l

Nel periodo 2006-2008 lo shock termico è stato effettuato su circa 360 punti

- subito dopo il trattamento sono state rinvenute cariche notevolmente ridotte, anche se circa il 50% dei campioni è risultato comunque positivo
- Il 15% dei campioni positivi presentava cariche superiori a 10.000 ufc/l

Dai risultati si evince come il numero di campionamenti effettuati nel corso degli anni sia progressivamente aumentato, indice di un sistema di sorveglianza sempre più accurato; si è osservata poi una diminuzione del numero dei campioni positivi per Legionella e in particolare di quelli contaminati con cariche superiori a 10.000 UFC/L. C'è da dire comunque che diversi fattori rendono difficile l'interpretazione dei risultati ambientali:

1. la dose minima infettante è sconosciuta
2. la legionella può essere presente anche in assenza di casi
3. non è stabilita una correlazione tra l'entità della contaminazione e il rischio di sviluppare la malattia
4. l'analisi batteriologica è solo una stima puntuale della situazione: la concentrazione di legionella può variare in base al momento del campionamento e da un punto a un altro
5. la specie riscontrata nell'acqua non necessariamente è patogena
6. l'aerosolizzazione dell'acqua è importante quanto le UFC/l ma questo parametro è difficilmente misurabile.



Il monitoraggio periodico e costante del livello di contaminazione resta comunque il sistema di controllo più efficace della concentrazione del batterio nel sistema idrico.

I livelli di contaminazione registrati hanno imposto nuove strategie di azione. Attualmente accanto alla effettuazione periodica degli shock termici (sull'intera rete idrica e selettivi), la clorazione continua, gli interventi di manutenzione ordinaria e straordinaria, il mantenimento della temperatura dell'acqua calda sanitaria al di sopra del range critico, sono in corso di sperimentazione trattamenti con biossido di cloro, trattamenti mediante vapore umido sotto pressione, utilizzo di specifica apparecchiatura produttrice di acqua ozonata.

Sono disponibili i risultati del trattamento con biossido di cloro applicato a un edificio campione resistente ad altri trattamenti con valori critici di contaminazione.

Sono stati campionati 12 punti presso un singolo edificio che presentava prima del trattamento un'alta contaminazione da legionella. Su 10 punti campionati, il 100% risultava positivo con il 57% di campioni superiori 10.000 UFC/L. Subito dopo il trattamento risultava positivo un solo punto con concentrazioni inferiori a 1000 UFC/L. A distanza di due mesi dal trattamento con biossido la percentuale di positività risaliva al 100% con 3 punti superiori a 10.000 UFC/L. Si associa pertanto trattamento con shock termico che riduce a uno i punti con concentrazioni superiori a 10.000 UFC/L e riduce l'entità della contaminazione degli altri punti. A distanza di circa un mese risultano positivi solo due punti su 7 e in concentrazioni di gran lunga inferiori ai valori critici. A distanza di due mesi risultano positivi 5 punti su 7 in concentrazioni di gran lunga inferiori al valore critico.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti da questi anni di sorveglianza si prestano a una serie di considerazioni.

Il fatto che più o meno periodicamente dopo l'applicazione dei sistemi di bonifica la concentrazione di *Legionella* nei punti contaminati torni a livelli elevati non deve meravigliare. In effetti sono note le difficoltà che si incontrano quando si interviene su condutture, soprattutto se obsolete, in cui questi microrganismi si sono stabilmente insediati, difficoltà che possono essere non facili da superare.

Gli impianti vecchi sono ricchi di rami morti e spesso presentano sacche dove i mezzi di bonifica possono giungere con difficoltà e consentono la sopravvivenza e la proliferazione del batterio. Costituiscono praticamente il serbatoio da cui il batterio potrà ricominciare la ricolonizzazione dell'impianto già dopo pochi giorni dalla bonifica.

La replicazione all'interno dei protozoi, inoltre, assicura la sopravvivenza di *Legionella* anche in condizioni avverse, quali variazioni di temperatura, osmolarità, pH e mancata disponibilità di nutrienti; dopo la replicazione intracellulare il patogeno, inoltre, mostra un'aumentata resistenza agli stress ambientali ed ai biocidi e questo potrebbe spiegare la sua persistenza in acque trattate al calore o con disinfettate.

Tuttavia gli sforzi per ottenere la riduzione della contaminazione vanno ripetuti, attuando nuovi interventi di bonifica eventualmente associati tra loro e alla periodica manutenzione degli impianti che riveste un ruolo basilare, per cui deve essere ottimizzata e responsabilizzata.

Appare evidente che l'obiettivo generale nell'ambito di tale problematica sia quello di contenere il rischio e minimizzare il numero di casi di legionellosi agendo prioritariamente sulle situazioni più critiche, sia con interventi preventivi che possano

ridurre la presenza e la concentrazione della legionella, sia con efficaci provvedimenti di controllo nel momento in cui si ha evidenza di casi di malattia.

Non si tratta pertanto di eradicare un germe, che, come detto, è ubiquitario, ma, più realisticamente, di mettere in atto un sistema coordinato di interventi che fa leva sulla responsabilità di ciascun soggetto coinvolto nella progettazione, realizzazione, gestione e manutenzione di quegli impianti che possono essere a rischio di colonizzazione. Gli interventi di prevenzione e controllo devono essere mirati, efficaci ma anche sostenibili economicamente. L'eliminazione completa di legionella dall'intero sistema di distribuzione dell'acqua in ospedale non è necessaria per minimizzare il rischio e non è spesso neanche un obiettivo raggiungibile. Ciò non vale per i reparti che ospitano pazienti profondamente compromessi: in questo caso, l'interazione tra presenza di legionella nell'acqua e incapacità del sistema immunitario di rispondere ad eventuale esposizione rende necessari interventi atti a garantire l'assenza di legionella dall'acqua distribuita in queste aree assistenziali.

La sorveglianza ambientale della legionella resta una delle strategie di prevenzione del rischio di legionellosi più efficaci, soprattutto in strutture a rischio come gli ospedali per la tipologia delle persone ricoverate.

Essa consente infatti di monitorare nel tempo i livelli di contaminazione e applicare di volta in volta gli interventi di bonifica più appropriati. Come indicato in letteratura i metodi a disposizione per il controllo della diffusione e moltiplicazione della legionella spp negli impianti sono numerosi, tutti efficaci nel breve periodo ma non altrettanto a lungo termine.

Non esiste accordo in letteratura scientifica, né tra le diverse linee guida internazionali, sull'opportunità o meno di eseguire campionamenti ambientali periodici del sistema di distribuzione dell'acqua in tutto l'ospedale. Inoltre anche tra

coloro che sostengono la necessità di effettuare un monitoraggio periodico dell'acqua, non vi è accordo sulla frequenza di campionamento né sulle soglie da considerare a rischio.

Quindi solo sperimentalmente è possibile trovare i sistemi più efficaci per ogni specifica struttura, che, attenendosi comunque alle indicazioni delle linee guida internazionali e nazionali (aggiornate di anno in anno con le indicazioni derivate dalle esperienze delle singole regioni), tengano conto delle caratteristiche della struttura in cui si intende operare.

Ci sembra, infine, opportuno sottolineare che una delle armi preventive molto efficaci è rappresentata dall'informazione e dall'educazione del personale; tutti devono essere a conoscenza del problema e dei fattori che ne possono favorire l'insorgenza, poiché molto spesso gli eventi hanno come causa scatenante la trascuratezza nella manutenzione e l'ignoranza delle norme elementari di prevenzione.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Habicht W, Muller HE: Occurrence and parameters of frequency of Legionella in warm water systems of hospital and hotels in Lower Saxony. Zbl Bakt Hyb B 1988; 186(1): 79-88.
2. Ruggenini Moiraghi A., Castellani Pastoris M., Benedetti P.: "Epidemiologia e prevenzione della legionellosi in Italia". Federazione Medica, XLIII: 721-726,1990.
3. Attività di Prevenzione e controllo della "Legionellosi"- Atti di indirizzo Studio Campione della contaminazione ambientale. Provvedimento n- 562 del 16/07/02. Settore Prevenzione, Assistenza Sanitaria, Igiene Sanitaria in Campania, G.R.C.
4. Piani di Sorveglianza controllo Legionellosi. Nota 141736/05 del 17/02/05 del Settore Prevenzione, Assistenza Sanitaria, Igiene Sanitaria in Campania, G.R.C.
5. Rota MC, Ricci ML, Caporali MG, Salmaso S. La legionellosi in Italia nel 2006. Rapporto annuale. Notiziario ISS, 2008.
6. Conferenza Permanente Stato- Regioni 04-04-2000, trasmesso dal Ministero della sanità. Documento di linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi. Gazzetta Ufficiale n. 103 del 05/05/00.
7. Castellani Pastoris M., Benedetti P. (1993): Legionella e legionellosi- ISS e Assessorato Regione Campania- Roma.
8. Istituto Superiore di Sanità 1982. Legionellosi I parte- Sorveglianza della Legionellosi a Lido di Savio (RA), 1981. Bollettino Epidemiologico nazionale 82/37:1-4.

9. Moiraghi Ruggennini A., Castellani Pastoris M., Dennis P.J., et al. 1989. *Legionella pneumophila in a hospital in Torino, Italy. A retrospective oneyear study.* Epidemiol. Infect. 102: 21-29.
10. Rota MC, Castellani Pastoris M, Salmaso S. La legionellosi in Italia nel 1998. Notiziario ISS, 1999, vol 12, N.8.
11. Beguinot C.: Ospedali e Cliniche Universitarie. Università degli Studi di Napoli-Napoli, 1976.
12. Hamilton E, Seal DV, Hay J, Comparison of chlorine dioxide disinfection for control of Legionella in a hospital potable water suppli. J Hosp Infect 1996;156-9
13. Sanduzzi A, Cardone M, Covelli I. Aggiornamenti in tema di legionellosi. Boll Microbiol Med 1995; 16/4; I-II
14. Lin YE, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. Legionella in water distribution system. Journal AWWA 1998 ; Sept. 113-21
15. [www.Legionellaonline.it](http://www.Legionellaonline.it), Sito del Gruppo Multicentrico per lo studio sulla Legionellosi
16. Raccomandazioni per la sorveglianza, la prevenzione e il controllo delle polmoniti da legionella nelle Strutture Sanitarie piemontesi pubbliche e private”, Regione Piemonte –Direzione Sanità – Settore Igiene e Sanità Pubblica.
17. Montagna MT, Napoli C, Tato D, Spilotros G, Barbuti G, Barbuti S. Clinical-environmental surveillance of legionellosis: an experience in southern Italy. Eur J Epidemiol. 2006; 21(4):325-31.
18. Ditommaso S, Biasin C, Giacomuzzi M, Zotti CM, Ruggennini A, Moiraghi A. Dip. Sanità Pubblica e Microbiologia, Università degli Studi di Torino. Giornale

Italiano delle Infezioni Ospedaliere, vol 10, n. 1, Gennaio- marzo 2003, pag 7-24.

