

**SORVEGLIANZA E CONTROLLO DELLA LEGIONELLOSI: ATTUALITÀ
IN TEMA DI LEGISLAZIONE E DI PROVVEDIMENTI TECNICI PER IL
CONTENIMENTO DEL RISCHIO**

Rimini, 21 Marzo 2011

**Legionella: ecologia,
microbiologia e tecniche di
campionamento per la sua
ricerca in ambiente antropico**

Maria Antonietta Bucci Sabattini

ARPA Emilia-Romagna

Sezione Provinciale di Bologna

mbucci@arpa.emr.it



E' stato dimostrato che *Legionella pneumophila* è un batterio che ha il suo "reservoir" nell'ambiente naturale acquatico (acqua di lago, acqua di fiume, fanghi, acque sotterranee, acque termali).

(Fliermans CB, 1981 - Appl. Environ. Microbiol.)

E' capace di sopravvivere in un ampio range di condizioni ed è presente in tutte le aree geografiche.

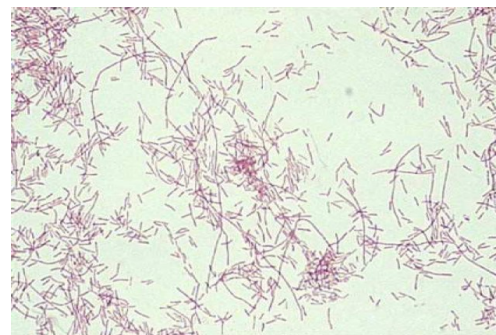
Dal serbatoio naturale *Legionella* può passare, tramite le reti acquedottistiche o termali, nei siti che ne costituiscono il **serbatoio artificiale**, colonizzandoli:

- IMPIANTI IDRO-SANITARI
- IMPIANTI DI ACQUE TERMALI
- PISCINE
- SISTEMI DI UMIDIFICAZIONE
- TORRI DI RAFFREDDAMENTO
- EVAPORATORI CONDENSATIVI
- U.T.A.
- FONTANE DECORATIVE

Caratteristiche



- Bacillo Gram -
- Mobile con uno o più lunghi flagelli polari o laterali
- Pleiomorfo (forme coccoidi e filamentose)
- Dimensioni da 0,3-0,9 μm e lunghezza da 2 a 20 μm
- Intracellulare facoltativo
- Aerobio
- Metabolicamente poco attivo:
 - non utilizza carboidrati
 - non riduce i nitrati
 - non produce ureasi
 - utilizza vari aminoacidi come fonte di carbonio e di energia



- Temperatura ottimale di crescita a 36°C e con range fra 25-42°C.

- Sviluppo favorito da:
 - pH neutro (6.8 - 7)
 - sali di ferro
 - cisteina cloridrato

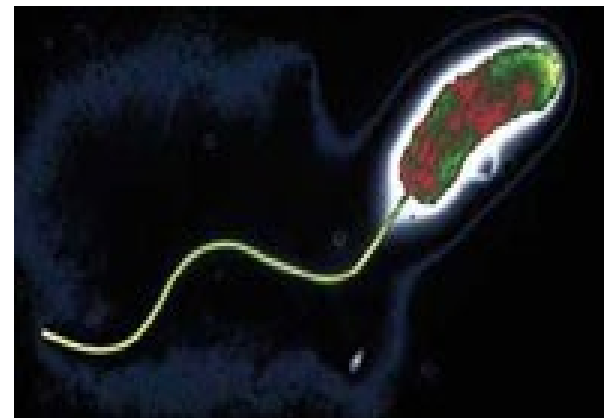


→ **Famiglia Legionellaceae**

→ **Genere Legionella**

→ **Specie: 50**

→ **Sierogruppi: 73**



Poco meno della metà delle 50 specie isolate (**20**) sono associate a casi di legionellosi nell'uomo.

Es.: *L. micdadei*, *L. gormanii*, *L. dumoffii*, *L. bozemanae*, *L. longbeachae*, *L. feeleii*, *L. jordanis*, *L. anisa*, *L. erythra*, *L. parisiensis*, ecc.

**Della Specie *L. pneumophila* sono stati isolati ad oggi
16 sierogruppi**

In Italia il **95%** dei **casi di polmonite** confermati o dall'antigene urinario o dall'esame colturale, sono causati da ***L. pneumophila* sierogruppo 1.**

Ecologia

Legionella è presente nell'ambiente naturale in esigua quantità e in letteratura non sono segnalati casi diretti di malattia.

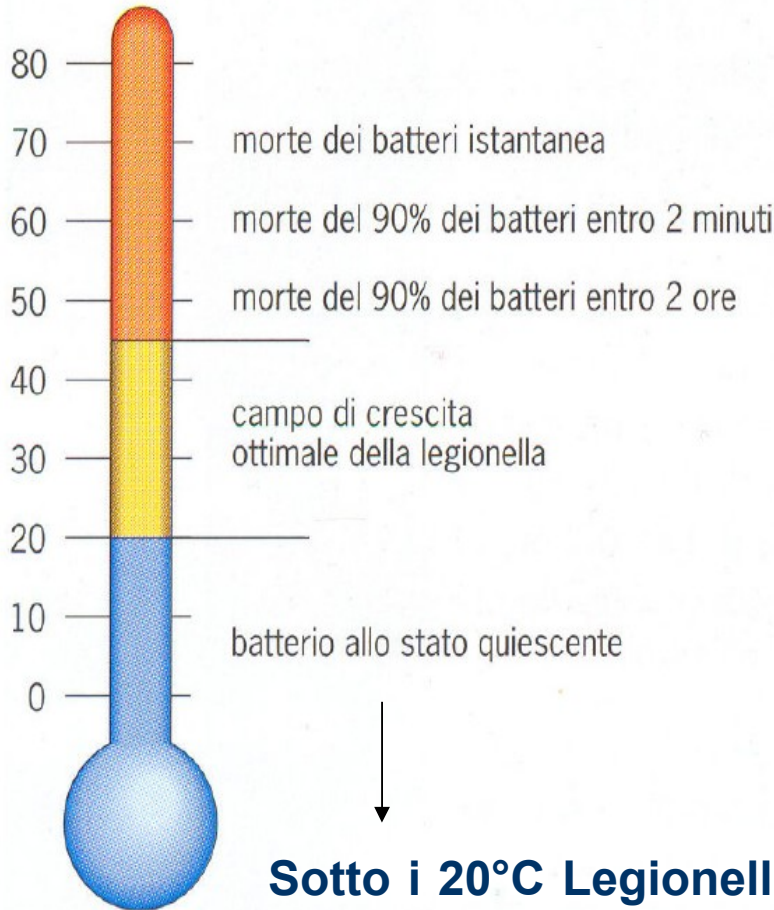
Comprendere il modo con cui Legionella interagisce con l'ambiente naturale e le altre specie microbiche ci permette di capire quali sono i fattori che ne hanno favorito la colonizzazione e la sopravvivenza negli ambienti antropici.

Fattori favorenti la sopravvivenza e la colonizzazione sia negli ambienti naturali che negli impianti artificiali

- Temperatura**
- pH**
- Presenza di Biofilm**
- Presenza di amebe acquatiche, protozoi e alghe**
- Presenza / effetto di altri microrganismi**
- Presenza di elementi in traccia (Zn, Fe, Mn), ambiente aerobio, ecc.**

Temperatura

In natura Legionella era presente
in ambienti con temperatura tra:
5,7°C e 63°C



Legionella non sopravvive
sopra i 65°C.

Legionella è in grado di
sopravvivere in ambiente
artificiale acquatico
tra i 25°C e i 45°C.

Non si moltiplica sotto ai 20°C.

Sotto i 20°C Legionella è quiescente per lunghi
periodi e poi all'aumento della T riprende a
moltiplicarsi.

Biofilm

Un biofilm è comunità batterica, altamente stratificata, adesa ad una superficie inerte o vivente, circondata da una matrice extracellulare di natura organica e inorganica dove i microrganismi sono organizzati in una comunità funzionale.

- Si forma sulle superfici nei sistemi acquatici
- La sua formazione è favorita dai fenomeni di corrosione presenti nelle tubature che facilitano l'adesione dei batteri all'interno dei prodotti inorganici
- Facilita lo scambio gassoso fra i batteri e li protegge dall'aggressività dei biocidi e dall'aumento della temperatura
- Rilascia i microrganismi in ammassi
- Monitorarlo è difficile



L'assimilazione di nutrienti da parte dei batteri è più rapida nel biofilm (fase bentonica) che non nella fase acquosa (fase planctonica).

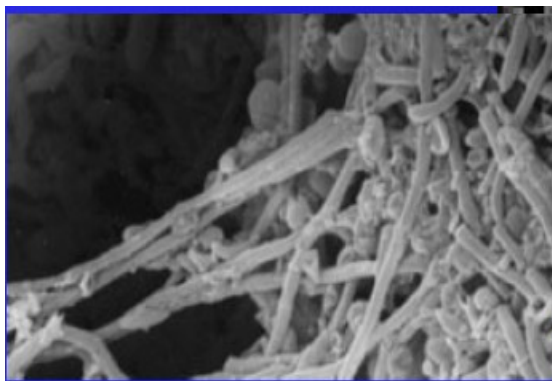
Batteri, molecole organiche e inorganiche, si adsorbono nell'interfaccia acqua-superficie.

Fenditure o scanalature sulla superficie dei tubi favoriscono la ritenzione batterica.

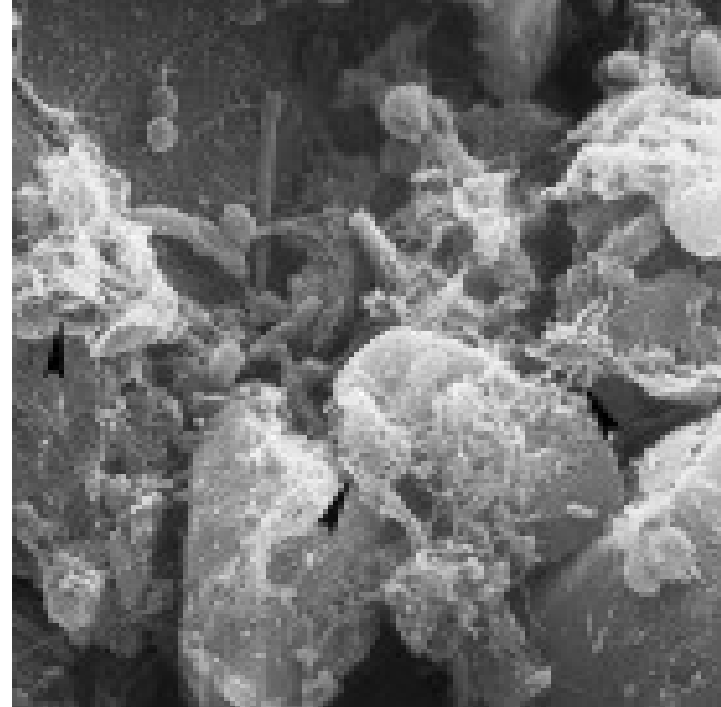


Biofilm

- E' essenziale per la colonizzazione degli impianti da parte delle Legionelle, che trovano in esso i protozoi, entro cui moltiplicarsi e svolgere il ciclo vitale, oltre a costituire un riparo da stress e biocidi.



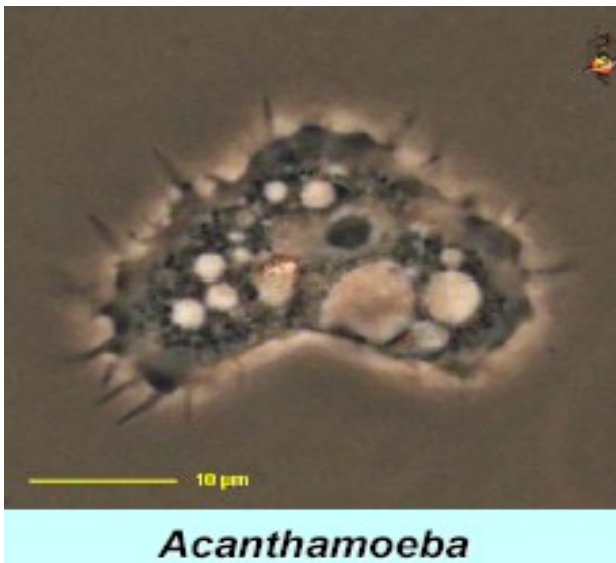
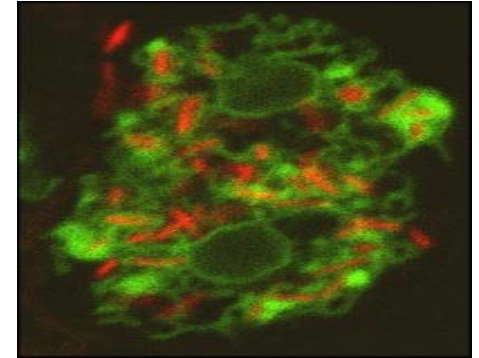
- A dimostrazione che *Legionella* spp è associata al biofilm è stata eseguita una ricerca che ha poi avuto esito positivo sia nei tamponi eseguiti su biofilm, che nell'acqua corrente.



Legionella e Protozoi

Rowbotham TJ - 1980 (*J. of Clinical Pathology*) descrisse la capacità di *Legionella pneumophila* di moltiplicarsi dentro i Protozoi a vita libera.

Da allora è stato dimostrato che *Legionella pneumophila* è un parassita facoltativo intracellulare di diverse specie di Protozoi.



Almeno 14 specie di amebe dei generi *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Hartmannella*

e 2 specie di ciliati del genere *Tetrahymena*

Legionella pneumophila
sopravvive incistata all'interno
dei fagosomi dei Protozoi ed è
stato verificato che **la sua
sopravvivenza dipende dalla
temperatura dell'acqua**. A **22°C**
i batteri sono **digeriti** dall'Ameba
(*Nagington & Smith, 1980*) mentre
a **35°C** possono **proliferare** al
suo interno (*Rowbotham TJ,*
1980).

La temperatura influenza anche l'espressione dei flagelli
di *Legionella* che sono **presenti in numero elevato** da 30°C
a 37°C.

La presenza dei flagelli ha un ruolo importante nella
patogenicità di molti batteri; per *Legionella* è stato
dimostrato che **i ceppi senza flagelli hanno minor
capacità di infettare** i Protozoi rispetto a ceppi flagellati
(*Heuner & Steinert, 2003*).

Ecologia



Legionella e altri microrganismi

Legionella non è in grado di moltiplicarsi nella sola acqua (es. acqua distillata sterile o acqua potabile filtrata), ma vi sopravvive solo.

Studi (Pine et al., 1979, Warren & Miller, 1979) hanno dimostrato che gli amminoacidi sono la principale fonte di nutrimento per Legionella.



Altri microrganismi consentono a Legionella di sopravvivere e moltiplicarsi nell'acqua condottata, è stato dimostrato che per il suo sviluppo sono necessari i nutrienti presenti in questo tipo di acqua. I nutrienti possono essere forniti direttamente o indirettamente dagli altri microrganismi presenti sotto forma di sostanze organiche (per eccesso di produzione o per il loro decadimento).

Modalità di acquisizione della Legionellosi dall'ambiente

Per via respiratoria mediante:

- ➔ Inalazione di aerosol contenente Legionelle.
- ➔ Inalazione particelle di polvere derivate per essiccamento da aerosol contenente Legionella.
- ➔ Inalazione di acqua contaminata.

Principali siti che generano aerosol nell'ambiente antropico

- Apertura rubinetto di impianto idro-sanitario
- Torri di raffreddamento
- Umidificazione centralizzata degli impianti di condizionamento
- Fontane ornamentali
- Apparecchi per aerosol e ossigenoterapia
- Vasche idromassaggio e piscine
- Bagni turchi ed aree abitative a sauna
- Impianti di irrigazioni giardini
- Acque di scarico di impianti igienici

Indagine ambientale

**Il concetto di indagine ambientale ha
come obiettivo di ricercare la
potenziale sorgente di contaminazione
sulla base dei risultati dell'indagine
epidemiologica.**

E' utile eseguire campionamenti ambientali per la ricerca di Legionella in assenza di casi?

SORVEGLIANZA AMBIENTALE: SI o NO?

Esistono due correnti di pensiero, quelli favorevoli ai campionamenti routinari (in assenza di casi) e quelli contrari (campionamento solo in presenza di casi).

Il monitoraggio ambientale è utile quando si vuole verificare:

- La presenza/assenza di Legionella in un ambiente in seguito ad un evento,
- Identificare i focolai di infezione
- L'efficacia di un protocollo di bonifica
- L'efficacia delle misure di prevenzione e la corretta esecuzione della manutenzione,
- In ambiente ospedaliero per tutelare i pazienti a rischio.

Indagine ambientale

Sezione
Provinciale
di Bologna

Sorveglianza e controllo della Legionellosi:
Attualità in tema di legislazione e di provvedimenti
tecnici per il contenimento del rischio

Rimini, 21 Marzo 2011

Raccogliere informazioni per tutte le probabili fonti espositive individuate, (compresa la residenza abitativa);
quando più di una fonte, secondo un criterio di priorità.

L'ispezione deve permettere di individuare le criticità dell'impianto/impianti ed individuare i punti di campionamento.

Indagine ambientale

**Sezione
Provinciale
di Bologna**

**Sorveglianza e controllo della Legionellosi:
Attualità in tema di legislazione e di provvedimenti
tecnici per il contenimento del rischio**

Rimini, 21 Marzo 2011

a) per la rete distributiva dell'acqua calda sanitaria:

la presenza di serbatoi di accumulo e le loro caratteristiche costruttive e di gestione, il circuito distributivo, i terminali di distribuzione ;

b) per la rete distributiva dell'acqua fredda: la fonte di approvvigionamento dell'acqua, la presenza di impianti per il trattamento dell'acqua, la temperatura dell'acqua e, nel caso questa sia $> 20^{\circ}\text{C}$, le possibili cause;

c) per l'impianto di condizionamento dell'aria: la localizzazione delle prese d'aria esterne rispetto a possibili fonti di inquinamento, la periodicità con cui vengono effettuate le operazioni di pulizia/sostituzione dei filtri, il sistema di umidificazione, la presenza di acqua stagnante a livello delle batterie di raffreddamento, lo stato di pulizia dei silenziatori, la presenza di condensa lungo i condotti;

d) per le torri di raffreddamento e condensatori evaporativi: l'ubicazione, la presenza di ristagni d'acqua, la periodicità delle pulizie, gli esiti degli accertamenti analitici;

e) per le piscine e piscine idromassaggio: le modalità dei trattamenti di disinfezione, la frequenza dei ricambi e la quantità di acqua sostituita giornalmente;

f) per le fontane ornamentali: le modalità dei trattamenti di disinfezione in particolare nelle fontane ubicate all'interno di strutture turistico-recettive, stabilimenti termali, fiere, esposizioni, ecc.

Campionamento

→ Quando

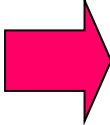


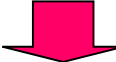
→ Dove

→ Come

Documento del 04.04.2000 - "Linee Guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi". (G.U. n. 103 del 05/05/2000)

Campionamento: **Quando/Dove?**

Comunità / Ospedali - Case di cura

- 1) Presenza di uno "caso isolato" o di "2 o più casi raggruppati" confermati  **Campioni ambientali**

In tutte le strutture individuate
come probabile fonte di infezione
- 2) Assenza di casi **in Comunità**

Analisi dei rischi per rispondere alle domande:
Può proliferare?
Può diffondere? (fonti di aerosol).
- 3) In Ospedali

Sempre Monitoraggio
nei Reparti ad alto
rischio

Provvedimento del 13.01.2005 - “Linee Guida recanti indicazioni sulla Legionellosi per i gestori di strutture turistico - ricettive e termali”.

G.U. n. 28 del 05/02/2005)

Introducono elementi di giudizio per la **valutazione del rischio di legionellosi** e norme da applicare per ridurre al minimo tale rischio

Per assicurare una riduzione del rischio di legionellosi, **lo strumento fondamentale non e' il controllo di laboratorio** routinario dell'impianto idrico, **ma l'adozione di misure preventive, basate sull'analisi del rischio costantemente aggiornata (rev. ogni 2 anni).**

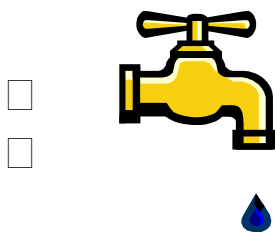
Se in una struttura TURISTICO-RECETTIVA si evidenzia la presenza di un potenziale rischio

Cosa fare ?

SI DEVE CAMPIONARE!!!

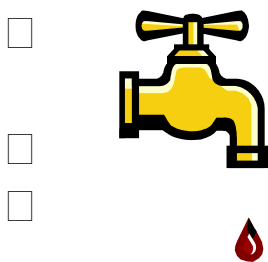
Campionare l'acqua per la ricerca di *Legionella* spp, in un numero di siti che sia rappresentativo di tutto l'impianto idrico, e comunque in almeno sei siti.

DOVE campionare:



Rete dell'acqua fredda

- serbatoio dell'acqua fredda (possibilmente alla base);
- punto più distale del serbatoio.



Rete dell'acqua calda

- base del serbatoio dell'acqua calda, vicino alle valvole di scarico;
- ricircolo dell'acqua calda;
- almeno n. 2 siti di erogazione lontani dal serbatoio dell'acqua calda (docce, rubinetti).

Se il campionamento evidenzia presenza di Legionella spp. occorre attenersi alla Tabelle proposte

Tabella 1

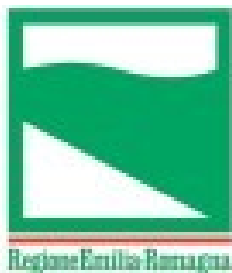
TIPO DI INTERVENTO A SECONDA DELLA CONCENTRAZIONE DI LEGIONELLA (UFC/L) NELL'IMPIANTO IDRICO.

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Minore di 100 UFC/L	Nessun intervento
Maggiore di 100 UFC/L ma minore o uguale a 1000 UFC/L	Verificare che siano in atto le misure di controllo elencate al punto 3.1. Negli stabilimenti termali effettuare comunque una bonifica
Maggiore di 1000 UFC/L ma minore o uguale a 10.000 UFC/L	In assenza di casi, verificare che siano in atto le misure di controllo elencate al punto 3.1. ed effettuare una valutazione del rischio. In presenza di un caso singolo o di un cluster rivedere le misure di controllo messe in atto ed effettuare una bonifica
Maggiore di 10.000 UFC/L	Contaminazione importante: mettere in atto immediatamente misure di bonifica, sia in presenza che in assenza di casi. Successiva verifica dei risultati, sia immediatamente dopo la bonifica, sia periodicamente per verificare l'efficacia delle misure adottate.

Tabella 2

TIPO DI INTERVENTO A SECONDA DELLA CONCENTRAZIONE DI LEGIONELLA (UFC/L) NELLE TORRI DI RAFFREDDAMENTO.

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Minore o uguale a 1000 UFC/L	Nessun intervento
Maggiore di 1000 UFC/L ma minore o uguale a 10.000 UFC/L	In assenza di casi, verificare che siano in atto le misure di controllo elencate al punto 3.1. ed effettuare una valutazione del rischio. In presenza di un caso singolo o di un cluster rivedere le misure di controllo messe in atto ed effettuare una bonifica.
Maggiore di 10.000 UFC/L	Contaminazione importante: mettere in atto immediatamente misure di bonifica sia in presenza che in assenza di casi. Successiva verifica dei risultati, sia immediatamente dopo la bonifica, sia periodicamente per verificare l'efficacia delle misure adottate.



LINEE GUIDA REGIONALI

DGR 21 luglio 2008 n° 1115 Approvazione “Linee guida regionali per la sorveglianza e il controllo della Legionellosi”

BUR n° 147 del 22 agosto 2008

Tipo di intervento a seconda della concentrazione di Legionella (UFC/L) negli impianti idrici o aeraulici

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Minore o uguale a 1000 UFC/L	<p>In <u>assenza di casi</u>:</p> <ul style="list-style-type: none">- verificare che siano in atto le misure di controllo;- negli impianti che erogano acque termali effettuare una bonifica e aggiornare la valutazione del rischio. <p>In <u>presenza di un caso singolo</u></p> <ul style="list-style-type: none">- rivedere le misure di controllo e valutare la necessità di una bonifica;- negli impianti che erogano acque termali effettuare una bonifica e aggiornare la valutazione del rischio. <p>In <u>presenza di un cluster</u> rivedere le misure di controllo e effettuare una bonifica.</p>

Tipo di intervento a seconda della concentrazione di Legionella (UFC/L) negli impianti idrici o aeraulici

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Maggiore di 1000 UFC/L ma minore o uguale a 10000 UFC/L	<p>In <u>assenza di casi</u>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - verificare che siano in atto le misure di controllo; - negli impianti che erogano acque termali effettuare una bonifica; - per tutte le strutture per cui è prevista, effettuare la valutazione del rischio. <p>In <u>presenza di un caso singolo o di un cluster</u> rivedere le misure di controllo ed effettuare una bonifica.</p>
Maggiore di 10.000 UFC/L	Contaminazione importante: mettere in atto immediatamente misure di decontaminazione sia in presenza che in assenza di casi.

Tipo di intervento a seconda della concentrazione di Legionella (UFC/L) nelle Torri di raffreddamento

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Maggiore di 1000 UFC/L	In assenza di casi, verificare che siano in atto le misure di controllo.
Maggiore di 1000 UFC/L ma minore o uguale a 10000 UFC/L	In assenza di casi, verificare che siano in atto le misure di controllo. In presenza di un caso singolo o di un cluster rivedere le misure di controllo messe in atto ed effettuare una bonifica.
Maggiore di 10.000 UFC/L	Contaminazione importante: mettere in atto immediatamente misure di decontaminazione sia in presenza che in assenza di casi.

Provvedimenti di sanificazione e bonifica in relazione agli esiti analitici:

Dopo la bonifica il controllo microbiologico deve essere ripetuto periodicamente come segue, se non altrimenti disposto:

- ➔ immediatamente dopo la bonifica,
se il risultato è negativo
- ➔ ripetere il controllo dopo 15-30 giorni,
se anche quest'ultimo è negativo
- ➔ effettuare un ulteriore controllo dopo 3 mesi,

In caso si confermi la negatività ripetere il controllo:
- dopo 6 mesi o periodicamente, secondo quanto previsto dall'analisi del rischio, per le strutture turistico-recettive e termali.

Tempistica

Se il campionamento è negativo

Strutture Turistico-Recettive

Cadenza in base alla valutazione del rischio, ma occorre eseguire monitoraggio degli impianti mensilmente per almeno sei mesi, e sempre alla riapertura stagionale.

Stabilimenti termali:

Ogni sei mesi, ed ogni volta che si riprende l'attività dopo una chiusura periodica, occorre eseguire monitoraggio degli impianti. (Valori di riferimento del controllo $<10^2$ UFC/L)

Tempistica

Ambienti nosocomiali:

Non esiste accordo sulla opportunità di eseguire campionamenti ambientali periodici ad eccezione di:

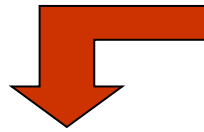
- Quando viene diagnosticato uno o più casi (confronto dei ceppi isolati dai malati con quelli isolati nell'ambiente),
- Nei reparti che ospitano pazienti immunocompromessi, e nei reparti dove sono presenti pazienti sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche, dove gli impianti devono essere liberi da Legionella;
- Nei reparti maternità che effettuano il parto in acqua,
- In altri reparti quando il piano di valutazione del rischio lo prevede.

Campionamento

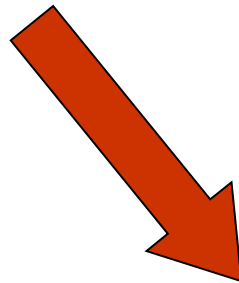
Dove ?

Il campione deve essere rappresentativo

Quindi



Dopo l'indagine ambientale



**Individuare i
punti di campionamento**

I punti di campionamento più rappresentativi e da cui non si può prescindere per la valutazione della contaminazione di un impianto idrico sono:

- 1. collettore di uscita** dell'acqua calda sanitaria dal serbatoio o dal bollitore (collettore normalmente indicato con il termine "**mandata**") - Il prelievo sulla mandata deve essere effettuato prima di ogni eventuale miscelazione;
- 2. collettore di ritorno** dell'acqua calda sanitaria (collettore normalmente indicato con il termine "**ricircolo**");
- 3. fondo dei serbatoi di accumulo** e degli scaldacqua anche elettrici; in tali serbatoi si possono depositare masse consistenti di calcare all'interno delle quali la temperatura dell'acqua è relativamente più bassa e conseguentemente viene favorita la nidificazione e la proliferazione della *Legionella*;
- 4. tratti particolari delle tubazioni** secondarie **poco utilizzate** o tratti terminali non connessi a sistemi di ricircolo (**detti rami morti**). In questi tratti di tubazione è possibile la formazione di un consistente strato di biofilm nel quale può nidificare e proliferare la *Legionella*; se questi punti di erogazione sono poco usati è consigliabile eliminarli o vietarne l'accesso alla utenza;
- 5. punti di erogazione più vicini e più distali rispetto al sistema di produzione dell'acqua calda sanitaria:** soffioni delle docce e/o doccette di vasche da bagno ovvero da rubinetti di lavabo, sistemi rompigitto, tubi in gomma con doccia a telefono, aeratori, ugelli.



I punti più lontani dalla produzione di acqua calda o in cui l'acqua non arriva a temperatura elevata, per problemi impiantistici, vengono individuati mediante un monitoraggio della temperatura di distribuzione dell'acqua calda su tutto l'impianto.

Altri punti di prelievo possibili sono:

6. **acqua** di umidificazione, di condensa e acqua di sifoni ed altre
7. **parti degli impianti per l'aria condizionata** (filtri o parti di essi);
8. **acqua** in entrata e in uscita dagli addolcitori;
9. **acqua** proveniente da **sgocciolamento dalle torri di raffreddamento;**
10. acqua della vasca di raccolta delle torri di raffreddamento (make-up water, reintegro a galleggiante);
10. **serbatoi di accumulo** dell'acqua fredda;
11. riuniti odontoiatrici;
12. fontane decorative.

Nel caso di **esposizione domestica** verrà scelto il bagno maggiormente utilizzato dalla famiglia, prelevando campioni dalla cipolla della doccia o dal rubinetto della vasca secondo il loro uso.

Campionamento

Nel caso di **esposizione domestica** verrà scelto il bagno maggiormente utilizzato dalla famiglia, prelevando campioni dalla cipolla della doccia o dal rubinetto della vasca secondo il loro uso.

Nelle strutture pubbliche (es. alberghi) o in grandi condomini, i punti più rappresentativi, di norma, sono:

a) per la rete idrica, in particolare dell'acqua calda sanitaria: l'inizio della rete, i punti terminali di ogni colonna e quelli a cui è stato esposto il malato, le cisterne e gli scambiatori di calore in uno sbocco prossimo, ma a valle di ciascuna cisterna o scambiatore di calore; qualora la temperatura dell'acqua fredda sia superiore a 20°C potranno essere individuati punti di campionamento anche in tale rete.

Il numero dei campioni da prelevare, stabilito di volta in volta tenendo conto della dimensione dell'impianto, deve essere tale da garantire la rappresentatività dell'impianto stesso.

b) per l'impianto di condizionamento: dove è presente condensa e/o acqua di sgocciolamento e in corrispondenza dei filtri;

c) per le torri di raffreddamento: il fondo della vasca;

d) per le piscine idromassaggio: in vasca e all'uscita dalle bocchette erogatrici,

e) per altre tipologie: da valutare caso per caso (es. apparecchiature utilizzate per aerosol e/o ossigeno terapia, ecc.).

Campionamento

Strutture termali



Le apparecchiature/le cure termali per le quali maggiore è il rischio di trasmissione possono essere:

- a) cure inalatorie (inalazioni, aerosol – humages, nebulizzazioni, docce nasali), sia per le caratteristiche delle apparecchiature utilizzate che per la tipologia degli utenti (soggetti a rischio per patologie croniche dell'apparato respiratorio),
- b) bagni con idromassaggio,
- c) docce d'annettamento (se previste).
- d) gli impianti di condizionamento e idrosanitari

Analogamente tutte le prestazioni, erogate con acqua termale o non termale, nelle SPA e/o nei reparti “benessere” degli stabilimenti termali che comportano la formazione di aerosol.

I campioni possono essere costituiti da: acqua, biofilm, filtri, incrostazioni e limo.

Torre di raffreddamento

Struttura dove può verificarsi una successione di eventi che possono portare alla insorgenza di Legionellosi:

1. L'acqua può permanere nella torre (anche in condizioni di stagnazione) a temperature comprese nell'intervallo ottimale per la proliferazione di Legionella.

2. La torre produce un aerosol (dispersione di goccioline d'acqua nella corrente d'aria) che per diversi motivi (incompleta vaporazione, inefficienza dei separatori di gocce) possono essere trascinate fuori dalla torre e ritrovarsi nel pennacchio.

Casi particolari



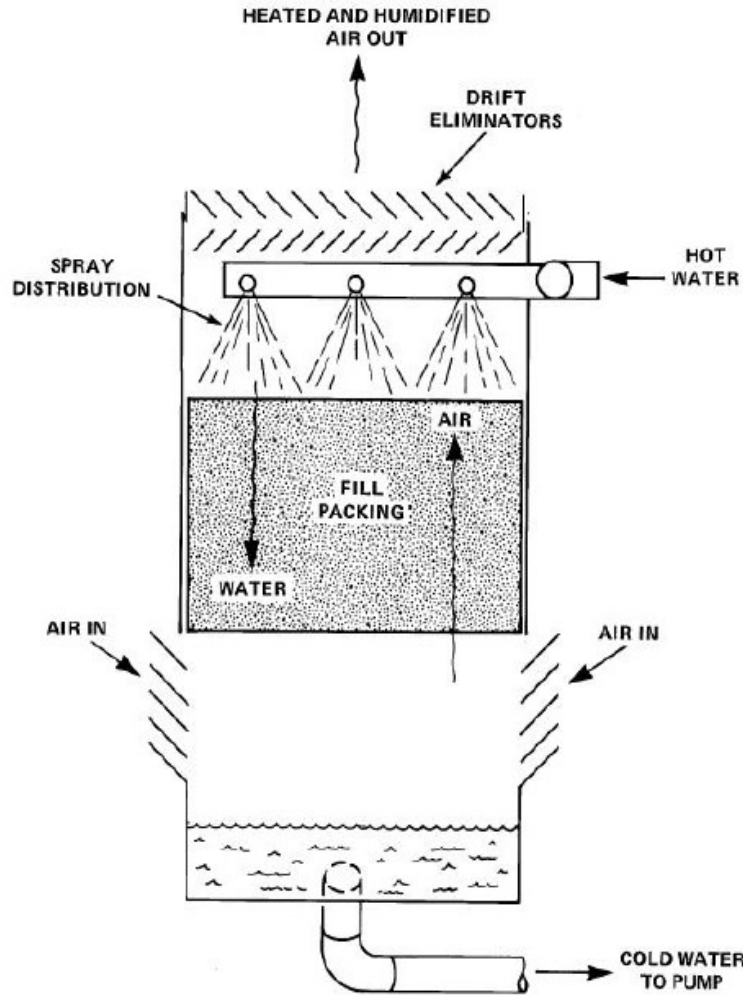
Ricerca di Legionella nelle torri di raffreddamento

Valutazione della collocazione

Sorveglianza e controllo della Legionellosi:
Attualità in tema di legislazione e di provvedimenti
tecnici per il contenimento del rischio

Rimini, 21 Marzo 2011

Sezione
Provinciale
di Bologna



Possibilità che l'aerosol potenzialmente contaminati provenienti dalla torre possono entrare in un edificio:

- dalle finestre,
- dalle prese d'aria,

Oppure possa essere trasportato a lunga distanza.



Campionamento

→ Quando

→ Dove

→ **Tipologia campioni/Come**

TIPOLOGIA CAMPIONE

Acqua del circuito dell'acqua calda e/o di quello dell'acqua fredda delle reti idriche.

Acqua termale.

Acqua delle fontane decorative.

Depositi (cosiddetti "fanghi) da serbatoi e altri punti di raccolta dell'acqua.

Incrostazioni da tubature e serbatoi delle reti idriche.

Biofilm e altro materiale adeso alle pareti di tubature, all'interno del bulbo delle docce, alla parte terminale di rubinetti e di filtri rompigitto.

Acqua di condensa e/o acqua dei sifoni ed altre parti degli impianti per l'aria condizionata e di umidificazione.

Acqua proveniente da gocciolamento dalle torri di raffreddamento.

Filtri da impianti di climatizzazione e/o "acqua di raccolta" dopo lavaggio filtri.

Acqua proveniente da apparecchiature mediche (es. per la respirazione assistita e dei circuiti del riunito in studi odontoiatrici).

Aria (bioaerosol) da ambienti "confinati e non".

Come eseguire i campioni di acqua dalla rete idrica

Prelievo di **ACQUA** per la ricerca quantitativa di *Legionella* spp.

“Pre-flush”: un prelievo effettuato dal rubinetto appena aperto, senza scorrimento dell’acqua e senza flambatura.

Questo campionamento può essere indicativo della contaminazione di quel tratto terminale della rete di distribuzione.

“Post-flush”: un prelievo dopo aver allontanato parti mobili (es. rompigitto), pulito meccanicamente il punto di sbocco, flambato esternamente e aver fatto scorrere l’acqua per almeno 5-10 minuti.

Questo campionamento può essere indicativo di una colonizzazione all’interno della rete di distribuzione.

Come eseguire i campioni di acqua dalla rete idrica

Prelievo di ACQUA per la ricerca quantitativa di *Legionella* spp.

Volume di acqua da prelevare e contenitori:

almeno "1 litro" in bottiglie/taniche in vetro o in materiale monouso sterili con presenza di tiosolfato di sodio a (0,01%); in alcuni casi, in funzione della sensibilità della risposta quantitativa, fino a "5 litri".



Rilevare la temperatura dell'acqua a fine prelievo

Come campionare

Casi particolari

Prelievo di “biofilm”

Per una valutazione qualitativa di *Legionella* spp. raccogliere con un tampone sterile il **materiale depositato sulle superfici interne di** tubature, rubinetti, rompigitto, interno dei soffioni delle docce, serbatoi, ecc. **con movimenti rotatori e ripetuti.**

Questo deve essere prelevato prima della matrice acquosa (se si opera sullo stesso punto di campionamento).

Contenitori e conservazione:

Mettere il tampone in provette contenenti una piccola quantità (2 ml - 10 ml) di acqua distillata sterile o acqua dell'impianto.



Come campionare

Casi particolari

Prelievo di “filtri”

Per una valutazione qualitativa di *Legionella* spp. effettuare il controllo **su filtri degli impianti di di raffreddamento utilizzati da diverso tempo e non su quelli lavati o sostituiti di recente.**

Modalità e conservazione:

Prelevare parte del filtro e metterlo in un sacchetto di materiale plastico.

Effettuare un lavaggio del filtro secondo le seguenti modalità:

- immersione di tutto il filtro, per almeno 24 ore, in acqua distillata sterile, in quantità da garantire la completa imbibizione del filtro,
- accogliere l'acqua di lavaggio in contenitori sterili, senza tiosolfato.



Come campionare

Casi particolari

“Incrostazioni”

Per una valutazione qualitativa di *Legionella* spp. prelevare in modo asettico **da tubature, parte terminali degli erogatori e serbatoi** staccando meccanicamente il materiale depositatosi all'interno con l'aiuto di spatole metalliche sterilizzate al calore.

Raccogliere in recipienti sterili di idonee dimensioni contenenti qualche ml di acqua distillata sterile, o acqua della rete; altrimenti consegnare al laboratorio **le parti intere che si possono rimuovere**, avendo cura di lasciare all'interno l'acqua d'origine, trasferendo in sacchetti sterili (*tipo presto-chiuso*).



Come campionare

Casi particolari

Depositi di "limo"

Per una valutazione qualitativa di *Legionella* spp. prelevare **dallo scarico delle eventuali vasche di raccolta, dal fondo degli accumulatori d'acqua calda, oppure dal fondo di vasche di raccolta di acqua**, dopo avere eliminato l'acqua dall'alto.

Raccogliere il campione in contenitori sterili.

•
"Acqua di condensa":
prelevarne la massima
quantità possibile con
siringhe o pipette sterili;
metterla in appositi
contenitori sterili



**Sezione
Provinciale
di Bologna**

**Sorveglianza e controllo della Legionellosi:
Attualità in tema di legislazione e di provvedimenti
tecnici per il contenimento del rischio**

Rimini, 21 Marzo 2011



Come campionare

Casi particolari

Prelievo dell'aria (bioaerosol)

in ambienti “confinati e non”

Si effettua mediante campionamento attivo utilizzando collettori ad impatto su “supporti” contenenti terreni di coltura agarizzati selettivi per la ricerca di *Legionella* spp.

Il campionatore va posizionato ad una distanza di circa 30 cm dal punto che si deve controllare (es. bocchette emissione aria) ed il volume da prelevare, in funzione delle finalità dell'analisi, può arrivare fino a 1000 litri d'aria (1 m³).

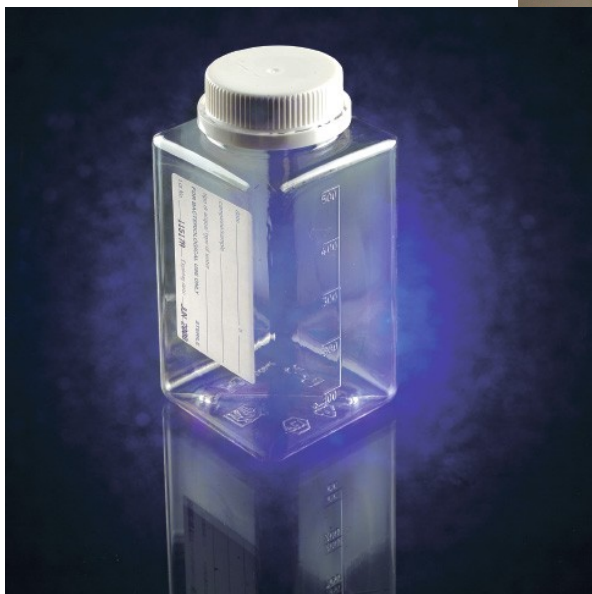
I “supporti” contenenti terreni di coltura agarizzati selettivi per la ricerca di *Legionella* spp. prima del campionamento vanno conservati tra 2 °C e 8 °C e riportati, per quanto possibile, a temperatura ambiente prima del loro utilizzo.



Strumenti da utilizzare per il campionamento

- **Bottiglie in vetro scuro** o in **plastica monouso** da litri 1, sterili senza o con soluzione di tiosolfato allo 0,01 % sul volume;
- **taniche** in plastica da 1 o 5 litri, sterili senza o con soluzione di tiosolfato allo 0,01% sul volume;
- **tamponi** sterili in provette con acqua distillata sterile o vuoti;
- **pipette** sterili e/o siringhe sterili;
- **recipienti** in plastica monouso sterili da 150 - 400 ml;
- **pinze** in acciaio, **spatole** in acciaio, **imbuti** in acciaio o in materiale plastico sterilizzati;
- **provette** contenenti acqua deionizzata sterile;
- **buste di plastica** sterili di dimensioni variabili (es. tipo *presto-chiuso*).

Contenitori e Strumenti



**per il
campionamento**

Trasporto

Una volta prelevati i campioni di **acqua, biofilm, limo incrostazioni filtri**, devono essere trasportati in:

- **contenitori chiusi ed al riparo dalla luce**
- a temperatura ambiente con consegna al Laboratorio entro 24 ore dal prelievo.

Altrimenti conservare 6°C e poi trasportare, sempre al riparo dalla luce, a 6°C fino al momento della consegna al Laboratorio.

Una volta campionati i “**supporti**” dei prelievi **di aria** vanno trasportati al Laboratorio entro le 24 ore:

- a temperatura ambiente ed al riparo della luce.

Dispositivi di Protezione Individuale

Gli operatori, prima di accingersi ad eseguire operazioni di ispezione e/o campionamento, durante le quali sia possibile l'esposizione ad aerosols contaminati, devono indossare **Dispositivi di Protezione Individuale (DPI)**, in particolare per la protezione delle vie respiratorie.



- **GUANTI,**
- **OCCHIALI PROTETTIVI,**
- **MASCHERE FILTRANTI**
con valvola di
espirazione del tipo
FFP2 o FFP3.

**GRAZIE
DELL'ATTENZIONE**