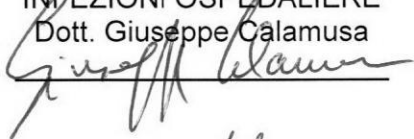




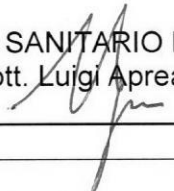
AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA

Deliberazione n. 1237 del 21-10-2022

Oggetto: adozione del documento aziendale denominato "Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi".

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO Il Responsabile U.O.S. PREVENZIONE E SORVEGLIANZA INFEZIONI OSPEDALIERE Dott. Giuseppe Calamusa  Il DIRETTORE SANITARIO DI PRESIDIO Dott. Luigi Aprea 	Area Gestione Economico - Finanziaria Autorizzazione spesa n. Del Conto di costo _____ NULLA OSTA in quanto conforme alle norme di contabilità Il Responsabile dell'Area Gestione Economico - Finanziaria
--	--

Ai sensi del DPR n. 445/2000 e ss.mm.ii., della Legge n. 241/90 e ss.mm.ii. e della L.R. 7/2019, il sottoscritto attesta la regolarità della procedura seguita e la legalità del presente atto, nonché l'esistenza della documentazione citata e la sua rispondenza ai contenuti esposti.

Il DIRETTORE SANITARIO DI PRESIDIO
Dott. Luigi Aprea


Il Commissario Straordinario
Ing. Alessandro Caltagirone

Ai sensi del D.A. n.599 dell'01 luglio 2020

Con l'intervento, per il parere prescritto dall'art. 3 del D.L.vo n. 502/92
così come modificato dal D.L.vo n. 517/93 e dal D.L.vo n. 229/99

del Direttore Sanitario dott. Gaetano Cimo'
Svolge le funzioni di segretario verbalizzante
Sig.ra Grazia Scalici



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA

Delibera n. 1237 del 21-10-2022

IL COMMISSARIO STRAORDINARIO

- VISTO** l'Accordo tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano, ai sensi degli articoli 2, comma 1, lett. b), e 4, comma 1, del Decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, sul documento recante *"Linee guida per la prevenzione e il controllo della Legionellosi"* (allegato A che ne costituisce parte integrante) approvato nella seduta del 7 maggio 2015 dalla Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano (Rep. atti n. 79/CSR del 7 maggio 2015);
- VISTO** il Decreto 5 agosto 2015 dell'Assessorato della Salute della Regione Siciliana (Suppl. ord. alla GURS (p. I) n. 35 del 28-8-2015 (n. 32). *"Recepimento dell'Accordo tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano, ai sensi degli articoli 2, comma 1, lett. b), e 4, comma 1, del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, sul documento recante "Linee guida per la prevenzione e il controllo della Legionellosi"*;
- CONSIDERATO** quanto determinato dal CIO (Comitato Infezioni Ospedaliere) sull'argomento, in ultimo, nelle riunioni del 18.12.2020, 11.03.2021 e del 04.05.2022;
- RITENUTO** necessario recepire ed adottare i contenuti degli atti sopracitati in un documento aziendale finalizzato a fornire a tutti gli operatori interessati all'interno dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "P. Giaccone" di Palermo, informazioni utili per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi;

Per i motivi in premessa citati che qui si intendono ripetuti e trascritti

DELIBERA

di adottare il documento aziendale finalizzato a fornire a tutti gli operatori interessati dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "P. Giaccone" di Palermo, informazioni utili per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi, allegato alla presente e denominato *"Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi"*

Il Direttore Amministrativo
VACATIO

Il Direttore Sanitario
Dr Gaetano Cimo'

A.G. E.MAIL DEL
17-10-2022

Il Commissario Straordinario
Ing. Alessandro Caltagirone



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA

Il Segretario Verbalizzante

Sig.ra Grazia Scalici

Gabrielle Douzell

PUBBLICAZIONE

Si certifica che la presente deliberazione, per gli effetti dell'art. 53 comma 2 L.R. n. 30 del 03/11/1993, in copia conforme all'originale, è stata pubblicata in formato digitale all'albo informatico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico a decorrere dal giorno _____ e che nei 15 giorni successivi:

- ☐ non sono pervenute opposizioni
- ☐ sono pervenute opposizioni da _____
- ☐

Il Funzionario Responsabile

[Signature]

Notificata al Collegio Sindacale il _____

DELIBERA NON SOGGETTA AL CONTROLLO

- ☐ Delibera non soggetta al controllo, ai sensi dell'art. 4, comma 8 della L. n. 412/1991 e divenuta:

☐

ESECUTIVA

Decorso il termine (10 giorni dalla data di pubblicazione ai sensi dell'art. 53, comma 6, L.R. n. 30/93

- ☐ Delibera non soggetta al controllo, ai sensi dell'art. 4 comma 8, della L. n. 412/1991 e divenuta:

IMMEDIATAMENTE ESECUTIVA

Ai sensi dell'art. 53, comma 7, L.R. 30/93

Il Funzionario Responsabile

[Signature]

ESTREMI RISCONTRO TUTORIO

- ☐ Delibera trasmessa, ai sensi della L.R. n. 5/09, all'Assessorato Regionale Salute in data _____ prot. n. _____

SI ATTESTA

che l'Assessorato Regionale Salute, esaminata la presente deliberazione:

- ☐ Ha pronunciato l'approvazione con atto prot. n. _____ del _____ come da allegato.
- ☐ Ha pronunciato l'annullamento con atto prot. n. _____ del _____ come da allegato.
- ☐ Delibera divenuta esecutiva con decorrenza del termine previsto dall'art. 16 della L. R. n. 5/09 dal _____

Il Funzionario Responsabile



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO "PAOLO GIACCONE" - PALERMO

PROTOCOLLO DI CONTROLLO DEL RISCHIO LEGIONELLOSI

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 1 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

INDICE

PREMESSA	3
OGGETTO	5
SCOPO	5
CAMPO DI APPLICAZIONE	5
DEFINIZIONI, ABBREVIAZIONI E TERMINI	5
MATRICE DELLE RESPONSABILITÀ	9
FLOWCHART	10
RIFERIMENTI NORMATIVI E DOCUMENTALI	11
BIBLIOGRAFIA	12
RICERCA DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI PROVENIENZA UMANA	12
RICERCA DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI MATRICE AMBIENTALE	15
METODO DI IDENTIFICAZIONE DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI PROVENIENZA AMBIENTALE	18
SISTEMA DI NOTIFICA E SORVEGLIANZA	19
VALUTAZIONE DEL RISCHIO	21
IMPIANTI	25
DISLOCAZIONE DELLE UNITA' DI TRATTAMENTO ACQUA SANITARIA NELL' A.O.U.P.	28
CLASSIFICAZIONE AREE OSPEDALIERE IN BASE AL LIVELLO DI RISCHIO	28
PROCEDURE ASSISTENZIALI A RISCHIO	32
RISCHIO ASSOCIATO AD ATTIVITÀ LAVORATIVA	33
PERIODICITÀ DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO	34
GESTIONE DEL RISCHIO	34
CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DEL SISTEMA IDRICO	35
INTERVENTI DI PREVENZIONE, RIDUZIONE DEL RISCHIO E MANUTENZIONE ORDINARIA	36
INTERVENTI ULTERIORI DI PREVENZIONE, RIDUZIONE DEL RISCHIO E MANUTENZIONE NELLE AREE A RISCHIO	38
IDENTIFICAZIONE DEI PUNTI CRITICI DI CONTROLLO, PUNTI DI CAMPIONAMENTO E MONITORAGGIO AMBIENTALE IN AUTOCONTROLLO	40
AZIONI CORRETTIVE IN RELAZIONE ALL'ESITO DEL CAMPIONAMENTO	44
COMUNICAZIONE E FORMAZIONE	48
ALLEGATI	49



PREMESSA

"Legionellosi" è il termine generico per indicare una patologia causata 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% (Malattia dei Legionari), sia in forma febbrile extrapolmonare o subclinica (Febbre di Pontiac).

Legionella pneumophila (L. pn.) è la specie più frequentemente rilevata nei casi diagnosticati^[1] e comprende 16 sierogruppi (sg) di cui *Legionella pneumophila* sg 1 è il più frequente, causando il 95% delle infezioni in Europa e l'85% nel mondo. Anche in Italia l'analisi della distribuzione di specie e dei sierogruppi isolati ha confermato la prevalenza di *Legionella pneumophila* sg 1^[2].

Le legionelle sono ubiquitarie negli ambienti acquatici naturali e artificiali; gli impianti idrici degli edifici (quali serbatoi e tubature) e gli impianti aeraulici possono agire come amplificatori e disseminatori del microrganismo, creando una potenziale situazione di rischio per la salute umana^[3]. Il biofilm che si può creare in queste strutture costituisce infatti l'ambiente di crescita ideale per questo batterio^[4]. Essendo il microrganismo ubiquitario, la malattia può manifestarsi in forma epidemica. Nonostante ciò, il tasso di attacco della Malattia dei Legionari è inferiore al 5% nella popolazione generale e può arrivare al 14% negli ospedali^[5]. Fattori predisponenti la malattia sono infatti l'età avanzata, il fumo di sigaretta, la presenza di malattie croniche e, soprattutto, l'immunodeficienza, condizioni facilmente riscontrabili tra i pazienti di un ospedale. Il rischio di acquisizione della malattia è principalmente correlato alla suscettibilità individuale del soggetto esposto e al grado d'intensità dell'esposizione, rappresentato dalla quantità di *Legionella* presente nell'ambiente e dal tempo di esposizione. 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^[6].

La legionellosi viene normalmente acquisita per via respiratoria mediante inalazione, aspirazione o microaspirazione di aerosol contenente *Legionella*. La maggior parte dei casi di legionellosi sono attribuiti a particelle di acqua aerodisperse, contenenti batteri provenienti da torri di raffreddamento, condensatori evaporativi, sezioni di umidificazione delle unità di trattamento dell'aria, contaminazione di impianti di acqua potabile, apparecchi sanitari, fontane e umidificatori ultrasonici.

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 sotto-diagnosticata e anche sotto-notificata.

L'incidenza globale annuale della malattia in Europa nel 2012 si situa a 11,5 casi per 1.000.000 di abitanti, con un tasso di letalità del 9% (Fonte: ECDC, www.ecdc.europa.eu). Nel 2017 sono pervenute in Italia complessivamente 2014 schede di sorveglianza relative ad altrettanti casi di legionellosi; di questi 1981 sono confermati e 33 probabili. L'incidenza della legionellosi è risultata pari a 33,2 casi per milione di abitanti, in lieve incremento rispetto all'anno passato (25,1/1.000.000), così come il numero assoluto di casi. Tuttavia, si osserva un gradiente Nord-Sud con valori pari a 50,1 casi per milione al Nord, 35,1 per milione al Centro e 9,7 per milione al Sud. Nel 2017 i casi nosocomiali segnalati sono stati 124 (6,2% dei casi totali notificati), di cui 50 (40,3%) di origine nosocomiale confermata e 74 (59,7%) di origine nosocomiale probabile. L'esito della malattia è noto per il 36,8% dei pazienti: nell'87,3% dei casi è stata segnalata guarigione o miglioramento, mentre nel 12,7% dei casi il paziente è deceduto. La letalità totale (calcolata sul totale dei casi per i quali è

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
---	---

disponibile l'informazione sull'esito della malattia) è pari a 10,1%. Considerando, invece, solo i casi di origine nosocomiale la letalità è pari al 51,1%^[7].

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.

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;
- in pazienti che siano stati esposti a *Legionella* durante un'epidemia;
- in pazienti in cui nessun'altra eziologia è probabile.

	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 croniche 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

Figura 1

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 4 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

OGGETTO

Analisi del rischio di Legionellosi nosocomiale e Protocollo di controllo e prevenzione dei rischi sanitari associati all'utilizzo dell'acqua potabile fornita al sistema di distribuzione interno della struttura Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "Paolo Giaccone" di Palermo.

SCOPO

Prevenire e gestire i casi di colonizzazione/infezione e della malattia Legionellosi nosocomiale tra i pazienti e gli operatori dell'A.O.U.P. "Paolo Giaccone" di Palermo attraverso l'elaborazione e l'adozione di idonee misure sul piano preventivo e reattivo, basate sulla valutazione del rischio.

CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente protocollo è applicato e costituisce regola di comportamento nell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "Paolo Giaccone" di Palermo.

Esso individua, inoltre, i soggetti deputati alla valutazione, gestione e comunicazione del rischio di Legionellosi, alla manutenzione degli impianti e alle procedure di campionamento ambientale e analisi microbiologiche per il rilevamento della *Legionella* nelle matrici ambientali.

L'acqua di rete dell'A.O.U.P. viene impiegata come:

- *Acqua destinata al consumo umano:*
 - impianti idrosanitari per la produzione di acqua fredda e calda
 - esecuzione di attività e procedure assistenziali
 - gestione di attrezzature sanitarie
 - igiene delle mani e della persona
 - pulizia e sanificazione degli ambienti.
- *Acqua tecnologica:*
 - produzione del vapore (torri di raffreddamento)
 - impianti di climatizzazione (condizionamento, raffrescamento)

Il presente protocollo, pertanto, si applica all'intera rete idrica, alle torri di raffreddamento, alle U.T.A. (Unità di Trattamento Aria), alla rete aeraulica, ai ventilconvettori e ai dispositivi medici che generano aerosol.

DEFINIZIONI, ABBREVIAZIONI E TERMINI

Definizioni:

Si riportano le definizioni di Caso Accertato e Caso Probabile presenti nelle "Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi" - Conferenza Stato-Regioni del 07 maggio 2015.

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 5 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

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 normalmente sterile;
2. riconoscimento dell'antigene specifico solubile nelle urine;
3. sieroconversione: aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico verso L. pn. sg 1, rilevato in due campioni di siero 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. sieroconversione: aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico, relativo a sierogruppi o specie diverse da L. pn. sg1;
4. singolo titolo sierologico anticorpale elevato ($>1:256$) verso L. pn. sg1.

Si riportano in tabella le definizioni di caso in relazione all'esposizione presenti nel "*Legionella and the prevention of legionellosis*" WHO, 2007

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 6 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

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 di legionellosi 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.

Figura 2

Abbreviazioni:

FAP= Filtri Assoluti Permanenti
FAT= Filtri Assoluti Temporanei
U.T.A.= unità di trattamento aria
UU.OO.= Unità Operative

Termini:

Aerosol: in questo documento è definito come una sospensione di particelle costituite da minuscole goccioline di acqua, in genere con diametro interno < 5 µm, che possono contenere *Legionella* ed essere inalate in profondità nei polmoni.

Aria condizionata: un sistema di trattamento dell'aria in cui temperatura, umidità e purezza dell'aria sono controllate entro limiti determinati.

Batteri: organismi microscopici, unicellulari o, più raramente, pluricellulari.

Biocida o disinfettante: sostanza capace di distruggere o inattivare irreversibilmente (in relazione alla concentrazione utilizzata ed al tempo di contatto) i microrganismi, riducendo il loro numero.

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 7 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

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.

Condensatore evaporativo: è un dispositivo che, attraverso uno scambio di calore, permette la condensazione di un gas caldo che scorre all'interno di un circuito chiuso le cui tubazioni sono esternamente irrorate con acqua che, evaporando, permette la condensazione del gas caldo. L'evaporazione è agevolata da un flusso d'aria in direzione opposta al flusso d'acqua di raffreddamento.

Disinfezione: è un processo irreversibile operato con metodi chimici o fisici che distrugge o inattiva microrganismi e ne riduce il numero.

Erogatori sentinella: rubinetti selezionati, di solito il primo e l'ultimo su un sistema di ricircolo dell'acqua calda, per il monitoraggio di routine. Per i sistemi di acqua fredda (o sistemi senza ricircolo dell'acqua calda), i rubinetti più vicini e più lontani dal serbatoio di deposito o il punto nel quale l'acqua entra nell'edificio. La scelta di rubinetti sentinella può anche includere altri rubinetti che possono rappresentare un rischio particolare.

Filtro HEPA: con tale termine (dall'inglese *High Efficiency Particulate Air filter*) si indica un particolare sistema di filtrazione ad elevata efficienza di fluidi (liquidi o gas). È composto da foglietti filtranti di microfibre (generalmente in borosilicato) assemblati in più strati, separati da setti in alluminio. I foglietti filtranti in microfibra hanno il compito di bloccare il particolato presente in sospensione nel fluido da trattare. Le particelle solide possono essere infatti nocive per la salute umana o possono pregiudicare la qualità del prodotto finale che si desidera ottenere. I filtri HEPA fanno parte della categoria dei cosiddetti "filtri assoluti", a cui appartengono anche i filtri ULPA (Ultra Low Penetration Air). Il termine "filtri assoluti" è giustificato dal fatto che tali dispositivi mostrano un'elevata efficienza di ritenzione, compresa tra l'85% (H10) e il 99,995% (H14) per gli HEPA e tra il 99,9995% (U15) e il 99,99995% (U17) per gli ULPA.

Inalazione: introduzione con l'inspirazione, nell'apparato respiratorio di sostanze volatili o liquidi aerosolizzati.

Inibitori di corrosione: prodotti chimici che proteggono i metalli dalla corrosione mediante: (i) promozione di un film sottile di ossido di metallo (passivazione) ad opera di inibitori anodici; (ii) formazione di una barriera fisica (pellicola sottile) per deposizione controllata.

Inibitori del calcare: sostanze chimiche usate per controllare la formazione del calcare.

Microaspirazione: inalazione di secrezioni oro-faringee nell'albero bronchiale. È un meccanismo di per sé fisiologico, sempre presente in noi anche se non involontario (per esempio come succede durante il sonno), ma che tende ad accentuarsi in caso di turbe della coscienza e della deglutizione.

Microrganismo: un organismo di dimensioni microscopiche come i batteri, funghi, protozoi e virus.

Stagnazione: condizione in cui l'acqua cessa di fluire all'interno di un sistema favorendo, nel tempo, la crescita microbica.

Torre evaporativa o torre di raffreddamento: è un dispositivo di dissipazione del calore che estrae calore nell'atmosfera attraverso il raffreddamento di un flusso di acqua ad una temperatura inferiore. La dissipazione del calore in una torre di raffreddamento avviene per "evaporazione", in quanto una quota dell'acqua da raffreddare evapora in un flusso di aria in movimento contrario, al fine di fornire un raffreddamento significativo alla parte rimanente del flusso d'acqua.

Valutazione del rischio: procedura volta a identificare e valutare il rischio di legionellosi in sorgenti d'acqua (impianti idrici, torri di raffreddamento, ecc.) in edifici o siti industriali e determinare le azioni necessarie per ridurlo.

Valvola termostatica di miscelazione (TMV): erogatore in cui la temperatura in uscita è preselezionata e controllata automaticamente dalla valvola che rilascia l'acqua ad una temperatura di solito compresa tra i 42 - 44°C.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

MATRICE DELLE RESPONSABILITÀ

FUNZIONE ATTIVITÀ	UU.OO.	Direzione Sanitaria di Presidio - U.O. Prevenzione Controllo Infezioni Ospedaliere	Direzione Sanitaria di Presidio - U.O. Controllo Igiene Ospedaliere	Area Tecnica	SPP	Medico competente
Notifica del caso di legionellosi	R	C				
Definizione Punti Critici di Controllo		C	R	C		
Classificazione Aree Ospedaliere per Livello di Rischio	C	R	C			
Elaborazione protocollo prevenzione, sorveglianza e controllo	C	R	C	C		
Prelievo, Trasporto, Analisi, Refertazione campioni ambientali	C		R	C		
Manutenzione programmata e ordinaria degli impianti	C	C	C	R		
Individuazione Interventi correttivi e di manutenzione straordinaria	C	C	R	C		
Esecuzione interventi correttivi e di manutenzione straordinaria	C	C	C	R		
Compilazione registri degli interventi manutentivi	C			R		
Stesura DVR	C	C	C		R	R

R= Responsabile; C= Coinvolto/Collabora

FLOWCHART

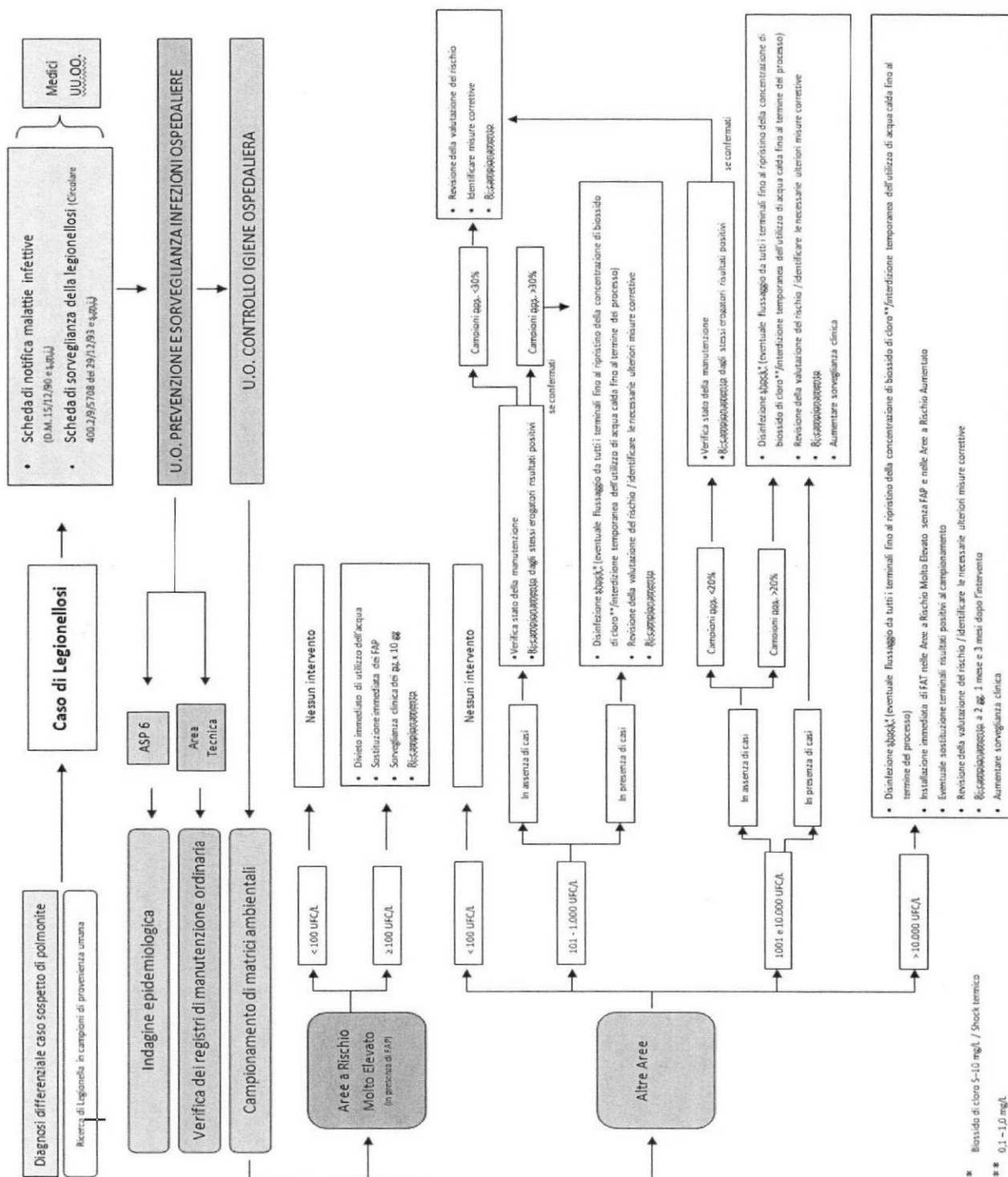


Figura 3



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

RIFERIMENTI NORMATIVI E DOCUMENTALI

- DLGS 31/2001 E S.M.I.
- LINEE GUIDA SULLA QUALITÀ DELL'ACQUA POTABILE 2004 WHO
- Regolamenti CE n.438/2001 e CE n.448/2001 "Norme di attuazione del regolamento CE 1260/99, per la parte relativa ai sistemi di gestione e di controllo"
- Regolamento CE n.2001/37/03 "Disciplina comunitaria degli aiuti di Stato per la tutela dell'ambiente"
- Direttiva 2000/60/CEE del 23 ottobre 2000 "direttiva quadro per l'azione comunitaria in materia di acque"
- Direttiva 98/83/CE "Qualità delle acque destinate al consumo umano"
- Direttiva 76/464/CEE "inquinamento provocato da alcune sostanze pericolose scaricate nell'ambiente idrico"
- "Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi". Conferenza Stato-Regioni del 07 maggio 2015.
- "Linee guida per la definizione di protocolli tecnici di manutenzione predittiva sugli impianti di climatizzazione": provvedimento della Conferenza Permanente Stato Regioni del 5 ottobre 2006, n. 2636.
- "Procedura operativa per la valutazione e gestione dei rischi correlati all'igiene degli impianti di trattamento aria", Accordo Conferenza Stato-Regioni 07/02/2013
- Decreto Legislativo 3 aprile 2006 n. 152, "Norme in materia ambientale", G.U. n.88 del 14/04/2006
- "Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico – recettive e termali", G.U. 4 febbraio 2005 - n.28 S.S.D. Igiene Ospedaliera e Qualità dei PROCEDURA Servizi Ambientali P-110-AZ Rev. 3 Pag. 5/41 13/12/2018
- Decreto legislativo 24 dicembre 2003, n. 355 "Proroga di termini previsti da disposizioni legislative: art.15 - "acque potabili trattate", art. 9 - "Rilascio dell'autorizzazione integrata ambientale"
- Legge 31 luglio 2002 n.179 "Disposizioni in materia ambientale"
- D.Lgs. 2 febbraio 2002, n. 27 "Modifiche ed integrazioni al D.Lgs. 2 febbraio 2001, n. 31 recante attuazione della Direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano Decreto legislativo 2 febbraio 2001, n.31 recante attuazione della Direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano" (TESTO COORDINATO)
- Decreto legislativo 2 febbraio 2001, n.31 "Attuazione della Direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano"
- Decreto legislativo 267/2000 "Testo unico degli Enti Locali, così come modificato dall'art.35 della Legge 28 dicembre 2001 n.448 - Legge finanziaria 2002"
- "Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi", G.U. 5 maggio 2000 – serie generale – n.103
- Decreto del Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio 6 novembre 2003, n. 367 "Regolamento concernente la fissazione di standard di qualità nell'ambiente acquatico per le sostanze pericolose, ai sensi dell'articolo 3, comma 4, del D.Lgs 11 maggio 1999, n. 152"
- D.M. Sanità 26/3/1991 "Norme tecniche di prima attuazione del decreto del Presidente della Repubblica 24/5/1988 n. 236"

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 11 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



- D.M. Sanità 21/12/1990 n. 443 "Regolamento concernente le apparecchiature per il trattamento domestico di acque potabili"
- Decreto del Presidente della Repubblica 24 maggio 1988, n.236 "Attuazione della Direttiva comunitaria 80/778 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, ai sensi dell'articolo 15 della Legge 16 aprile 1987, n.183"
- Delibera del Comitato dei Ministri 4/2/77 "Norme tecniche generali della Legge 319/76"
- D.M. 05/09/2006 "Modifica del valore fissato nell'Allegato I parte B al Decreto Legislativo 02/02/2001 n.31 per il parametro clorito"
- Decreto Legislativo 9 Aprile 2008, n. 81 - TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO - Attuazione dell'articolo 1 della Legge 3 agosto 2007, n. 123 in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro.

BIBLIOGRAFIA

1. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clin Microbiol Rev. 2002 Jul;15(3):506-26. doi: 10.1128/cmr.15.3.506-526.2002. PMID: 12097254; PMCID: PMC118082
2. Fontana S, Scaturro M, Rota MC, Caporali MG, Ricci ML. Molecular typing of Legionella pneumophila serogroup 1 clinical strains isolated in Italy. Int J Med Microbiol. 2014 Jul;304(5-6):597-602. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.04.004. Epub 2014 Apr 26. PMID: 24881962
3. Declerck P, Behets J, van Hoef V, Ollevier F. Detection of Legionella spp. and some of their amoeba hosts in floating biofilms from anthropogenic and natural aquatic environments. Water Res. 2007 Jul;41(14):3159-67. doi: 10.1016/j.watres.2007.04.011. Epub 2007 Jun 4. PMID: 17544473
4. Declerck P. Biofilms: the environmental playground of Legionella pneumophila. Environ Microbiol. 2010 Mar;12(3):557-66. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.02025.x. Epub 2009 Aug 12. PMID: 19678829.
5. World Health Organization. (2007). Legionella and the prevention of legionellosis. Geneva: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43233>
6. Ministero della Salute. Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi. Roma: Ministero della Salute; 2015. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2362_allegato.pdf
7. <https://www.epicentro.iss.it/legionellosi/epidemiologia-italia>

RICERCA DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI PROVENIENZA UMANA

I metodi di diagnosi per l'infezione da *Legionella* correntemente utilizzati sono i seguenti (fig. 4):

- isolamento del batterio mediante coltura su campione biologico;
- rilevazione di anticorpi su siero 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. 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 ceppi dai pazienti dando la possibilità di risalire alla fonte di infezione.

È ormai opinione condivisa a livello internazionale, che maggiore è il numero di metodi diagnostici utilizzati, più corretta sarà la diagnosi di legionellosi. Per ulteriori dettagli consultare l'Allegato 2 delle Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi.

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 pazienti immunocompromessi la risposta anticorpale può essere assente.
Sieroconversione	70-90	95-99	
Singolo siero	Non nota	50-70	
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.
Immunofluorescenza Diretta (DFA)			Molto rapido (2-4h); sensibilità limitata, richiede esperienza.
Escreato o BAL	25-75	95-99	

Biopsia di tessuto polmonare	80-90	99	Reagenti non validati per non <i>Lp species</i> .
PCR			Rapido. Metodo non ancora validato per la diagnosi; rileva tutte le specie di <i>Legionella</i> .
Secrezioni del tratto respiratorio	85-92	94-99	
Urine, siero	33-70	98	

*La sensibilità della rilevazione dell'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.

Figura 4

Metodo colturale

L'isolamento mediante coltura su campione biologico è considerato il metodo diagnostico di elezione per la diagnosi di legionellosi. I campioni dovrebbero essere prelevati prima del trattamento antibiotico, sebbene *Legionella* sia stata isolata da secrezioni del tratto respiratorio e dal sangue anche dopo alcuni giorni di trattamento antibiotico. I campioni del tratto respiratorio (BAL, tracheoaspirato, liquido pleurico) e il parenchima polmonare, dovrebbero essere tempestivamente coltivati (Stout et al., 2003).



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

L'analisi dei campioni clinici mediante coltura è estremamente importante perché è il criterio diagnostico più specifico, permette l'isolamento di tutte le specie e sierogruppi e consente lo studio comparativo con ceppi di *Legionella* isolati dall'ambiente, presumibilmente associati all'infezione, al fine di individuare la fonte dell'infezione stessa.

Tale metodica riveste particolare importanza nel contesto dell'A.O.U.P. "Paolo Giaccone" in relazione alla valutazione del rischio specifico per l'Azienda; negli anni, infatti, non è stato infrequente il rilevamento, in corso di campionamento ambientale, di *Legionella Pneumophila Sierogruppo 2-14*, per la quale non è ad oggi validato l'utilizzo della rilevazione dell'antigene urinario quale indagine diagnostica. Si incentiva, pertanto, la ricerca mediante metodo colturale in corso di diagnosi differenziale.

Rilevazione dell'antigene urinario

La presenza dell'antigene solubile di *Legionella* nelle urine (antigenuria) si rileva nella maggior parte dei pazienti da uno a tre giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, con un picco a 5-10 giorni; può persistere per alcune settimane o mesi, soprattutto in pazienti immunocompromessi, dove può persistere per quasi un anno (Kohler et al., 1984). Questo test è attualmente validato esclusivamente per *L. pn. sg. 1*, anche se, in una certa percentuale di casi, è stata riscontrata positività a seguito di infezioni causate da altri sierogruppi di *Legionella* (Benson et al., 2000; Olsen et al., 2009). Confrontato con altri metodi diagnostici, il test dell'antigene urinario presenta evidenti vantaggi: i campioni sono ottenuti facilmente, è rilevabile nelle fasi precoci della malattia e il test è facile e rapido da effettuare, oltre che specifico. Inoltre può essere rilevato anche nella Febbre di Pontiac (Burnsed et al., 2007). In casi sospetti, in presenza di segni clinici di polmonite, oltre al test dell'antigene urinario andrebbe effettuato un ulteriore test diagnostico (esame colturale, sierologico o PCR). Un 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 a tale 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 principalmente alcuni ceppi di *L. pneumophila* che sono predominanti nei casi di legionellosi associata ai viaggi.

Immunofluorescenza indiretta (IFI)

I metodi sierologici sono utili per indagini epidemiologiche retrospettive ma sono meno validi per quelle cliniche, data la comparsa talvolta tardiva degli anticorpi specifici a livelli significativi e a causa della necessità di controllare un ulteriore campione di siero in fase di convalescenza. Un aumento di quattro volte o più del titolo anticorpale tra due sieri prelevati a distanza di 10 gg. nella fase acuta e convalescente della malattia ha valore diagnostico.

Microagglutinazione ed ELISA

Sono test sierologici più specifici per *L. pneumophila sierogruppo 1* (Edelstein, 2002). La sensibilità è tra l'80% e il 90% e la specificità è di circa il 98%.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Immunofluorescenza diretta (DFA)

Il riscontro di *Legionella* nei campioni clinici per mezzo dell'immunofluorescenza diretta, 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 una certa preparazione ed esperienza nella lettura del preparato ed è influenzata dalla specificità degli antisieri utilizzati e dalle dimensioni del preparato esaminato

Amplificazione di geni specifici mediante PCR

La diagnosi di legionellosi in campioni clinici mediante *Polymerase Chain Reaction* (reazione a catena della polimerasi o PCR) si basa sulla determinazione della presenza di DNA di *Legionella*, attraverso amplificazione di geni specifici (Cloud et al., 2000; Murdoch, 2003). 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 *L. pneumophila*.

RICERCA DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI MATRICE AMBIENTALE

Campionamento di matrici ambientali

I campionamenti ed il loro processamento vengono effettuati dal personale afferente all'U.O. Controllo Igiene Ospedaliera (metodo di concentrazione per filtrazione). Per quanto riguarda il controllo qualità dei filtri antibatterici il prelievo viene eseguito *una tantum* su un campione di acqua prelevato dopo filtrazione. Per questi ultimi, oltre alla ricerca di *Legionella*, viene eseguita la conta batterica totale e la ricerca di microrganismi opportunisti per la prevenzione delle infezioni correlate all'assistenza. Il volume consigliabile da sottoporre ad analisi è di almeno 1 litro.

Metodo di campionamento di acqua calda

- A. Per la ricerca di *Legionella*, in condizioni di utilizzo comune (ossia un campione istantaneo per simulare l'eventuale esposizione da parte di un utente), prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua e misurare la temperatura ponendo il termometro al centro del flusso.
- B. Per una ricerca di *Legionella* all'interno dell'impianto (ossia per monitorarne le sue condizioni d'igiene):
 - far scorrere l'acqua per almeno un minuto;
 - chiudere il flusso e flambare all'interno e all'esterno dello sbocco, (quando la flambatura è tecnicamente possibile) oppure disinfettare con ipoclorito al 1% o etanolo al 70% lasciando agire il disinfettante almeno per 60 secondi;
 - fare scorrere l'acqua ancora per almeno 1 minuto per rimuovere l'eventuale disinfettante;
 - misurare la temperatura ponendo il termometro nel flusso d'acqua e aspettando il tempo necessario affinché raggiunga un valore pressoché costante
 - quindi prelevare il campione.



Metodo di campionamento di acqua fredda

Per la ricerca di *Legionella* in condizioni di utilizzo comune prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua e misurare la temperatura ponendo il termometro al centro del flusso. Quindi prelevare il campione. Per la ricerca di *Legionella* nell'acqua all'interno dell'impianto di acqua fredda il campione si può prelevare seguendo quanto è stato descritto per l'acqua calda. Se la temperatura dell'acqua nell'impianto è $\leq 20^{\circ}\text{C}$ il numero di campioni può essere ridotto.

Metodo di campionamento di incrostazioni

Prelevare da tubature e serbatoi, staccando meccanicamente con bisturi sterile il materiale depositatosi all'interno. Raccogliere in recipienti sterili di vetro o altro materiale monouso contenente una piccola quantità (2-5 mL) di soluzione Ringer o Page o acqua sterile.

Metodo di campionamento del biofilm

Con un tampone sterile raccogliere il materiale depositato sulle superfici interne o esterne del punto terminale (effettuare il prelievo prima di aprire il flusso d'acqua, dopo aver smontato il rompi getto o il diffusore della doccia). Conservare il tampone in recipiente di vetro o altro materiale monouso (provetta) con tappo, contenente una piccola quantità (2-5 mL) di soluzione Ringer o Page o acqua sterile.

Le caratteristiche che deve avere la procedura di campionamento, prelievo, trasporto e conservazione di matrici ambientali per la ricerca della *Legionella* vengono identificate nel dettaglio dall'Allegato 3 delle *Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi*, insieme allo *Schema di campionamento* da utilizzare.

È 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).

Il campionamento di matrici ambientali deve essere effettuato con fine di monitoraggio in regime di autocontrollo, attraverso il piano di campionamenti programmati, da effettuarsi con cadenza variabile in relazione alla valutazione del rischio, e al bisogno, ogni volta che si presenta un caso di Legionellosi all'interno della struttura.

➤ **Quando viene diagnosticato un caso di legionellosi, in un qualsiasi reparto, è necessario eseguire l'indagine epidemiologica ed il campionamento 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 verificato sul registro delle attività manutentive la corretta esecuzione di tutte le procedure di manutenzione ordinaria stabilite dalla presente Procedura;
- deve essere effettuata una valutazione sulle condizioni di eventuale utilizzo di dispositivi medici a rischio;
- devono essere effettuati controlli microbiologici ambientali per la ricerca di Legionella;
- devono essere presi in considerazione gli impianti tecnologici (idrici ed aeraulici), nonché gli eventuali dispositivi medici in uso, secondo quanto emerso dall'inchiesta epidemiologica 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 con Legionella, occorre valutare la necessità di eventuali interventi di disinfezione.

Le tipologie di interventi correttivi da applicare in caso di riscontro di Legionella al campionamento ambientale variano in relazione alla concentrazione di Legionella trovata (espressa in UFC/L), alla percentuale di campioni risultati positivi e all'eventuale presenza di casi, e verranno descritte più avanti.

Dopo gli interventi di bonifica, l'impianto deve essere ricampionato negli stessi erogatori risultati positivi secondo la seguente tempistica:

- 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 o secondo quanto previsto dal relativo Piano di controllo 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 esiti dell'analisi microbiologica.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

METODO DI IDENTIFICAZIONE DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI PROVENIENZA AMBIENTALE

Metodo culturale

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" e ISO N. 11731-2: 2004 "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 in campioni ambientali sono: acqua, sedimenti, biofilm. Il metodo analitico è riportato nell'Allegato 4 delle Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi.

Secondo quanto previsto già dalle Linee Guida Nazionali 2015, le soglie di concentrazione di Legionella (UFC/l) negli impianti idro-sanitari a servizio delle aree ospedaliere sono così definite:

Tabella 1

≤ 100 UFC/l	Conformità assoluta
101-1.000 UFC/l	Conformità limitata
1.001-10.000 UFC/l	Parziale non conformità
> 10.000 UFC/l	Grave non conformità

Per le torri di raffreddamento le soglie di concentrazione di Legionella (UFC/l) sono le seguenti:

Tabella 2

≤ 1000 UFC/l	Conformità assoluta
1.001-10.000 UFC/l	Conformità limitata
10.001-100.000 UFC/l	Parziale non conformità
> 100.000 UFC/l	Grave non conformità

Real-Time PCR

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 e specifica i requisiti metodologici, di valutazione e controllo di qualità del metodo qPCR applicato a Legionella. Tale normativa detta le linee-guida per l'elaborazione di un metodo affidabile 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,

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 18 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

la qPCR non dà informazione riguardo lo stato delle cellule, la quantificazione dovrà sempre essere determinata mediante esame colturale. Ciò che maggiormente limita l'uso della qPCR rispetto alla coltura è che nella legislazione nazionale, così come in quella europea e dell'OMS, i livelli di azione sono espressi in Unità Formanti Colonia per litro (UFC/L) 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. Poiché la q-PCR è effettivamente vantaggiosa per molteplici aspetti ma non ancora validata a livello internazionale, essa può, ad oggi, essere solo consigliata per una rapida analisi di numerosi campioni prelevati da siti probabilmente associati ad un caso o ancor più a un cluster di legionellosi, potendo in tempi brevi escludere i siti negativi e identificare quelli positivi. I campioni risultati positivi devono essere comunque analizzati con il metodo colturale.

Le modalità di ricerca e quantificazione di *Legionella* nei campioni ambientali sono descritte nel dettaglio nell'Allegato 4 delle Linee Guida del 2015.

SISTEMA DI NOTIFICA E SORVEGLIANZA

La **notifica** dei casi di legionellosi è obbligatoria, secondo le indicazioni del D.M. 15/12/90 e successive integrazioni (Allegato 6). L'invio della notifica secondo il DM 15/12/90 non sostituisce l'invio della **scheda di sorveglianza** (Circolare 400.2/9/5708 del 29/12/93 e successive integrazioni, presente nell'Allegato 7 delle Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi).

Il medico che pone la diagnosi deve compilare sia la scheda di notifica che quella di sorveglianza e inviarle alla Direzione Sanitaria di Presidio – U.O. Prevenzione e Sorveglianza Infezioni Ospedaliere, la quale provvederà ad inoltrarle all'ASP Palermo (per attivazione indagine epidemiologica), 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 Riferimento per 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 confronto tra 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 che li hanno inviati.

Poiché, la scheda di sorveglianza deve essere inviata all'ISS entro 48 ore dalla diagnosi, anche se incompleta, essa va compilata con le informazioni a disposizione ed eventualmente integrata in seguito.

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 e/o sistemi di Alert informatizzati) 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.

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 19 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



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;
- 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.

Gestione dei cluster nosocomiali 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.



VALUTAZIONE DEL RISCHIO

La valutazione del rischio tiene conto di fattori ambientali ed impiantistici, delle caratteristiche individuali dell'ospite, della tipologia dei pazienti assistiti, delle prestazioni erogate e di eventuali precedenti epidemiologici (Fig.5).

Fattori ambientali - Metodi di trattamento acqua - Temperatura acqua in diversi punti della rete	Disinfezione, clorazione Legionella è termofila cresce bene tra 25° e 42°C. Se l'acqua viene conservata in questo range di T. o distribuita ai reparti vi è il rischio che l'impianto si possa colonizzare.
Fattori impiantistici	2. Condizioni strutturali: - sviluppo in verticale - presenza di rami morti nella rete - scaldabagni in parallelo - tipologia di tubazioni 2. Condizioni di utilizzo o manutenzione: - Serbatoi non sottoposti a manutenzione periodica - Soffioni docce ed aeratori non puliti o non sostituiti in reparti a rischio - Presenza di terminali idrici scarsamente utilizzati
Storia precedente nella struttura	- precedenti casi di legionellosi ospedaliera ed isolamenti da impianti idrici/aerulici
Tipologia di pazienti	<u>1. Rischio molto elevato</u> - Pazienti sottoposti a trapianto cellule staminali - Pazienti sottoposti a chemioterapia <u>2. rischio aumentato in presenza di patologie e condizioni individuali</u> - Età, abitudine al fumo, etilismo cronico - Diabete, scompenso cardiaco, BCPO, nefropatie - intervento chirurgico in anestesia generale - HIV. - tumori maligni - terapie immunosoppressive
Pratiche sanitarie che aumentano il rischio	Pratiche sanitarie inerenti le vie aeree: (intubazione, ventilazione, aspirazione, aerosol, ecc.) Parto in acqua

Figura 5

Per valutare l'entità del rischio impiantistico per singolo edificio le linee guida indicano l'uso della lista di controllo contenuta nell' allegato 12 per le seguenti tipologie di impianto: acqua fredda sanitaria "AF", acqua calda sanitaria "AC", torre evaporativa/condensatore evaporativo "TC", impianti aerulici "IA", riuniti odontoiatrici "RO".

Tale valutazione va effettuata per ogni plesso/edificio/impianto dell'Azienda.

Il dettaglio dei quesiti presenti nella lista di controllo sono riportati di seguito.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Impianto	Id FR	Quesito
Acqua fredda sanitaria	FR.AF.1	Se lo svuotamento e la pulizia almeno annuale dei serbatoi non è effettuata, essa è compensata da un'azione di controllo alternativa?
	FR.AF.2	ASSENZA di rami morti (linee di distribuzione mai utilizzate)?
	FR.AF.3	ASSENZA di linee di distribuzione caratterizzate da limitato utilizzo (indicativamente utilizzate meno di 20 minuti alla settimana) o rallentamento del flusso idrico
	FR.AF.4	ASSENZA di linee di distribuzione esterne o scarsamente/per nulla isolate termicamente
	FR.AF.5	Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che tutte le temperature d'erogazione dell'acqua fredda sanitaria sono inferiori ai 20°C?
	FR.AF.6	Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che la temperatura di stoccaggio dell'acqua fredda sanitaria è inferiore ai 20° C

Figura 6

Impianto	Id FR	Quesito
Acqua calda sanitaria	FR.AC.1	Se presenti bollitori/serbatoi di raccolta dell'acqua calda sanitaria, è effettuato lo spurgo regolare dalla loro valvola di fondo?
	FR.AC.2	Se la disinfezione almeno semestrale dei bollitori/serbatoi non è effettuata, essa è compensata da un'adeguata azione di controllo alternativa?
	FR.AC.3	ASSENZA di rami morti (linee di distribuzione mai utilizzate)
	FR.AC.4	ASSENZA di linee di distribuzione caratterizzate da limitato utilizzo (indicativamente utilizzate meno di 20 minuti alla settimana) o rallentamento del flusso idrico
	FR.AC.5	ASSENZA di linee di distribuzione esterne o scarsamente/per nulla isolate termicamente
	FR.AC.6	Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che tutte le temperature d'erogazione dell'acqua calda sanitaria sono superiori ai 50°C?
	FR.AC.7	Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che la temperatura di stoccaggio dell'acqua calda sanitaria è superiore ai 60°C?

Figura 7

Impianto	Id FR	Quesito
Torre evaporativa o condensatore evaporativo	FR.TC.1	Se presente torre/condensatore, è applicato un trattamento biocida?
	FR.TC.2	Se presente torre/condensatore, è applicato un trattamento contro le corrosioni e le incrostazioni?
	FR.TC.3	Se presente torre/condensatore, è effettuato un intervento di pulizia (chimica e/o fisica) e disinfezione biocida shock con frequenza media semestrale?
Impianto aeraulico	FR.IA.1	Se è utilizzato il sistema d'umidificazione dell'aria con l'utilizzo dell'acqua allo stato liquido, è presente un sistema di disinfezione od una procedura equivalente finalizzata al mantenimento di idonee condizioni d'igiene di tale acqua d'umidificazione
	FR.IA.2	E' previsto un programma di regolare ispezione, pulizia e sanificazione degli impianti aeraulici?

Figura 8

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 22 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
---	---

Altri impianti idrici	Id FR	Quesito
Riuniti odontoiatrici	FR.RO.1	Se presenti, è applicato ad essi uno specifico piano di manutenzione, che ne preveda un'adeguata pulizia e disinfezione?
Impianto di irrigazione	FR.IR.1	Se presente, esso è esercitato in orari e/o modalità tali da minimizzare l'esposizione ad aerosol d'acqua rilasciati dall'impianto?

Figura 9

Il livello di rischio impiantistico viene definito sommando le risposte negative dei quesiti descritti nell'All. 12, suddivisi per le categorie 'AF', 'AC', 'TC', 'IA' e 'RO' IR secondo quanto riportato di seguito.

IMPIANTO ACQUA FREDDA SANITARIA		
Numero di domande di rischio (FR.AF) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale o superiore a 5	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.AF).	3 su 3
Compreso tra 2 e 4	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei Fattori di Rischio individuati (FR.AF).	2 su 3
Inferiore o uguale a 1	Controllo del Rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al Fattore di Rischio (qualora) individuato (FR.AF) e ridurlo ove possibile	1 su 3

Figura 10

IMPIANTO ACQUA CALDA SANITARIA		
Numero di domande di rischio (FR.AC) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale o superiore a 5	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.AC).	3 su 3
Compreso tra 2 e 4	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei Fattori di Rischio individuati (FR.AC).	2 su 3
Inferiore o uguale a 1	Controllo del Rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al Fattore di Rischio (qualora) individuato (FR.AC) e ridurlo ove motivato opportuno.	1 su 3

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 23 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
---	--

Figura 11

IMPIANTO A TORRE EVAPORATIVA - CONDENSATORE EVAPORATIVO		
Numero di domande di rischio (FR.TC) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale a 3	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.TC).	3 su 3
Uguale a 2	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei Fattori di Rischio individuati (FR.TC).	2 su 3
Uguale o inferiore a 1	Controllo del Rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al Fattore di Rischio (qualora) individuato (FR.TC) e ridurlo ove motivato opportuno.	1 su 3

Figura 12

IMPIANTO AEREAULICO		
Numero di domande di rischio (FR.IA) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale a 2	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.IA).	3 su 3
Uguale a 1	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo del Fattore di Rischio individuato (FR.IA).	2 su 3

Figura 13

RIUNITI ODONTOIATRICI		
Numero di domande di rischio (Fr.RO) alle quali è stata fornita risposta negativa	Stima dell' attuale livello di Controllo del rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale a 1	Controllo del rischio da incrementare immediatamente	3/3
IMPIANTO DI IRRIGAZIONE		
Numero di domande di rischio (Fr. IR) alle quali è stata fornita risposta negativa	Stima dell' attuale livello di Controllo del rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale a 1	Controllo del rischio da incrementare immediatamente	3/3

Figura 14

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 24 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



Tale lista di controllo va compilata per la valutazione del rischio iniziale e deve essere successivamente revisionata almeno annualmente, o in concomitanza di qualsiasi modifica strutturale e/o comportamentale che possa determinare un cambiamento nella valutazione del rischio, separatamente per ogni singolo Plesso che compone l'A.O.U.P..

Il livello di rischio impiantistico, secondo le linee guida, è ricavato sommando le risposte negative ai predetti quesiti, suddivisi per le categorie 'AF', 'AC', 'TC', 'IA' e 'Altri impianti idrici'.

Il totale di risposte negative ricade entro range, predefiniti dalle stesse Linee guida, cui corrisponde un livello di rischio così come di seguito riportato:

- **Rischio 3/3:** controllo del rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di rischio individuati
- **Rischio 2/3:** controllo del rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei fattori di rischio individuati.
- **Rischio 1/3:** controllo del rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al fattore di rischio (qualora) individuato e ridurlo ove possibile.

Per la sicurezza dell'acqua sanitaria l'Azienda, al fine di ridurre il livello di rischio impiantistico, ha implementato ulteriori misure di prevenzione quali:

- installazione di ulteriori impianti di biossido di cloro, oltre quello installato nella cisterna di approvvigionamento centrale, in edifici ritenuti più a rischio;
- installazione di filtri antibatterici in punti terminali;
- frequenti flussaggi dei punti in disuso.

Tenuto conto, pertanto, dello storico della struttura, di precedenti casi di legionellosi ospedaliera e/o di isolamenti di *Legionella* dagli impianti idrici, il livello di rischio impiantistico rispetta le misure preventive necessarie a garantire la sicurezza.

Per gli impianti aeraulici si ritiene che il rischio sia complessivamente adeguato, tenuto conto del piano di manutenzione adottato e del persistere della negatività di isolamenti di *Legionella* dai filtri terminali assoluti delle UTA.

È comunque importante avere una situazione dettagliata degli impianti esistenti con schemi funzionali e schede tecniche degli impianti utilizzati per poter effettuare ulteriori interventi migliorativi.

IMPIANTI

ELENCO IMPIANTI BLOSSIDO DI CLORO

1. Impianto di produzione di biossido di cloro mod. Bioxyclo Hy – Locale Autoclave Generale potenzialità 100 gr/h circuito acqua fredda
2. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linee acqua fredda – Locale Autoclave Clinica Medica I – potenzialità 5gr/h
3. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linee acqua calda sanitaria Centrale Termica Clinica Medica I – potenzialità 5gr/h



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

4. Impianto di produzione di biossido di cloro mod. Bioxyclo Hy – Locale Autoclave U.O. Clinica Medica II – potenzialità 100 gr/h circuito acqua fredda
5. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linee acqua fredda – Locale Autoclave Clinica Medica e Chirurgica III – potenzialità 5 gr/h- circuito 1
6. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linee acqua calda – Centrale Termica Clinica Medica e Chirurgica III – Impianto 1 - potenzialità 5 gr/h- circuito 2
7. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linee acqua calda – Centrale Termica Clinica Medica e Chirurgica III – Impianto 2 - potenzialità 5 gr/h
8. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linea acqua fredda – Locale Autoclave U.O. Urologia – potenzialità 5 gr/h
9. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linee acqua calda –U.O. Chirurgia Plastica – potenzialità 5 gr/h
10. Impianto di produzione di biossido di cloro Grundfos Oxiperm Pro su linea acqua fredda – Locale Autoclave UU.OO. Radiologia-Odontoiatria-Neurochirurgia – potenzialità 5 gr/h
11. Impianto di produzione biossido di cloro Culligan linea acqua fredda presso EX IMI - mod. CDP installato nel 2018
12. Impianto di biossido stabilizzato Culligan linea acqua calda termica presso EX IMI impianto installato settembre 2020

ELENCO VASCHE DI ACCUMULO ACQUA E CAPACITÀ DI ACCUMULO:

Tabella 3

Istituti e Cliniche	Mc.
Clinica Medica I	55
Clinica Chirurgica III	135
Odontoiatria, Radiologia, Neurochirurgia	8
Clinica Ostetrica	128
Clinica Oculistica	87
Istituto di Igiene e Microbiologia	50
Clinica Urologica	26
Cliniche Otorino – Ortopedica	50
Clinica Neurologica	20
PS e Direzione Sanitaria	20
Istituto di Anatomia Umana	10
Istituto di Anatomia Patologica	15
Chirurgia Plastica	18
Clinica Chirurgica I	38
Istituto di Anestesia e Rianimazione	30
Cardiochirurgia	20
Medicina del Lavoro	26
Istituto Materno Infantile (ex ENAOLI)	30

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 26 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ELENCO ADDOLCITORI INSTALLATI:

- U.O. IGIENE: N° 1 bombola CASTAGNETTI mod. HCS 200EV - Testata Castagnetti
- U.O. ORTOPEDIA: N° 1 bombola 30l - Testata AUTOTROL 255 con programmatore Logix 760
- U.O. OTORINOLARINGOIATRIA: N° 1 bombola 30l - Testata AUTOTROL 255 con programmatore Logix 760
- U.O. OCULISTICA (Installato a Febbraio 2020) Cillit - Parat.78 Biodata Cyber

ELENCO IMPIANTI DI OSMOSI INVERSA:

- Impianto ad osmosi inversa a servizio del Centro Dialisi
- Impianto ad osmosi inversa a servizio delle sterilizzatrici dell'U.O. di cardiocirurgia e Chirurgia D'Urgenza



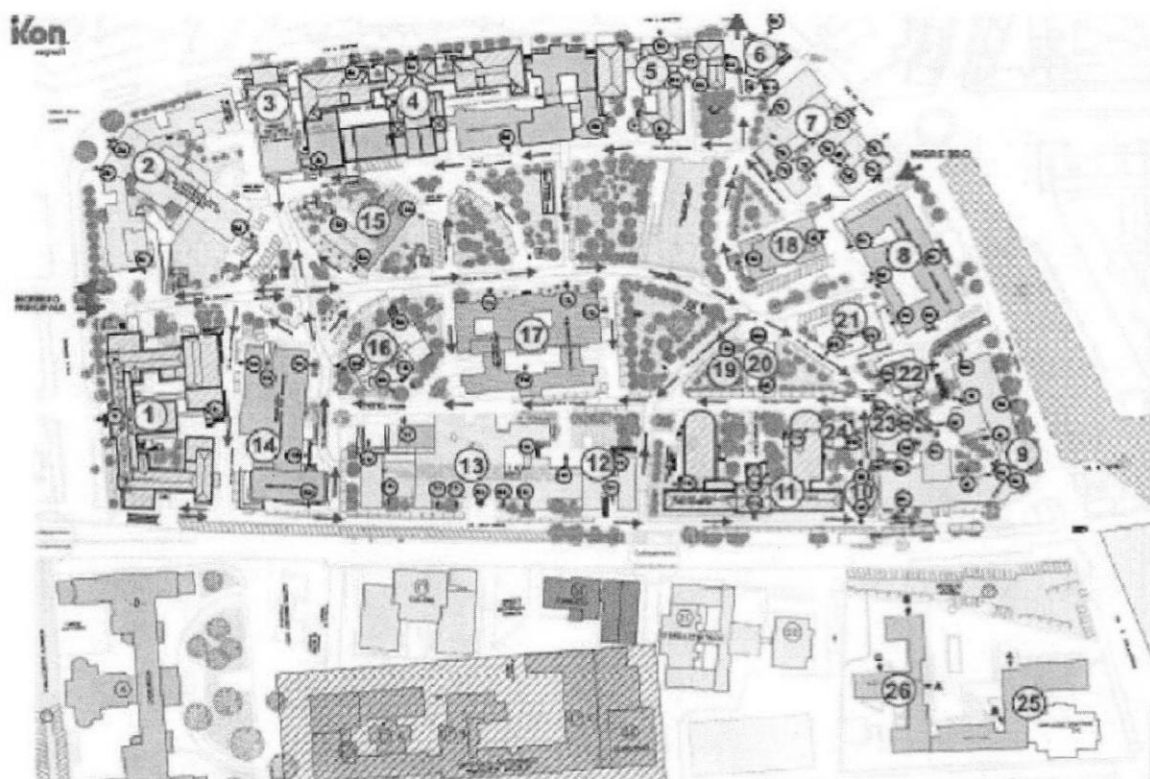
AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

DISLOCAZIONE DELLE UNITA' DI TRATTAMENTO ACQUA SANITARIA NELL' A.O.U.P.

In figura 15 è rappresentata la dislocazione delle unità di trattamento di produzione di biossido di cloro dell'acqua fredda sanitaria. Inoltre alcune unità di trattamento di biossido di cloro sono installate negli impianti di acqua calda ed in particolare nell'edificio 2, edificio 13 ed edificio 21. Altri due impianti di produzione di biossido, per l'acqua calda e fredda, sono installati presso il presidio ospedaliero di Villa Belmonte.



Legenda acqua fredda: edificio ⑧ (cisterna centrale), edificio ②, edificio 25, edificio ⑬, edificio ⑯, edificio ⑭
acqua calda: edificio ②, edificio ⑬, edificio 21

Figura 15

CLASSIFICAZIONE AREE OSPEDALIERE IN BASE AL LIVELLO DI RISCHIO

Le aree dell'A.O.U.P. sono state classificate dalla Direzione Sanitaria di Presidio e dalla U.O. Controllo Igiene Ospedaliera, in accordo con le Linee Guida del 2015, in tre livelli di rischio in relazione alla tipologia di pazienti assistiti:

- **Rischio Molto Elevato:** in pazienti profondamente immunodepressi, quali:

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 28 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



- pazienti sottoposti nel corso del ricovero a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche o a trapianto di organo solido.
- pazienti sottoposti a chemioterapia particolarmente immunodepressiva (ad es. per leucemia mielogenica acuta dell'infanzia).
- pazienti con granulocitopenia di lunga durata (PMN neutrofili $\leq 500/\text{mL}$).
- pazienti affetti da tumore sottoposti a chemioterapia preventiva e trattamento corticosteroidico ad alte dosi ($> 5 \text{ mg/kg}$ di prednisone per più di 5 giorni) o prolungato ($0,5 \text{ mg/kg}$ di prednisone per 30 giorni più o equivalenti).
- **Rischio Aumentato:** aree che ospitano pazienti caratterizzati dalla presenza di patologie croniche e fattori di rischio individuali che ne aumentano la suscettibilità alla legionellosi, quali:
 - abitudine al fumo
 - diabete mellito, scompenso cardiaco, BPCO, nefropatie
 - intervento chirurgico in anestesia generale
 - tumori maligni
 - infezione da HIV
 - trattamento con corticosteroidi, chemioterapia antitumorale, radioterapia, farmaci anti-TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) o altri immunosoppressivi, che, per durata e/o dosaggio dei farmaci, non è tale da indurre un'immunodepressione profonda
 - aumentare dell'età
 - etilismo cronico
 - tossicodipendenza per via venosa
- **Rischio Basso:** aree caratterizzate dalla presenza di pazienti ma senza aree di degenza, aree dove i pazienti transitano per brevi periodi e aree amministrative

Tabella 4

Livello di rischio	U.O.	Plesso	FAP
Rischio Molto Elevato	Chirurgia Generale ad indirizzo oncologico	10	
	Nefrologia e dialisi	10	
	Oncologia	10	
	Ematologia	10	X
	Malattie infettive e tropicali	4	
	Odontoiatria	13	
	Med. Orale con Odonto. Per Paz. Fragili	13	
	Otorinolaringoiatria	11	
	Pneumologia	3	



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Rischio Aumentato	Malattie endocrine, ricambio e nutrizione	1	
	Neonatologia e Nido	14	
	Ostetricia e Ginecologia a indirizzo oncologico	14	
	Chirurgia Pediatrica	14	
	Cardiochirurgia	2	
	Cardioanestesia e Terapia Intensiva Cardioracovascolare	2	
	Terapia Intensiva	2	
	Endoscopia	2	
	UTIC	10	
	Medicina Interna con Stroke Unit	1	
	Medicina Nucleare	1	
	Gastroenterologia	1	
	Reumatologia	1	
	Chirurgia Generale e d'Urgenza	2	
	Chirurgia Vascolare	2	
	Chirurgia Toracica	2	
	Chirurgia Plastica	6	
	Medicina Interna	23	
	Geriatrica e lungodegenza	23	
	Ortopedia	13	
	Neurochirurgia	13	
	Neurologia	11	
	Urologia	10	
	Cardiologia	10	
	Angiologia	10	
	Pronto Soccorso con OBI	8	
	Medicina interna e malattie rare	10	
	Astanteria – MCAU	10	
	Medicina interna e dislipidemia generiche	10	
	Chirurgia Andrologica	10	
	Breast Unit	10 – Villa Belmonte (ex I.M.I.)	
	Dermatologia	4	
Rischio Basso	Emodinamica	10	
	Recupero e riabilitazione funzionale	11	
	Audiologia	11	
	Radiologia e Neuroradiologia Interventistica	13	
	Senologia Diagnostica e Interventistica	13	
	Neuroradiologia	13	
	Psichiatria	24	
	Oculistica	Villa Belmonte (ex I.M.I.)	
	Medicina trasfusionale	9	
	CLADIBIOR	4	
	Microbiologia e Virologia	5	
	Medicina di Laboratorio	5	

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 30 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Epidemiologia Clinica con Registro Tumori	5	
Anatomia e Istologia Patologica	9	
Medicina Legale	9	
Diagnostica per immagini	13	
Radiologia d'urgenza	13	
Radioprotezione e fisica sanitaria	13	
Neurofisiopatologia	23	
Medicina del Lavoro	23	
Camera Iperbarica	2	
Neuropsichiatria infantile	14	
Facility Management	14	
Affari Generali	7	
Farmacia	21	
Diagnostica Autoptica	20	
Area Tecnica	20	
Ufficio Legale	24	
Area Econ. Finanz. E Patrimoniale	Via Enrico Toti	
Provveditorato	Via Enrico Toti	
Risorse Umane	Via Enrico Toti	

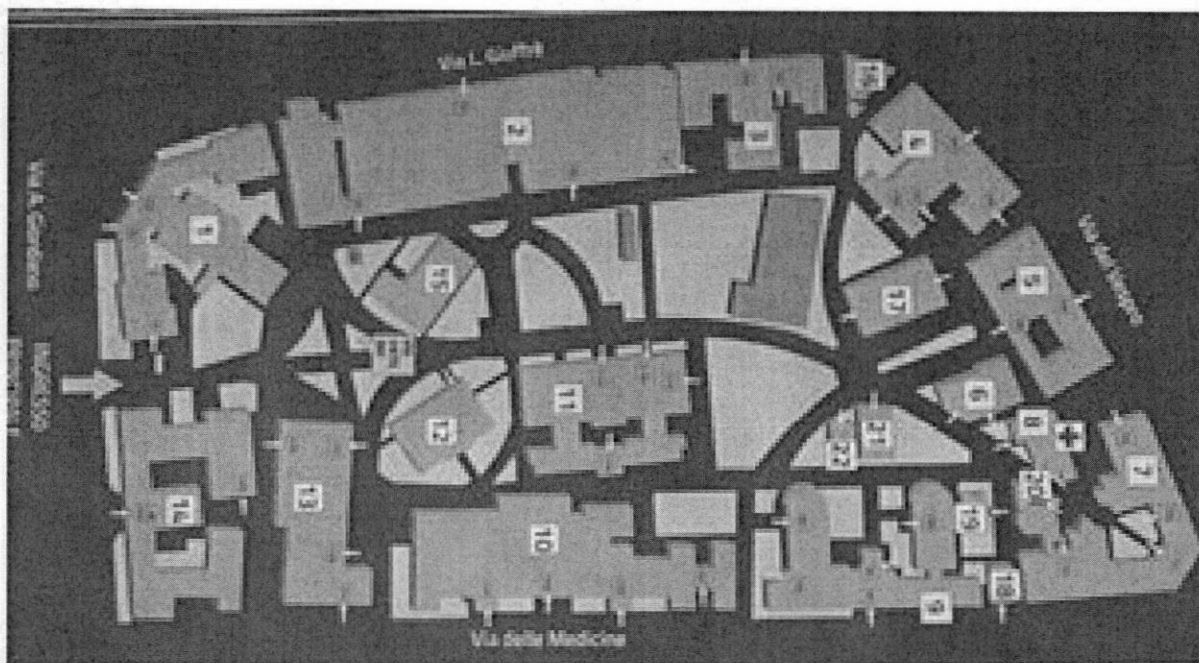


Figura 16



PROCEDURE ASSISTENZIALI A RISCHIO

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 il paziente alla possibilità di contrarre l'infezione da *Legionella* durante il periodo di ricovero nelle strutture sanitarie.

Di seguito il riepilogo di quelle procedure sanitarie/assistenziali che possono essere associate ad un rischio maggiore di contrarre legionellosi.

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 CO₂ e dei monitor della pressione dell'aria palloni per la rianimazione manuale
- Mandrini per intubazione sondini per aspirazione
- Sensori di temperatura.



RISCHIO ASSOCIATO AD ATTIVITÀ LAVORATIVA

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".

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, alla luce del più ridotto grado di suscettibilità all'infezione da parte di individui con sistema immunitario integro, si configura come poco probabile. Pertanto si configura un quadro in cui il paziente e l'operatore sanitario condividono lo stesso pericolo – stessi livelli espositivi al batterio della *Legionella* – ma con un livello di rischio di contrarre l'infezione del tutto diverso (anche fra le diverse tipologie di pazienti) e comunque, salvo particolari condizioni, trascurabile per gli operatori. Il programma delle azioni previste dalla valutazione del rischio clinico, tecnico, impiantistico e le conseguenti azioni di miglioramento, sono trasferibili e utilizzabili anche per la tutela dell'operatore sanitario.

Il rischio per gli operatori del 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. Una delle caratteristiche peculiari dell'acqua che alimenta la poltrona odontoiatrica, infatti, è quella di combinare la capacità di sviluppare rapidamente il biofilm con quella di generare aerosol potenzialmente contaminato.

Il rischio per addetti agli interventi di manutenzione, ispezione, controllo e campionamento

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*.

In relazione alla valutazione del rischio (v. Titolo X – D. Lgs 81/2008 e s.m.i.), vengono di seguito individuate tutte le misure di sicurezza di tipo collettivo ed i dispositivi di protezione individuale (DPI) appropriati per tale rischio, che il personale dell'azienda in servizio che opera nel settore odontoiatrico e gli operatori preposti alle attività di ispezione, manutenzione, controllo e campionamento ambientale devono avere per la tutela della propria salute 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.

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
--	--

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.

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.

PERIODICITÀ DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

La valutazione del rischio deve essere revisionata e documentata con periodicità annuale utilizzando il modello dell'Allegato 12 delle Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi. Deve inoltre essere ripetuta e aggiornata ogni qualvolta intervengano modifiche agli impianti, alla tipologia di pazienti assistiti e alla situazione epidemiologica.

GESTIONE DEL RISCHIO

La prevenzione delle infezioni da *Legionella* si basa essenzialmente:

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 34 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

- sulla corretta progettazione e realizzazione degli impianti tecnologici che comportano un riscaldamento dell'acqua e/o la sua nebulizzazione. Sono considerati impianti a rischio 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;
- Sull'adozione di misure preventive (es. manutenzione, disinfezione) atte a contrastare la moltiplicazione e la diffusione di *Legionella* negli impianti a rischio.

Per quanto le temperature non garantiscano che un sistema idrico o un suo componente sia privo di *Legionella*, esse contribuiscono a diminuire la probabilità di una contaminazione batterica grave.

Negli impianti dotati di rete di ricircolo la temperatura dell'acqua calda sanitaria:

- deve essere mantenuta $\geq 60^{\circ}\text{C}$ nei serbatoi di accumulo
- non deve essere $\leq 50^{\circ}\text{C}$ alla base di ciascuna colonna di ricircolo.

Mantenere la temperatura dell'acqua fredda < 20 ° C	efficace facile da monitorare assicura una crescita poco significativa della Legionella Difficile da applicabile nelle cisterne
Mantenere la temperatura dell'acqua calda > 50 ° C	efficace facile da monitorare richiede una protezione contro le scottature Difficile da mantenere in vecchi sistemi

Figura 17

L'allegato 5 riporta la scheda per il monitoraggio delle temperature.

CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DEL SISTEMA IDRICO

La disinfezione dell'acqua fredda sanitaria presso l'Azienda avviene tramite impianti di sanificazione ad immissione di biossido di cloro. Il ClO_2 viene prodotto in loco utilizzando un apposito generatore installato in prossimità del punto di immissione in rete. In linea generale ciascuna unità di trattamento è tarata su una concentrazione di ClO_2 in mandata tale da garantire un livello teorico $>0,2\text{ mg/L}$ al punto terminale.

Si riportano di seguito le principali misure di controllo adottate. Nei casi in cui tali misure non possano essere adottate immediatamente 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 un campionamento dell'acqua per la ricerca di *Legionella*.

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
--	--

Misure di controllo degli impianti idrici dell'AOUP	
Trattamento termico	Shock termico: innalzamento della temperatura di produzione dell' acqua calda sanitaria all' interno dei bollitori a 70-80°C per tre giorni consecutivi assicurando il suo deflusso da tutti i punti di erogazione per almeno 30 min al giorno. Disinfezione termica: mantenimento costante della temperatura a 65°C di produzione dell' acqua calda sanitaria all' interno dei bollitori e si inibisce la miscelazione con acqua fredda
Biossido di cloro	- disinfezione continua degli impianti di acqua sanitaria (concentrazioni consigliate 0,1-1,0 mg/L) - trattamento shock degli impianti di acqua sanitaria (concentrazioni comprese tra 5 e 10 mg/L per lavaggio temporaneo breve)
Ipoclorito di sodio	iperclorazione continua degli impianti di acqua sanitaria 1-3 mg/l in tutta la rete iperclorazione shock 20 mg/L per 2 ore oppure 50 mg/L per 1 ora in tutta la rete
Filtri al punto d'uso	La microfiltrazione consente la rimozione di <i>Legionella</i> dall' acqua in uscita al punto di utilizzo mediante l'impiego di una barriera meccanica (0,2 µm). - installati in reparti a rischio medio ed elevato quali ematologia, oncologia medica, Complessi Operatori e T.I.

Figura 18

Per la corretta procedura di esecuzione degli interventi di disinfezione si rimanda all' Allegato 13 delle Linee Guida del 2015, presente in allegato.

INTERVENTI DI PREVENZIONE, RIDUZIONE DEL RISCHIO E MANUTENZIONE ORDINARIA

Le attività di Manutenzione Ordinaria per la prevenzione del rischio *Legionella* devono intendersi come quelle attività da porre in essere in tutte le aree dell' A.O.U.P., a prescindere dalla valutazione del rischio.

La Manutenzione Ordinaria consiste in Manutenzione Preventiva e Correttiva.

A. La Manutenzione Preventiva

È composta dalla manutenzione programmata, ciclica e di opportunità, eseguita a intervalli predeterminati o in base a criteri prescritti, è volta a ridurre la probabilità di guasto o il degrado del funzionamento di un'entità (impianto e relativi componenti e sub componenti).

B. La Manutenzione correttiva o a guasto

Viene eseguita a seguito di un'avarìa ed è finalizzata a riportare l'impianto e i relativi componenti e sub componenti, nello stato in cui possa eseguire la funzione richiesta.

Per l'elenco dettagliato degli interventi di Manutenzione Ordinaria si rimanda al "Programma di Manutenzione" periodicamente redatto dall' Area Tecnica.

Per la schedulazione delle singole attività, da aggiornare semestralmente, si rimanda al "Programma Operativo degli Interventi" (POI) redatto dall' Area Tecnica.

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 36 di 102
Questo documento è di proprietà dell' A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

L'Area Tecnica è responsabile della corretta gestione, conduzione e manutenzione degli impianti idrici, di climatizzazione invernale e termici integrati e degli impianti di climatizzazione estiva.

Gli interventi da porre in essere per la riduzione del rischio, nell'ambito della routinaria attività programmata, sono:

- lavaggio chimico, disincrostazione e disinfezione dei rompi getto e dei soffioni doccia, con cadenza settimanale, con utilizzo di panno in microfibra e prodotto idoneo alla rimozione del calcare. Particolare attenzione a questa manovra deve essere posta nei rubinetti dotati di fotocellula (se presenti), vista la difficoltà di operare un adeguato flusso. Pertanto la contaminazione dovrà essere limitata attraverso una accurata pulizia, decalcificazione e disinfezione del rubinetto e di ogni elemento associato adesso. Tale attività va registrata attraverso apposito modulo cartaceo (All. 8);
- flusso di 3 minuti/settimana ACQUA CALDA dei soffioni delle docce e degli erogatori di TUTTI i terminali senza FAP/FAT durante lo svolgimento della pulizia giornaliera programmata e registrazione su apposito registro cartaceo con data, ora e firma dell'operatore che ha effettuato il servizio. Tale attività va registrata attraverso apposito modulo cartaceo (All. 9).

<i>Manutenzione dell'impianti idrici</i>	<i>Frequenza</i>
Decalcificazione dei tratti terminali	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. La frequenza del trattamento è usualmente in funzione delle caratteristiche dell'acqua
Sostituzioni giunti	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 l'usura degli elementi idraulici (controllo visivo bimestrale).
Sostituzioni/decalcificazioni rompi getto	
Sostituzioni docce	
Sostituzioni flessibili	

Figura 19

CONTROLLO

Ogni operazione di manutenzione deve essere opportunamente registrata e resa accessibile agli interessati. Il controllo dell'esecuzione delle attività schedate nel POI dovrà risultare da apposito documento mensile ("Verbale di Controllo"), che certifica la corretta esecuzione a regola d'arte e nel rispetto della normativa vigente delle attività e degli interventi di cui alle sezioni del POI.

Il Verbale di Controllo sarà costituito da due sezioni:

- la prima sezione, deve riportare tutti gli interventi di manutenzione ordinaria effettuata nel mese di riferimento, riportando eventuali annotazioni di carattere tecnico;

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 37 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



- la seconda sezione, deve riportare tutti gli interventi di manutenzione straordinaria o di riqualificazione energetica terminati nel mese di riferimento. In tale sezione deve essere riportato, per ogni intervento, il riferimento alla relativa "Scheda Consuntivo Intervento".

Il Verbale di Controllo deve essere reso disponibile dall'Area Tecnica a tutti gli interessati.

Le schede di registrazione degli interventi di flussaggio e pulizia dei terminali devono altresì essere mantenute in registro cartaceo presso le diverse unità operative e rese disponibili su richiesta degli interessati.

L'Area Tecnica è responsabile della verifica che le attività di manutenzione siano conformi a quanto previsto e che la documentazione inerente sia compilata correttamente e con le cadenze prestabilite. L'Area Tecnica deve, inoltre, verificare che le attività di manutenzione sul campo siano effettuate correttamente.

INTERVENTI ULTERIORI DI PREVENZIONE, RIDUZIONE DEL RISCHIO E MANUTENZIONE NELLE AREE A RISCHIO

Aree a Rischio Molto Elevato (RME):

- Attività di manutenzione ordinaria:
 - installazione di Filtri antibatterici micro filtranti permanenti (FAP) ai terminali di utilizzo accessibili ai pazienti (lavandini, bidet, soffioni doccia nelle stanze di degenza; lavelli aree filtro e operative). Nelle aree dotate di FAP l'Area Tecnica pianifica dei controlli a campione di verifica della loro efficacia, da effettuarsi a ridosso della scadenza del tempo di sostituzione del filtro stesso con cadenza almeno semestrale. Nelle aree RME senza FAP il campionamento di monitoraggio ambientale deve essere effettuato con cadenza trimestrale.
 - Messa in sicurezza dell'area mediante installazione di filtri antibatterici microfiltranti temporanei (FAT) al punto di utilizzo al rilievo di una concentrazione di *Legionella* >10.000 UFC/l nelle aree senza FAP.
 - Campionamenti microbiologici in vaschette di raccolta di condensa del "ventilconvettore sentinella" in ogni area a Rischio Molto Elevato nel periodo estivo.
 - Campionamenti microbiologici in vasche di raccolta di condensa dell' "U.T.A. sentinella" a servizio delle aree a Rischio Molto Elevato ogni due anni.
 - Sorveglianza epidemiologica legionellosi.
 - Iter diagnostico: Ricerca Ag urinario in tutti i casi di polmonite (sia comunitaria sia nosocomiale) + Ricerca IgM e IgG + ricerca colturale (quando previsto) + sierotipizzazione e tipizzazione molecolare (quando previsto)
- **Riuniti odontoiatrici:** 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
- disinfettare l'acqua con trattamenti in continuo o discontinui.

Per ridurre l'esposizione del paziente ad aerosol potenzialmente contaminati e/o minimizzare il rischio nei pazienti più vulnerabili si consiglia di:

- fluxare 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 ($\leq 0,2 \mu\text{m}$) in grado di trattenere i microrganismi provenienti dall'interno del circuito.

Il riscontro al controllo ambientale di una concentrazione di Legionella ai FAP ≥ 100 UFC/l richiede l'adozione di efficaci provvedimenti immediati descritti nella Tabella 10.

• Aree a Rischio Aumentato:

- Attività di manutenzione ordinaria
- Messa in sicurezza dell'area mediante installazione di filtri antibatterici microfiltranti temporanei (FAT) al punto di utilizzo al rilievo di una concentrazione di Legionella >10.000 UFC/l. I locali e i terminali di installazione sono gli stessi previsti per i FAP delle Aree a Rischio Molto Elevato.
- Sorveglianza epidemiologica legionellosi
- Iter diagnostico: Ricerca Ag urinario in tutti i casi di polmonite (sia comunitaria che nosocomiale) + Ricerca IgM e Ig G + ricerca colturale (quando previsto) + sierotipizzazione e tipizzazione molecolare (quando previsto)

Il riscontro al controllo ambientale di una concentrazione di Legionella >100 UFC/L richiede l'adozione di efficaci provvedimenti immediati descritti nella Tabella 11

• Aree a Rischio Basso:

- Attività di manutenzione ordinaria
- Sorveglianza epidemiologica legionellosi
- Iter diagnostico: ricerca Ag urinario in tutti i casi di polmonite (sia comunitaria che nosocomiale) + Ricerca IgM e Ig G + ricerca colturale (quando previsto) + sierotipizzazione e tipizzazione molecolare (quando previsto)

Il riscontro al controllo ambientale di una concentrazione di Legionella >100 UFC/L richiede l'adozione di efficaci provvedimenti immediati descritti nella Tabella 11

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
---	--

IDENTIFICAZIONE DEI PUNTI CRITICI DI CONTROLLO, PUNTI DI CAMPIONAMENTO E MONITORAGGIO AMBIENTALE IN AUTOCONTROLLO

L'identificazione dei punti di campionamento e dei punti critici di controllo per il rischio legionellosi è responsabilità dell'U.O. Controllo Igiene Ospedaliera sotto la supervisione della Direzione Sanitaria di Presidio e nel contesto del più ampio Piano di Campionamento Ambientale annuale. Tali punti vanno rivalutati annualmente nella revisione della valutazione del rischio o in corrispondenza di qualsiasi intervento strutturale che possa apportarne modifiche.

SORVEGLIANZA AMBIENTALE IN AUTOCONTROLLO

ACQUA FREDDA

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.

Per ciascun impianto di acqua fredda sanitaria devono essere eseguiti almeno i seguenti prelievi:

- fondo del serbatoio;
- almeno due punti rappresentativi (i più lontani nella distribuzione idrica).

Per i plessi con un numero di posti letto superiore a 150 si incrementa di un punto prelievo ogni 100 posti letto in più.

In tabella 5 è rappresentato il piano campionamento annuale dell'acqua fredda sanitaria.

Tabella 5

Punti di prelievo		Attività prevista	Frequenza
Cisterne di approvvigionamento	Punti terminali		
Vasca principale (Igiene)	Dermatologia	Osservazione del settaggio/determinazione disinfettante residuo	Semestrale
	Igiene		
	Malattie Infettive		
Clinica Oculistica (Pneumo Covid)	Clinica Oculistica (Pneumo Covid)		
Cardiochirurgia	Cardiochirurgia		
Dip. Chirurgia Generale	Ch. Generale e d'Urgenza		
	Ch. Vascolare		
Anestesia e Rianimazione	T.I. Polivalente		
DI.BI.MIS.	Medicina Interna e cardioangiologia		
	Reumatologia		
	Endocrinologia		
	Gastroenterologia		

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 40 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Radiologia e Odontoiatria	Radiologia Odontoiatria Neurochirurgia	Controllo temperatura +	
Ostetricia e Ginecologia	Ostetricia Ginecologia UTIN Chirurgia Pediatrica		
Urologia / Dialisi	Urologia Dialisi		
ORL + Ortopedia	ORL Ortopedia		
Chirurgia Oncologica	Chirurgia Oncologica Oncologia Medica Ematologia Astanteria Angiologia Cardiologia	Ricerca Legionella Pneumophila (se T > 23°C)	
Anatomia Patologica	Anatomia Patologica		
Chirurgia Plastica	Chirurgia Plastica		
Clinica Medica II	Neurologia Geriatria Medicina Interna (Covid) Psichiatria Medicina del Lavoro		
Pronto Soccorso	Pronto Soccorso Direzione Sanitaria		
Villa Belmonte (ex IMI)	Radiologia Oculistica		

ACQUA CALDA

Per ciascun impianto di acqua calda sanitaria devono essere eseguiti almeno i seguenti punti di prelievo:

- mandata
- ricircolo
- fondo del serbatoio,
- almeno tre punti terminali rappresentativi (i più lontani nella distribuzione idrica e i più freddi)

Per i padiglioni con un numero di posti letto superiore a 150, si incrementa di un punto prelievo ogni 100 posti letto in più.

I reparti che ospitano pazienti a rischio molto elevato devono avere impianti privi di *Legionella* e pertanto si installano ai punti terminali di tali reparti (Ematologia, T.I) filtri antibatterici. Il campionamento ambientale, per controllare l'assenza di colonizzazione, avviene con cadenza semestrale.

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 41 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.

 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO	Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi
---	---

Di seguito il piano campionamento dell'acqua calda "centralizzata e non (alimentata da scaldabagni)"

ACQUA CALDA CENTRALIZZATA

Tabella 6

Punti di prelievo		Attività prevista	Frequenza
Boilers Centralizzati	Punti terminali	Controllo temperatura + Ricerca Legionella Pneumophila (se T < 60°C)	Semestrale
Cardiochirurgia	T.I.		
	C.O.		
DI.BI.MIS.	Gastroenterologia		
	Endocrinologia		
ORL + Ortopedia	ORL		
	Ortopedia		
Urologia /dialisi	Piano interrato, piano terra, 1 e 2 piano		
	Dialisi		
Chirurgia Oncologica	Degenze 1 piano e C.O.		
Chirurgia Plastica	Degenze e C.O.		
Neurochirurgia	Degenze 3 piano e C.O.		
UTIN	T.I.		
Anestesia e Rianimazione	T.I.		
Dermatologia	Sala operatoria		
Villa Belmonte (ex IMI)	Radiologia		
	Oculistica		

ACQUA CALDA NON CENTRALIZZATA (scaldabagni)

Tabella 7

Punti di prelievo		Attività prevista	Frequenza
U.O. dotate di scaldabagno	Punti terminali	Controllo temperatura + Ricerca Legionella Pneumophila (se T < 60°C)	Semestrale
Cardiochirurgia	degenze		
DI.BI.MIS.	Degenze		
Oncologia medica	D.H.		
Ematologia	Degenze		
Medicina d'Urgenza	Degenze		
Cardioangiologia	Degenze/ambulatori		
Neurologia	Degenze		
Geriatrics	Degenze		

Data: 21/10/2022	Rev. 0	Pag. 42 di 102
Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.		



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Psichiatria	Degenze		
Medicina Interna	Degenze		
Ostetricia	Degenze		
Ginecologia	Degenze		
Chirurgia Pediatrica	Degenze		
Chirurgia Generale e d'Urgenza	Degenze		
Anestesia e rianimazione	T.I.		

ARIA

Tabella 8

Ambienti a ventilazione controllata:

Oculistica, Cardiochirurgia, Ch. Generale e d'Urgenza, Ostetricia e Ginecologia, Ch. Pediatrica, ORL, Ortopedia, Ch. Oncologica, Ch. Plastica, Neurochirurgia, Urologia, Emodinamica Camere bianche Farmacia, Terapia Intensiva Polivalente, T.I. Cardiochirurgica, T.I. Neonatale, M. Infettive, Laboratori U.O. Microbiologia, Dermatologia, SIMT

Punti di prelievo	Attività prevista	Frequenza	N. Ambienti
Sale Operatorie	Ricerca di Legionella Pneumophila	Semestrale	32
Terapie Intensive			5
C. Bianche			2
Cappe biologiche			6
Laboratorio classe III			1
Malattie Infettive			2

Tabella 9

Ambienti a ventilazione naturale:

T.I. Cardiologica, T. Sub-Intensiva Ematologica

Punti di prelievo	Attività prevista	Frequenza	N. Ambienti
T.I.	Ricerca di Legionella Pneumophila	Annuale	5



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

AZIONI CORRETTIVE IN RELAZIONE ALL'ESITO DEL CAMPIONAMENTO

Si riportano di seguito le azioni correttive da porre in essere in risposta al risultato del campionamento ambientale, sia esso eseguito in regime di autocontrollo che in risposta all'attivazione del percorso di risposta alla diagnosi di un caso di legionellosi; tali azioni correttive vengono intraprese in relazione alla concentrazione di *Legionella* riscontrata, alla percentuale di punti di campionamento risultati positivi e all'eventuale presenza di casi di legionellosi diagnosticati, in accordo con le linee guida ministeriali.

Per le **Aree a Rischio Molto Elevato** che presentano F.A.P. ai terminali si applicano i seguenti criteri.

Tabella 10

Legionella (UFC/L)	Intervento
< 100	Nessuno
≥ 100	➤ Divieto immediato di utilizzo dell'acqua di rete per docce, abluzioni, pratiche assistenziali che possano generare aerosol nell'area coinvolta ➤ Sostituzione immediata dei FAP dell'area coinvolta* ➤ Sorveglianza clinica nei 10 gg successivi dei pazienti ricoverati nell'area coinvolta ➤ Ricampionamento

* Il FAP (DM classe IIB – Dispositivi per la disinfezione) su cui è stato effettuato il campionamento deve essere prelevato e inserito in un sacchetto di plastica sterile per le analisi di Laboratorio e le verifiche di integrità a cura del Produttore / Distributore



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Per le altre aree ospedaliere (aree a rischio aumentato e aree a basso rischio) si applicano i seguenti criteri:

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 un'aumentata sorveglianza clinica, 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.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Dopo gli interventi di bonifica sopra descritti, l'impianto deve essere ricampionato negli stessi erogatori risultati positivi secondo la seguente tempistica:

- 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 o secondo quanto previsto dal relativo Piano di controllo 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.

Per la corretta procedura di esecuzione degli interventi di disinfezione si rimanda all'Allegato 13 delle Linee Guida del 2015, presente in allegato.

IMPIANTI DI RAFFREDDAMENTO A TORRI EVAPORATIVE O 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 o 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

Figura 20



GESTIONE DEGLI EROGATORI E DEI DISPOSITIVI MEDICI PER LA SOMMINISTRAZIONE DI OSSIGENO

Gli strumenti impiegati sulle vie respiratorie sono potenziali serbatoi o veicoli di microrganismi infettanti. Appurato che la contaminazione delle apparecchiature per la terapia inalante e ventilatoria riveste un ruolo eziologicamente decisivo nell'incidenza di polmoniti ospedaliere, risulta quindi indispensabile un rigido programma di disinfezione e sterilizzazione di tali presidi per la prevenzione delle polmoniti nosocomiali. Si schematizza in figura 21 un esempio di gestione degli umidificatori per ossigeno terapia.

Presidi medici	procedure di bonifica
BLOCCO DI EROGAZIONE/ FLUSSIMETRO Insieme di parti meccaniche che consente il passaggio dell'O ₂ dall'impianto di erogazione fino al flussimetro (dispositivo che garantisce il flusso di O ₂ prescritto)	Il Blocco di erogazione ed il flussimetro debbono essere decontaminati dopo l'utilizzo avvenuto per ogni singolo paziente subito dopo aver rimosso il gorgogliatore. (Detergente e disinfettante)
GORGOGLIATORI MONOUSO Sono quelli attualmente in uso. Contenitori in materiale plastico preriempiti con acqua distillata sterile, muniti di un collo con filettatura per la connessione al raccordo adattatore a doppia vite che deve essere collegato al flussimetro. Il contenitore ha una bocchetta con tappo sigillato da rimuovere a strappo, cui connettere il tubo di raccordo per la mascherina o gli occhiali per O ₂ .	Il gorgogliatore preriempito deve essere montato esclusivamente al momento dell'uso per garantire l'utilizzo mono-paziente. Dopo l'istallazione segnalare sul gorgogliatore, nell'apposito spazio, data e ora di montaggio. I gorgogliatori monouso/mono-paziente di norma debbono essere sostituiti quando termina l'acqua sterile. Se l'erogazione di O ₂ è intermittente il gorgogliatore può essere mantenuto in sede (sempre per lo stesso paziente) fino ad un massimo di trenta giorni. Nelle UO di Terapia Intensiva o in caso di pazienti immunodepressi o con patologie delle basse vie respiratorie è opportuno procedere alla sostituzione dei gorgogliatori monouso ogni 24 ore.
GORGOGLIATORI PLURIUSO contenitore in plastica trasparente con filettatura e tappo a vite con asticella erogatrice	In assenza di fornitura o in caso di temporanea carenza di gorgogliatori monouso si ricorre ai gorgogliatori pluriuso attenendosi alle seguenti indicazioni: - Prima di procedere all'inserimento del gorgogliatore lavarsi le mani o frizionarle con il gel idroalcolico - Per garantire l'uso mono-paziente il gorgogliatore pluriuso deve essere montato VUOTO e allestito con acqua sterile solo al momento dell'utilizzo. Il quantitativo di acqua sterile da inserire con tecnica asettica è in media di 100 ml - I gorgogliatori pluriuso debbono essere sostituiti ad ogni cambio di paziente. - In caso di reparti e/o pazienti a basso rischio, qualora il paziente necessiti di somministrazione di O ₂ TH per periodi protratti, occorrerà sostituire il gorgogliatore ogni sette giorni. - Nelle UO Intensive o per pazienti con patologie delle vie respiratorie, o con ridotte difese immunitarie o con sospette/condaminate malattie infettive il gorgogliatore andrà sostituito ogni 24 ore - Al termine dell'utilizzo i gorgogliatori debbono essere rimossi e smontati (tappo a vite, asticella, contenitore), decontaminati con detergente/disinfettante ad alto livello, sciacquati accuratamente, asciugati con panno carta e riposti in luogo asciutto e riparato - E' NECESSARIO GARANTIRE L'ASSENZA DI UMIDITA' RESIDUA NEL CONTENITORE che dovrà essere lasciato separato dall'asticella e dal tappo a vite fino al momento dell'utilizzo
DISPOSITIVI PER SOMMINISTRAZIONE O₂ Tubi di raccordo, Maschera di Venturi, Occhiali per O ₂	Questi dispositivi sono da considerarsi mono-utente. Per lo stesso paziente sostituire il dispositivo ogni 24 h nei reparti a rischio e/o in pazienti con infezione delle basse vie respiratorie o con ridotte difese immunitarie. Per tutti gli altri pazienti/reparti effettuare la sostituzione del dispositivo ogni 7 giorni o nel caso in cui appaiano visibilmente sporchi.

Figura 21



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

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 a 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 associate alle pratiche assistenziali;
- comunicare formalmente ai reparti gli esiti della valutazione del rischio, compresa quella effettuata a seguito di casi nosocomiali;
- garantire la tracciabilità delle attività svolte attraverso adeguate registrazioni.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATI

ALLEGATO 1: SPECIE E SIEROGRUPPI DI LEGIONELLA (L.G. 2015)

ALLEGATO 2: RICERCA DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI ORIGINE UMANA (L.G. 2015)

ALLEGATO 3: CAMPIONAMENTO DI MATRICI AMBIENTALI PER LA RICERCA DI
LEGIONELLA (L.G. 2015)

ALLEGATO 4: RICERCA E QUANTIFICAZIONE DI LEGIONELLA IN CAMPIONI
AMBIENTALI (L.G. 2015)

ALLEGATO 5: SCHEDA MONITORAGGIO PARAMETRI CHIMICI E FISICI

ALLEGATO 6: SCHEDA DI DENUNCIA OBBLIGATORIA DI MALATTIA INFETTIVA

ALLEGATO 7: REVISIONE CIRCOLARE 400.2/9/5708 DEL 29/12/93 (SCHEDA DI
SORVEGLIANZA DELLA LEGIONELLOSI) (L.G. 2015)

ALLEGATO 8: SCHEDA TRACCIABILITA' INTERVENTO PULIZIA-DISINCROSTAZIONE
SETTIMANALE SOFFIONI DOCCE E TERMINALI senza filtro assoluto

ALLEGATO 9: SCHEDA TRACCIABILITA' INTERVENTO FLUSSAGGIO SETTIMANALE
ACQUA CALDA SOFFIONI DOCCE E TERMINALI senza filtro assoluto

ALLEGATO 10: LISTA DI CONTROLLO PER IL SOPRALLUOGO DI VALUTAZIONE DEL
RISCHIO LEGIONELLOSI (L.G. 2015)

ALLEGATO 11: METODI DI PREVENZIONE E CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DEL
SISTEMA IDRICO



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATO 1: SPECIE E SIEROGRUPPI DI LEGIONELLA

Legionella species	Siero gruppi	Associazione con casi clinici	Riferimenti bibliografici
1. <i>L. adelaidensis</i>		Non noto	Benson et al., 1991;
2. <i>L. anisa</i>		Si	Gorman <i>et al.</i> 1985
3. <i>L. beliardensis</i>		Non noto	Lo Presti et al., 2000
4. <i>L. birminghamensis</i>		Si	Wilkinson et al., 1988;
5. <i>L. bozemanii</i>	2	Si	Brenner DJ et al., 1980; Tang W.P. et al., 1984;
6. <i>L. brunetti</i>		Non noto	Wilkinson et al., 1988
7. <i>L. busanensis</i>		Non noto	Park et al., 2003
8. <i>L. cardiaca</i>		Si	Pearce et al., 2012
9. <i>L. cherii</i>		Non noto	Brenner et al., 1985;
10. <i>L. cincinnatiensis</i>		Si	Thacker <i>et al.</i> 1988,
11. <i>L. drancourtii</i>		Non noto	La Scola et al., 2004
12. <i>L. dresdenensis</i>		Non noto	Lückel <i>et al.</i> 2010, sp. nov
13. <i>L. drozanskii</i>		Non noto	Adeleke et al., 2001
14. <i>L. dumoffii</i>		Si	Brenner <i>et al.</i> 1980
15. <i>L. erythra</i>	2	Si	Brenner <i>et al.</i> 1985
16. <i>L. fairfieldensis</i>		Non noto	Thacker et al., 1991
17. <i>L. fallonii</i>		Non noto	Adeleke et al., 2001
18. <i>L. feeleeii</i>		Si	Herwaldt et al., 1984
19. <i>L. geestiana</i>		Non noto	Dennis et al., 1993
20. <i>L. gormanii</i>		Si	Morris <i>et al.</i> 1980
21. <i>L. gratiana</i>		Non noto	Bomstein et al., 1989b
22. <i>L. gresilensis</i>		Non noto	Lo Presti et al., 2001
23. <i>L. hackeliae</i>	2	Si	Brenner et al., 1985
24. <i>L. impletisoli</i>		Non noto	Kurokiet <i>et al.</i> 2007, sp. nov.
25. <i>L. israelensis</i>		Non noto	Bercovier et al., 1986;
26. <i>L. jamestowniensis</i>		Non noto	Brenner et al., 1985
27. <i>L. jordanis</i>		Si	Cherry et al., 1982
28. <i>L. lansingensis</i>		Si	Thacker et al., 1992
29. <i>L. londiniensis</i>	2	Non noto	Dennis et al., 1993
30. <i>L. longbeachae</i>	2	Si	McKinney et al., 1981
31. <i>L. lytica (comb. nov.)</i>		Non noto	Drozanski 1991; Hookey <i>et al.</i> 1996,
32. <i>L. maceachernii</i>		Si	Brenner et al., 1985;
33. <i>L. massiliensis</i>		Non noto	Campocasso et al., 2012
34. <i>L. micdadei</i>		Si	Hebert et al., 1980
35. <i>L. moravica</i>		Non noto	Wilkinson et al., 1988
36. <i>L. nagasakiensis</i>		Si	Yang et al., 2012
37. <i>L. nautarum</i>		Non noto	Dennis et al., 1993
38. <i>L. oakridgensis</i>		Si	Orison et al., 1983;
39. <i>L. parisiensis</i>		Si	Brenner et al. 1985
40. <i>L. pittsburghensis</i>		Si	Pasculle et al. 1980, sp. nov.
41. <i>L. pneumophila</i>	16	Si	Brenner et al., 1985
42. <i>L. pneumophila subsp. fraseri</i>		Si	Brenner et al. 1989, subsp. nov.
43. <i>L. pneumophila subsp. pascullei</i>		Si	Brenner et al. 1989, subsp. nov
44. <i>L. Pneumophila subsp. pneumophila</i>		Si	Brenner et al. 1979, subsp. nov.
45. <i>L. quateirensis</i>		Non noto	Dennis et al., 1993
46. <i>L. quinlivanii</i>	2	Non noto	Benson et al., 1989
47. <i>L. rowbothamii</i>		Non noto	Adeleke et al., 2001
48. <i>L. rubrilucens</i>		Non noto	Brenner et al., 1985



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

49. <i>L. saintelensis</i>	2	Si	Campbell et al., 1984
50. <i>L. santicrucis</i>		Non noto	Brenner et al., 1985
51. <i>L. shakespearei</i>		Non noto	Verna et al., 1992
52. <i>L. spiritensis</i>	2	Non noto	Brenner et al., 1985
53. <i>L. steelei</i>		Si	Edelstein et al., 2012
54. <i>L. steigerwaltii</i>		Non noto	Brenner et al., 1985
55. <i>L. taurinensis</i>		Non noto	Lo Presti et al., 1999
56. <i>L. tunisiensis</i>		Non noto	Campocasso et al., 2012
57. <i>L. tusconensis</i>		Si	Thacker et al., 1989
58. <i>L. wadsworthii</i>		Si	Edelstein, 1982a
59. <i>L. waltersii</i>		Non noto	Benson et al., 1996b
60. <i>L. worsleiensis</i>		Non noto	Dennis et al., 1993
61. <i>L. yabuuchiae</i>		Non noto	Kuroki et al. 2007



ALLEGATO 2: RICERCA DI LEGIONELLA IN CAMPIONI DI ORIGINE UMANA

Misure di sicurezza

Legionella è un microrganismo appartenente al gruppo 2 di rischio come indicato nel Titolo X del D. Lgs n. 81 del 9 Aprile 2008 e successive modifiche ed integrazioni (s.m.i.), i campioni in cui essa può essere presente, devono essere maneggiati da personale esperto operando con appropriati dispositivi di protezione individuale (maschere, guanti, occhiali; vedi caratteristiche nel paragrafo DPI del capitolo "Rischio di esposizione professionale") e in laboratori adeguatamente attrezzati e dotati di cappe Biohazard di classe II con certificazione di conformità alla norma tecnica EN 12469 (D. Lgs 81/2008 e s.m.i., Linee guida recanti indicazioni ai laboratori con attività di diagnosi microbiologica e controllo ambientale della legionellosi G.U. N. 29 del 5 febbraio 2005).

In aggiunta alla protezione individuale l'operatore, durante l'esecuzione della prova, deve prestare la massima attenzione a mantenere le condizioni di sterilità del campione eliminando qualsiasi possibilità di contaminazione con eventuali altri campioni o con l'ambiente.

Prelievo, trasporto e conservazione

Legionella può essere ricercata nel materiale proveniente dall'apparato respiratorio, espettorato e/o sputo, broncoaspirato, broncolavaggio, nell'essudato pleurico e pericardico e nel parenchima polmonare. Nella raccolta di questi campioni è importante evitare qualsiasi contaminazione con l'ambiente (soprattutto acqua non sterile) per prevenire falsi positivi. Tutti i campioni devono essere raccolti in contenitori sterili con tappo a vite possibilmente idonei per la centrifugazione. Quando necessario, al fine di evitare l'essiccamento dei materiali, aggiungere al campione 1-2 mL di acqua distillata sterile. Questa procedura limita l'azione di sostanze inibenti verso *Legionella* contenute in tali campioni. Non utilizzare soluzioni saline (es. soluzione fisiologica) che possono produrre un effetto inibitore su *Legionella*. Il clinico che effettuerà il broncolavaggio deve essere informato che è preferibile utilizzare acqua distillata sterile o scarse quantità di soluzione salina.

Per quanto riguarda il prelievo di tessuto polmonare durante un'autopsia, si raccomanda per evitare contaminazioni, l'uso di ferri chirurgici sterili e che il campione non venga assolutamente in contatto con acqua di rubinetto, bensì, se necessario con acqua distillata sterile.

Il patologo quindi dovrebbe selezionare quelle aree con maggior necrosi facendo campionamenti a partire dai lobi superiori e successivamente negli, inferiori e mediani. I campioni prelevati devono essere raccolti in contenitori di plastica sterili.

Il tempo che intercorre tra il decesso del paziente e il prelievo di tessuto polmonare deve essere estremamente limitato e non dovrebbe superare le 48h. *Legionella* infatti è un microrganismo aerobio e, l'assenza di ossigeno, che inizia ad essere consistente dopo 2 giorni dal decesso, può contribuire alla perdita di vitalità del germe. E' descritto infatti che quando vengono analizzati campioni di questo tipo, devono essere appena prelevati (CDC, Hospital laboratory diagnosis of *Legionella* infections. 1987), sia per quanto sopra esposto, sia per evitare l'azione di sostanze inibenti e/o la moltiplicazione di altri microrganismi interferenti.



Non è necessario l'impiego di terreni di trasporto. I campioni devono essere trasportati in laboratorio ed esaminati nel più breve tempo possibile. Se si prevede un tempo superiore a 30 min, mantenere il campione refrigerato ($+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$) e analizzarlo entro 3 giorni. Se possibile evitare il congelamento e se necessario effettuarlo temperatura $\leq -70 \pm 10^{\circ}\text{C}$.

I campioni provenienti da un prelievo effettuato a seguito di un'autopsia, se non analizzati entro il giorno stesso del prelievo devono essere congelati a $\leq -70 \pm 10^{\circ}\text{C}$.

Metodo colturale

Strumenti, materiali, terreni e reagenti

- ✓ Frigorifero in grado di mantenere una temperatura di $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$
- ✓ Termostato regolabile alla temperatura di $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ in cui alla base è stata posta una vaschetta con acqua distillata sterile (rimboccata periodicamente quando si osserva scendere il livello) per garantire l'umidità. La presenza di CO_2 al 2,5% è utile per la crescita di alcune legionelle, ma non è essenziale;
- ✓ Centrifuga in grado di arrivare a $3000 \pm 100 \text{ g}$;
- ✓ Micropipette 100 - 1000 μL e relativi puntali sterili, pipette sterili;
- ✓ Fluidificante a base di dithiothreitol (preparazioni commerciali);
- ✓ Piastre BCYE agar e BCYE agar con aggiunta di supplemento selettivo (MWY, GVPC, ecc.); per la preparazione dei terreni vedi norma di riferimento allegato 5;
- ✓ Acqua distillata sterile;
- ✓ Spatole ad "L" monouso sterili;
- ✓ Nel caso in cui si debbano analizzare frammenti di tessuti fornirsi anche di omogeneizzatore Potter a pestello (con capacità di 5-10 mL);
- ✓ Pinze e Bisturi sterili;
- ✓ Piastre Petri sterili;
- ✓ Congelatore $\leq -70 \pm 10^{\circ}\text{C}$.

Procedimento

Secrezioni respiratorie (escreato, bronco lavaggio, tracheoaspirato), fluido pleurico, drenaggio toracico, ecc.

L'escreato ed il tessuto polmonare contengono sostanze inibenti lo sviluppo di *Legionella*. Pertanto, se non sono stati diluiti al momento del prelievo, è opportuno diluire i campioni in una piccola quantità (500-1000 μL) di acqua distillata sterile oppure in brodo preferibilmente non contenente NaCl. Se l'espettorato è molto denso, deve essere risospeso con 200-1000 μL di fluidificante a base di dithiothreitol (disponibile in commercio).

E' consigliabile centrifugare i campioni, diluiti e non, per concentrare le legionelle in essi eventualmente contenute ($3000 \pm 100 \text{ g}$ per 15 min). Allo stesso modo anche le emocolture e l'omogenato di tessuto polmonare o altri campioni organici sottoposti ad analisi possono essere concentrati per centrifugazione.

I campioni dovranno essere in parte trattati a 50°C per 30 min per eliminare interferenza nella moltiplicazione di *Legionella* causata da altra flora microbica eventualmente presente.



Oppure, in alternativa, potranno essere trattati diluendoli 1:10 con una soluzione tamponata di HCl-KCl a pH 2,2¹, e mantenendoli a temperatura ambiente per 5 min.

Inoculare 0,1 mL e 0,25 mL dei campioni trattati e non trattati distribuendo il campione con una spatola sterile su 2 o più piastre di BCYE agar e due o più di BCYE agar selettivo (GVPC, MWY) (N.B. Maggiore è il numero di piastre inoculate più alta sarà la probabilità di recuperare *Legionella* dal campione).

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

Esaminare giornalmente ed eliminare una piastra come negativa solo dopo almeno 10 giorni di incubazione. La crescita dopo 3 giorni di colonie bianco-grigie può far sospettare la presenza di *Legionella* nel campione in esame. Procedere con gli opportuni test identificativi per *Legionella* (Allegato 5).

Tessuti (polmonare, renale, ecc.)

1. Prima di omogeneizzare il frammento di tessuto, prenderlo con una pinza sterile e strisciarlo su una piastra di terreno selettivo e non selettivo;
2. Porre il tessuto su una piastra Petri sterile;
3. Dopo aver selezionato una porzione di tessuto densa grigia o rossastra, tagliare una piccola sezione (più grande possibile, ma in grado di essere contenuta nell'omogeneizzatore) aiutandosi con le pinze e bisturi sterili;
4. Trasferire il campione con le pinze all'interno di un omogeneizzatore Potter;
5. Aggiungere 500 -1000 µL di acqua distillata sterile;
6. Omogeneizzare il tessuto con il pistone;
7. Prelevare metà della sospensione e trattarla per 30 min a 50 °C;
8. Inoculare 100 e 250 µL su una o più piastre di BCYE sia del campione non trattato che trattato al calore che del non trattato, distribuendo il campione sulla piastra con una spatola;
9. Incubare per 10 gg circa osservando le piastre quotidianamente.

Le colonie di *Legionella*, se presenti nel campione, saranno visibili mediamente dopo un periodo ≥ a 3 giorni in qual caso si procede con gli opportuni test identificativi (Allegato 5).

Immunofluorescenza diretta (DFA)

I campioni clinici da analizzare possono essere freschi o congelati di recente provenienti da secrezioni respiratorie o da tessuti polmonare, renale, ecc..

Strumenti, materiali e reagenti

- ✓ Microscopio ottico per osservazione in fluorescenza corredato di obiettivo 25x e possibilmente 50x;
- ✓ Incubatore a 36±1°C;
- ✓ Omogeneizzatore a pestello Potter (con provette di capacità 5-10 mL);
- ✓ Pinze sterili;
- ✓ Bisturi sterili;
- ✓ Piastre Petri sterili;
- ✓ Micropipette, 20, 200, 1000 µL e relativi puntali sterili;

¹ Soluzione tamponata a pH 2,2: 3,9 mL di HCl 0,2 M + 25 ml di KCl 0,2 M, aggiustare a pH 2,2 con KOH 1 M, sterilizzare per filtrazione oppure in autoclave a 121°C per 15 min.



- ✓ Pipette monouso sterili 1-2 mL;
- ✓ Bruciatore Bunsen;
- ✓ Vaschette portavetrini
- ✓ Vetrini per osservazione in immunofluorescenza (fondo scuro, pozzetti diametro 5 mm) o quelli forniti in genere dai kit (pozzetto diametro 15 mm);
- ✓ Vetrini coprioggetto;
- ✓ Carta bibula;
- ✓ Camera umidificata (piastra Petri o altra scatola di plastica con all'interno carta bibula bagnata con acqua distillata);
- ✓ Olio per immersione;
- ✓ Reagente per *Legionella pneumophila* (anticorpo monoclonale marcato con Isotiocianato di Fluoresceina (FITC), in grado di identificare tutti i sierogruppi di *Legionella pneumophila*);
- ✓ Sospensione antigenica di controllo positivo (*Legionella pneumophila*) fornita solitamente nel kit commerciale;
- ✓ Sospensione antigenica di controllo negativo (*E.coli* ATCC n 25922 o altro ceppo identificato in laboratorio come *E.coli*);
- ✓ Acqua distillata sterile;
- ✓ Liquido di montaggio;
- ✓ Formalina 10%;
- ✓ Fluidificante a base di dithiothreitol (disponibile in commercio).

Procedimento

Tessuti (polmonare, renale, ecc.)

- ✓ Pulire il vetrino e scrivere con una matita, il nome identificativo del campione,
- ✓ Seguire quanto indicato ai punti da 2 a 6 nella sezione Metodo Culturale al paragrafo Tessuti Dopo aver risospeso bene il campione si prelevano 4 µL e si stratificano su almeno tre pozzetti di un vetrino per immunofluorescenza, altri 4 µL vengono stratificati e poi aspirati (per avere una minore quantità di tessuto). Se si usano i vetrini del kit eseguire uno striscio all'interno del pozzetto con un bastoncino sterile;
- ✓ Lasciare asciugare i vetrini all'aria;
- ✓ Passare alla fiamma di un bruciatore Bunsen per due volte tenendo il vetrino con la pinza;
- ✓ Mettere su ogni pozzetto 5 µL di formalina al 10% in PBS (oppure coprire con formalina 10% se si usano i vetrini del kit);
- ✓ Lasciare agire per 10 min;
- ✓ Sciacquare con acqua distillata sterile per drenare la formalina;
- ✓ Immergere il vetrino nella stessa soluzione per 2±1 minuti in vaschetta porta vetrini contenente acqua distillata;
- ✓ Lasciare asciugare il vetrino all'aria o tamponarlo delicatamente tra due fogli di carta bibula;
- ✓ Aggiungere 4 µL anticorpo anti *Legionella pneumophila* coniugato con FITC (se si usano i vetrini con pozzetto di diametro 5 mm) o una-due gocce se si usano i vetrini di 15mm;
- ✓ Incubare a 37°C in camera umida per 30 minuti;
- ✓ Passare sul vetrino PBS 1x ed immergere il vetrino nella stessa soluzione per 5' in vaschetta porta vetrini;
- ✓ Asciugare delicatamente tra due fogli di carta bibula;



- ✓ Far cadere con una pipetta sul vetrino 2-3 gocce di liquido di montaggio;
- ✓ Appoggiare il vetrino copri oggetto;
- ✓ Osservare al microscopio a fluorescenza con obiettivo 25x o 50x ad immersione.

Secrezioni respiratorie (escreato, bronco lavaggio, tracheoaspirato), fluido pleurico, drenaggio toracico, ecc.

Se l'escreato si presenta denso può essere eventualmente fluidificato con 200-1000 µL di fluidificante a base di dithiothreitol (disponibile in commercio).

Poiché in questi campioni le legionelle sono usualmente presenti in basse concentrazioni è importante sottoporli a centrifugazione a 3000±100 g per 15 min.

Risospendere il sedimento in acqua distillata sterile ad 1/10 del volume;

Strisciare una piccola quantità del sedimento sul pozzetto ricoprendolo totalmente;

Seguire poi i punti indicati sopra indicati nel paragrafo Tessuti.

Controllo Positivo

- ✓ Pulire ed etichettare un vetrino per microscopio a fluorescenza (questo vetrino deve essere analizzato separatamente da quello dei campioni del paziente) ed incubarlo in una camera umida dedicata;
- ✓ Agitare il flacone contenente la sospensione antigenica di controllo positivo;
- ✓ Poggiare 1-2 gocce di sospensione in un pozzetto del vetrino (o 5 µL se si usano vetrini con pozzetto dal diametro di 5 mm);
- ✓ Aspirare il liquido mediante una pipetta;
- ✓ Lasciare asciugare all'aria, quindi fissare al calore il campione facendo passare per due volte rapidamente il campione attraverso la fiamma del bruciatore Bunsen;
- ✓ Sciacquare con PBS 1x ed immergere nella stessa soluzione per 5';
- ✓ Colorare con anticorpo coniugato con FITC e procedere come per il campione.

Controllo negativo

- ✓ Usare una coltura di *E. coli* (in genere fornita dal kit);
- ✓ Pulire ed etichettare un vetrino per microscopio a fluorescenza;
- ✓ Se non fornita dal kit preparare una sospensione batterica in formalina 10% pari circa ad uno standard Mac Farland 1;
- ✓ Lasciare agire per 10 minuti;
- ✓ Colorare con anticorpo coniugato con FITC e procedere come per il campione.

Risultati

L'osservazione al microscopio a fluorescenza in obiettivo 25X o 50X di batteri in forma di bacilli colorati verde mela indica la presenza di *Legionella pneumophila*:

- più di 5 batteri fluorescenti per vetrino a due pozzetti: test positivo.
- 1-5 batteri fluorescenti per vetrino a due pozzetti: riportare il numero di cellule colorate se possibile richiedere un secondo campione; confermare con la coltura.
- nessun batterio fluorescente rilevabile: test negativo.

Preparazione dei reagenti

• PBS 10X

Idrogeno fosfato di disodio (Na ₂ HPO ₄)	12,36g
(oppure Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O)	15,50g
Sodio fosfato monoidrato (NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O)	1,80g
Cloruro di Sodio (NaCl)	85,00g

Portare ad un litro con H₂O distillata;

La soluzione di lavoro è PBS 1X (0,01 M pH 7,6)



• **Liquido di Montaggio**

Soluzione tampone 0,5 M pH 9

a) Carbonato di sodio (Na_2CO_3) 5,3 g sciolti in 100 mL di H_2O

b) Bicarbonato di sodio (NaHCO_3) 4,2 g sciolti in 100 mL di H_2O

Mescolare 4,4 ml di a) con 100 ml di b)

Il pH dovrebbe essere 9.0. Tuttavia per correggerlo si possono aggiungere non più di 17 mL di a) nei 100 mL di b).

Glicerina tamponata di montaggio

Soluzione tampone 0,5 M pH 9 1 mL

Glicerina neutra 9 mL

Mescolare con un magnete ma non agitare.

Mantenere al buio avvolgendo la bottiglia con carta argentata.

Determinazione della presenza di DNA di Legionella mediante Real Time PCR

Strumenti, materiali e reagenti

- ✓ Frigorifero in grado di mantenere una temperatura di $+5 \pm 3^\circ\text{C}$
- ✓ Centrifuga in grado di arrivare a 11000 ± 100 g
- ✓ Micropipette 10-100-1000 μL e relativi puntali sterili con filtro
- ✓ Provette eppendorf sterili da 1.5 mL
- ✓ Provette eppendorf sterili da 0.2 mL
- ✓ Thermocycler
- ✓ PBS
- ✓ Proteinase K
- ✓ Etanolo (96-100%)
- ✓ Kit di estrazione di DNA da liquidi corporei/tessuti*
- ✓ Primers e sonde per l'amplificazione di geni specifici per *Legionella pneumophila* e eventualmente anche *Legionella* specie
- ✓ DNA di *Legionella* come controllo positivo
- ✓ Tris-EDTA (TE) buffer nuclease-free
- ✓ H_2O nuclease-free

*Per l'estrazione di DNA genomico sia da secrezioni respiratorie sia da tessuto è consigliabile l'uso di sistemi di estrazione automatizzati, che limitano le cross-contaminazioni, garantiscono riproducibilità, essendo indipendente dell'operatore, possono meglio eliminare e/o evitare la concentrazione di sostanze inibenti.

Procedimento

Secrezioni respiratorie (escreato, bronco lavaggio, tracheoaspirato), fluido pleurico, drenaggio toracico, ecc. e tessuto polmonare

Prelevare 200 μL dal volume di secrezione respiratoria o tessuto ottenuto dopo fluidificazione o omogeneizzazione (evitando l'uso di brodo di coltura come indicato nella sezione "Metodo culturale"). Nel caso in cui il volume disponibile fosse inferiore a 200 μL è



Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi

possibile compensare con il volume necessario di PBS. Quindi procedere con l'estrazione del DNA seguendo il manuale di istruzioni del Kit utilizzato. Dopo l'eluizione, prelevare 5 µL di DNA per l'analisi mediante Real Time PCR. Ad oggi i kits per analisi di campioni clinici mediante Real Time PCR disponibili in commercio sono ben pochi e per lo più specifici per *Legionella pneumophila*. Per l'uso di sistemi in "house", si consiglia l'uso di sistemi che siano oggetto di Controlli di Qualità Esterni (EQA). In ogni caso i campioni possono essere inviati al Laboratorio di Riferimento Nazionale.

Determinazione dell'antigene urinario

Il test dell'antigene urinario è molto semplice e rapido da eseguire. Di seguito tuttavia si riporta una breve procedura per evitare possibili falsi positivi:

- ✓ bollire 0,5-1 mL di urine per 5 minuti
- ✓ centrifugare a 12000 g per 2 min.
- ✓ trasferire il sopranatante in un'altra provetta e analizzarlo con il test in uso nel proprio laboratorio.

Risultati

Per quanto riguarda il test immunocromatografico, la presenza di una banda, seppure debole, indice di positività al test. In questo caso sono tuttavia auspicabili metodi aggiuntivi a supporto della diagnosi, come la ricerca di anticorpi specifici e il metodo colturale. Inoltre, si deve puntualizzare che l'esito diagnostico va comunque valutato in relazione al quadro clinico del paziente (presenza di polmonite).

Per quanto riguarda il test EIA per la determinazione dei risultati, riferirsi ai livelli di cut off riportati dal produttore.



ALLEGATO 3: CAMPIONAMENTO DI MATRICI AMBIENTALI PER LA RICERCA DI LEGIONELLA

Misure di sicurezza

Legionella è un microrganismo appartenente al gruppo 2 di rischio come indicato nel Titolo X del dal DLgs n. 81 del 9 Aprile 2008 e s.m.i.. Considerando che la modalità di trasmissione dell'infezione è attraverso inalazione di aerosol si deve valutare attentamente qualsiasi fase della prova che lo generi. I campioni in cui essa può essere presente, devono essere maneggiati da personale esperto operando con appropriati dispositivi di protezione individuale (maschere, guanti, occhiali; vedi caratteristiche nel paragrafo DPI del capitolo "Rischio di esposizione professionale") e in laboratori adeguatamente attrezzati e dotati di cappe Biohazard di classe II con certificazione di conformità alla norma tecnica EN 12469 (D. Lgs 81/2008 e s.m.i., Linee guida recanti indicazioni ai laboratori con attività di diagnosi microbiologica e controllo ambientale della legionellosi G.U. N. 29 del 5 febbraio 2005).

In aggiunta alla protezione individuale l'operatore, durante l'esecuzione della prova, deve prestare la massima attenzione a mantenere le condizioni di sterilità del campione eliminando qualsiasi possibilità di contaminazione con eventuali altri campioni o con l'ambiente.

Il tecnico che preleva i campioni non deve appartenere ad una categoria a rischio (persone che sono sottoposte a trattamento con corticosteroidi, che abbiano affezioni croniche a carico dell'apparato respiratorio, diabetici, ecc.) ed è raccomandato che:

- Indossi quando necessario (ad es. in campionamenti in cui non è possibile lo spegnimento di torri di raffreddamento che determinano, nei confronti del campionatore, un'esposizione a rischio) dispositivi di protezione individuale
- Minimizzi la formazione di aerosol facendo scorrere l'acqua delicatamente dall'erogatore oggetto del campionamento
- Eviti l'esposizione ad aerosol

Ove praticabile e necessario, richiedere la disattivazione delle torri di raffreddamento o dei condensatori evaporativi, almeno 20 minuti prima di effettuare il campionamento.

Il presente allegato riporta le modalità per effettuare il campionamento di matrici ambientali di *Legionella* annullando e sostituendo quanto riportato nelle "Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi" del 2000. Tali indicazioni sono il frutto dell'esperienza maturata dal laboratorio nazionale di riferimento per le legionelle, dai laboratori regionali di riferimento e da altri laboratori di rilevanza scientifica nell'applicazione delle norme delle sopra citate Linee guida e delle norme iso11731- 1 "Water quality-detection and enumeration of *Legionella*" del 1998 e "Water quality- detection and enumeration of *Legionella*" parte 2 "Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts" del 2004 e tengono conto delle informative del gruppo di lavoro ISO per l'accorpamento e revisione delle suddette norme.

Le indicazioni, riportate a seguire, valgono sia per un campionamento da eseguirsi ad opera di Ente di Controllo Pubblico, sia per un campionamento di autocontrollo di routine.

La buona riuscita di un'analisi per la ricerca di *Legionella* dipende da un prelievo corretto, pertanto tale operazione deve essere effettuata o supervisionata da personale esperto opportunamente formato che conosca:



- Il rischio per sé e per gli altri di trasmissione del batterio dai siti potenzialmente contaminati.
- L'ecologia di *Legionella*.
- I fattori che ne favoriscono la sopravvivenza e la crescita.
- Gli elementi di base del campionamento microbiologico, in particolare il concetto di sterilità.
- A questo proposito è importante adottare appropriate precauzioni per eliminare cross-contaminazione tra i siti di campionamento, specialmente quando si raccolgono campioni ad immersione (serbatoi, bacini di raccolta delle torri di raffreddamento). Ad esempio cambiare i guanti ogni volta che si effettua un campionamento ad immersione, alternativamente le mani dell'operatore devono essere disinfettate con alcool isopropilico (propanolo) o etanolo al 70% v/v. Anche la superficie esterna delle bottiglie non deve essere contaminata. Se c'è qualsiasi dubbio in proposito, la bottiglia deve essere eliminata o disinfettata con alcool isopropilico (propanolo) o etanolo al 70% v/v prima dell'uso.

Prima di effettuare il campionamento, è necessario raccogliere (od aggiornare) le seguenti informazioni relative all'impianto idrico od aerulico oggetto del monitoraggio:

- Schema della rete idrica (qualora esistente)
- Localizzazione della tubazione di alimentazione idrica alla rete
- Localizzazione degli eventuali serbatoi d'acqua calda e fredda e di tutti i sistemi che possano generare aerosol d'acqua
- Presenza di linee di distribuzione idrica contraddistinte da stagnazione/scasso ricambio idrico (ad es. camere non utilizzate per tempi superiori ai 7 giorni)
- Vetustà dell'impianto
- Distribuzione di ciascun impianto idrico a rischio
- Presenza di sistemi di disinfezione in continuo installati sull'impianto idro-sanitario, (tipo di impianto, caratteristiche del disinfettante, modalità di monitoraggio delle concentrazioni del disinfettante, ecc.)
- Distribuzione di ciascun impianto aerulico a rischio
- Registro di manutenzione con tutti gli interventi ordinari e straordinari effettuati sugli impianti

Qualora il Registro di Controllo fosse ancora da redigere, raccogliere informazioni su eventuali lavori svolti o su interventi di disinfezione effettuati.

Materiale occorrente

- ✓ Borsa sempre pronta con tutte le attrezzature e i materiali necessari e dispositivi di protezione individuale (guanti, maschere, occhiali)
- ✓ Borsa isoterma per il trasporto dei campioni
- ✓ Uno schema dove registrare i dettagli del campionamento effettuato (luogo, temperatura, stanza, volume d'acqua prelevato, condizioni particolari del sito, ruggine, calcare, conformità con le leggi vigenti, ecc.; vedere più avanti "Schema di campionamento")
- ✓ Bottiglie sterili con capacità minima di 1 L preferibilmente di vetro o polietilene o contenitori simili, contenenti una concentrazione di tiosolfato di sodio pentaidrato (come indicato nella norma UNI EN ISO19458 al punto 4.2.3), quando sappiamo che potrebbe essere stato utilizzato cloro come sistema di disinfezione, altrimenti se il sistema di disinfezione utilizza ioni rame o argento si neutralizza con EDTA (come indicato nella norma UNI EN ISO19458 alla nota del punto 4.2.3)



- ✓ Contenitori sterili con capacità (5-10 L) per campionare acqua proveniente dall'acquedotto o acqua sospetta di essere fonte di infezione ma che si trova ad una bassa temperatura
- ✓ Bottiglie sterili (preferibilmente di vetro, polietilene, polipropilene o altra plastica sterile)
- ✓ Contenitori in vetro o polietilene sterili per la raccolta di depositi e incrostazioni
- ✓ Buste di plastica sterili per convogliare il flusso della doccia
- ✓ Tamponi sterili (cotone, poliestere o altro materiale)
- ✓ Provette con 2-5 mL di acqua sterile
- ✓ Disinfettante: etanolo al 70% v/v o propanolo al 70% v/v, ipoclorito di sodio al 10% (possibilmente in confezione spray)
- ✓ Bisturi sterili
- ✓ Termometro tarato, preferibilmente digitale con sensibilità 0,1 °C
- ✓ Flambatore
- ✓ Pennarelli resistenti all'acqua o etichette
- ✓ Pinze sterili
- ✓ Elastici
- ✓ Forbici
- ✓ Torcia elettrica
- ✓ Macchina fotografica
- ✓ Alcool isopropilico (propanolo) 70%, possibilmente spray.

Campionamento

E' necessario che i campioni siano univocamente identificati e univocamente correlati a quanto riportato nello schema di registrazione e quindi mostrare sempre un'attenta osservanza di procedure di registrazione e marcatura dei campioni.

Legionella sarà ricercata nell'ambiente idrico artificiale (impianti d'acqua destinati al consumo umano, impianti aeraulici, impianti di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi, fontane decorative, idromassaggi, apparecchiature mediche per la respirazione assistita, impianti d'acqua termale e qualunque altro impianto risulti evidenziato dalla valutazione del rischio legionellosi o da osservazioni effettuate sul campo) limitando i prelievi ai punti che maggiormente possono essere critici, sia in base allo schema di ciascun impianto a rischio sia in funzione dei dati epidemiologici.

I campioni sono rappresentati principalmente da:

- acqua del circuito dell'acqua calda sanitaria e di quello dell'acqua fredda sanitaria soprattutto qualora, per quest'ultima tipologia d'impianto, la temperatura sia superiore a 20°C;
- depositi (cosiddetti "fanghi") o sedimenti da serbatoi e altri punti di raccolta dell'acqua;
- incrostazioni da tubature e serbatoi;
- biofilm e/o altro materiale attaccato alle superfici interne delle tubazioni, allo sbocco di rubinetti, nei filtri rompigitto, all'interno del diffusore delle docce, da raccogliere utilizzando dei tamponi;
- acqua d'umidificazione degli impianti aeraulici;
- acqua dell'impianto di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi;
- filtri da impianti di climatizzazione;
- aria umidificata (ad es. quella che fuoriesce dalle torri evaporative/condensatori evaporativi);
- acqua da vasche idromassaggio, fontane decorative;



- acqua da sistemi per la respirazione assistita, aerosol;
- acqua e altre matrici tipiche di stabilimenti termali.

Impianti idrosanitari

Nella rete idrosanitaria, nonostante sia maggiore la probabilità di riscontrare il batterio nell'impianto di distribuzione dell'acqua calda, è necessario effettuare anche il campionamento dell'impianto di distribuzione dell'acqua fredda sanitaria da effettuarsi in relazione agli esiti della valutazione del rischio e negli altri casi indicati nel presente documento (es. verificarsi di un caso).

Il percorso dell'acqua dovrebbe essere monitorato dal suo punto di partenza (punto di allaccio idrico della rete, ossia dall'allacciamento all'acquedotto od al punto d'emungimento d'acqua di pozzo) fino ai terminali di utilizzo (erogatori sentinella).

A seguire, si riporta l'elenco dei principali punti di controllo, da utilizzarsi come riferimento per la definizione della più opportuna mappatura analitica della rete idrica oggetto d'indagine:

- ✓ Allacciamento all'acquedotto od al punto d'emungimento d'acqua di pozzo
- ✓ Accumuli acqua fredda destinata al consumo umano, serbatoi/bollitori acqua calda sanitaria (alla base e ad 1/3 dell'altezza, quando possibile)
- ✓ Tutti i siti in cui possono essere presenti fenomeni di ristagno, sedimentazione od incrostazioni significative
- ✓ Utenze poco utilizzate
- ✓ Ricircolo dell'acqua calda sanitaria (anello di distribuzione)
- ✓ Erogatori a servizio di bagni e/o docce distali (erogatori sentinella)
- ✓ Addolcitori.

Il campionamento dei punti di controllo deve riguardare l'acqua sanitaria sia calda che fredda. Quando questa è ≤ 20 °C il numero dei campioni può essere ridotto. La definizione di quali e quanti punti di controllo sottoporre a campionamento deve essere motivata dalla valutazione del rischio legionellosi, così come la frequenza d'esecuzione di tali controlli analitici.

Impianti di raffreddamento a torri evaporative/condensatori evaporativi

I campioni devono essere prelevati dal bacino (tenendosi lontani dal punto di immissione dell'acqua tramite galleggiante) e/o dal ritorno caldo dalle utenze (torri evaporative).

E' sufficiente (a meno di risultanze diverse derivanti dalla valutazione del rischio legionellosi) il prelievo di un campione per ciascun impianto di raffreddamento.

E' opportuno, in presenza di eventi epidemici, effettuare anche un campionamento dell'aria che viene espulsa dalle torri /condensatori evaporativi.

Modalità di prelievo

Acqua calda

Il volume consigliabile è di almeno 1 litro.

Per la ricerca di *Legionella*, in condizioni di utilizzo comune (ossia un campione istantaneo per simulare l'eventuale esposizione da parte di un utente), prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua e misurare la temperatura.



Per una ricerca di *Legionella* all'interno dell'impianto (ossia per monitorarne le sue condizioni d'igiene):

- far scorrere l'acqua per almeno un minuto;
- chiudere il flusso e flambare all'interno e all'esterno dello sbocco, (quando la flambatura è tecnicamente possibile) oppure disinfettare con ipoclorito al 1% o etanolo al 70% lasciando agire il disinfettante almeno per 60 secondi;
- fare scorrere l'acqua ancora per almeno 1 minuto per rimuovere l'eventuale disinfettante;
- misurare la temperatura ponendo il termometro nel flusso d'acqua e aspettando il tempo necessario affinché raggiunga un valore pressoché costante;
- prelevare il campione.

Si suggerisce l'applicazione di questa modalità di campionamento in occasione dell'esecuzione dei monitoraggi microbiologici di autocontrollo di routine.

Acqua fredda

Per la ricerca di *Legionella* in condizioni di utilizzo comune prelevare senza flambare o disinfettare al punto di sbocco e senza far scorrere precedentemente l'acqua e misurare la temperatura ponendo il termometro al centro del flusso. Quindi prelevare il campione.

Per la ricerca di *Legionella* nell'acqua all'interno dell'impianto di acqua fredda il campione si può prelevare seguendo quanto è stato descritto per l'acqua calda.

Se la temperatura dell'acqua nell'impianto è $\leq 20^{\circ}\text{C}$ il numero di campioni può essere ridotto.

Depositi o sedimenti.

Prelevare dallo scarico oppure dal fondo della raccolta di acqua, una quantità $> 5\text{mL}$ dopo aver eliminato l'acqua dall'alto. Raccogliere in recipienti sterili di vetro o altro materiale monouso.

Incrostazioni

Prelevare da tubature e serbatoi, staccando meccanicamente con bisturi sterile il materiale depositatosi all'interno. Raccogliere in recipienti sterili di vetro o altro materiale monouso contenente una piccola quantità (2-5 mL) di soluzione Ringer o Page o acqua sterile.

Biofilm

Con un tampone sterile raccogliere il materiale depositato sulle superfici interne o esterne del punto terminale (effettuare il prelievo prima di aprire il flusso d'acqua, dopo aver smontato il rompi getto o il diffusore della doccia). Conservare il tampone in recipiente di vetro o altro materiale monouso (provetta) con tappo, contenente una piccola quantità (2-5 mL) di soluzione Ringer o Page o acqua sterile

Filtri

Il controllo deve essere eseguito su filtri utilizzati da diverso tempo, e non su quelli lavati o sostituiti di recente. Prelevare il filtro o una porzione di esso se è di grandi dimensioni e conservarlo in un sacchetto di plastica sterile.

Trasporto e conservazione

I campioni prelevati devono essere consegnati subito affinché l'analisi possa essere iniziata preferibilmente entro le 24 ore dal prelievo e trasportati a temperatura ambiente, al riparo dalla luce, avendo cura di separare i campioni di acqua calda da quelli di acqua fredda.

Trascorse le 24 ore i campioni devono essere conservati necessariamente $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e successivamente trasportati in un contenitore in grado di mantenere tale temperatura e consegnati in tempo utile affinché l'analisi venga iniziata il più presto possibile e comunque non oltre i 4 giorni dal prelievo.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Schema di campionamento

Campione di: acqua ☐ biofilm ☐ altro ☐

.....

Prelevato il Quantità : 1 Litro ☐ altro ☐

.....

Presso.....

N° camp.	Sito prelievo	Scorrimento		Temperatura °C
		Si	No	
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

Campionamento effettuato a seguito di :

- controllo in seguito ad un caso ☐
- cluster ☐
- epidemia, altro (specificare) ☐
- controllo di routine ☐

Note.....

Inizio analisi: data..... Ora.....

Presso.....

.....



ALLEGATO 4: RICERCA E QUANTIFICAZIONE DI LEGIONELLA IN CAMPIONI AMBIENTALI

Misure di sicurezza

Legionella è un microrganismo appartenente al gruppo 2 di rischio come indicato nel Titolo X del D. Lgs n. 81/2008 e s.m.i. Considerando che la modalità di trasmissione dell'infezione è attraverso inalazione di aerosol si deve valutare attentamente qualsiasi fase della prova che lo generi. I campioni in cui essa può essere presente, devono essere maneggiati da personale esperto operando con appropriati dispositivi di protezione individuale (maschere, guanti, occhiali; vedi caratteristiche nel paragrafo DPI del capitolo "Rischio di esposizione professionale") e in laboratori adeguatamente attrezzati e dotati di cappe Biohazard di classe II con certificazione di conformità alla norma tecnica EN 12469 (D.Lgs 81/2008 e s.m.i., Linee guida recanti indicazioni ai laboratori con attività di diagnosi microbiologica e controllo ambientale della legionellosi G.U. N. 29 del 5 febbraio 2005).

In aggiunta alla protezione individuale l'operatore, durante l'esecuzione della prova, deve prestare la massima attenzione a mantenere le condizioni di sterilità del campione eliminando qualsiasi possibilità di cross-contaminazione con eventuali altri campioni attraverso ad esempio imbuti e/o porta filtro della rampa o altro sistema filtrante utilizzato, pinzette ecc.

Il presente allegato riporta il metodo d'analisi per la ricerca e quantificazione di *Legionella* nei campioni ambientali annullando e sostituendo quanto riportato nelle "Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi" del 2000. Tali indicazioni sono il frutto dell'esperienza maturata dal laboratorio nazionale di riferimento per le legionelle, dai laboratori regionali di riferimento e da altri laboratori di rilevanza scientifica nell'applicazione delle norme delle "Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi" del 2000 e delle ISO11731:1998 "Water quality-detection and enumeration of *Legionella*" e ISO 11731-2: 2004 "Water quality-detection and enumeration of *Legionella*": "Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts".

Strumenti e Materiali

- ✓ Sistema filtrante costituito da beuta da vuoto in vetro con portafiltro sterile, imbuto sterile e pinza, oppure rampa per filtrazione sottovuoto corredata di imbuti sterili o sistemi simili
- ✓ Pompa da vuoto regolata ad una pressione di circa 500-550 mm Hg
- ✓ Membrane sterili di policarbonato, nylon o esteri misti di cellulosa di 47 mm di diametro e con porosità di 0,22 o 0,45 µm; l'uso di membrane nere può essere d'aiuto per il riconoscimento delle colonie quando si applica il procedimento di conteggio diretto su membrana.
- ✓ Centrifuga refrigerata in grado di arrivare a 6000 ± 100 g
- ✓ Bagno termostatico regolabile a 50 ± 1 °C
- ✓ Termostato regolabile alla temperatura di 36±2°C in cui alla base è stata posta una vaschetta con acqua distillata sterile (rimboccata periodicamente quando si osserva



scendere il livello) per garantire l'umidità. La presenza di CO_2 al $2,5 \pm 1\%$ è utile per la crescita di alcune legionelle, ma non è essenziale

- ✓ Cilindri sterili per eventuale misurazione del volume
- ✓ Raschietti (scrapers) sterili per colture cellulari
- ✓ Barattoli di vetro o polistirene, piastre Petri, provette polipropilene (50 mL) o buste sterili o provette di vetro con all'interno palline di vetro del diametro di 3 mm sterili
- ✓ Micropipette 100-1000 μL e relativi puntali sterili, pipette sterili
- ✓ Spatole ad "L" monouso sterili
- ✓ Forbici sterili
- ✓ Becco Bunsen
- ✓ Provette in vetro o altro materiale monouso (5-10 mL) per effettuare diluizioni
- ✓ Frigorifero in grado di mantenere una temperatura di $+5 \pm 3^\circ\text{C}$
- ✓ Bilancia analitica con sensibilità 0,01 mg
- ✓ Pipette graduate 2-10 mL sterili o monouso sterili
- ✓ pHmetro con sensibilità di almeno 0,1 unità di pH

Terreni e diluenti

In aggiunta ai terreni e supplementi selettivi indicati nella norma ISO 11731:1998 si può prendere in considerazione l'uso di BCYE (Ditommasso S. et al., 2011)*, già previsto dalla ISO 11731-2: 2004 per la determinazione di *Legionella* in campioni con bassa concentrazione batterica, e del supplemento selettivo di Wadowsky e Yee (MWY) contenente glicina, vancomicina, polimixina B, anisomicina, blu di bromotimolo, porpora bromo cresolo che è così composto su un volume di 100 mL:

Glicina.....	300mg
Polimixina B solfato.....	5000 U.I.
Anisomicina.....	8,0 mg
Vancomicina.....	0,1mg
Blu di bromo timolo.....	1,0 mg
Porpora di bromo cresolo...	1,0 mg

*L'uso del BCYE, in aggiunta ad un terreno selettivo, si è rivelato molto utile per avere un maggior recupero di legionelle e un maggiore isolamento di *Legionella non-pneumophila*. Per questo motivo se ne consiglia l'utilizzo.

La letteratura scientifica internazionale ha dimostrato la sostanziale equivalenza tra GVPC e MWY (Leoni E. et al 2001; Reinthaler et al , 1993; Edelstein P et al 1982).

Modalità di preparazione

- Aggiungere un' appropriata quantità di polimixina B solfato a 100 mL d'acqua per raggiungere una concentrazione pari a 10000 UI/mL. Mescolare e decontaminare mediante filtrazione per membrana. Dispensare in aliquote da 5 ml in contenitori sterili e conservare a $-20 \pm 3^\circ\text{C}$. Scongellare a temperatura ambiente prima dell'uso.
- Aggiungere 20 mg di vancomicina idrocloruro a 20 mL d'acqua, mescolare e decontaminare mediante filtrazione per membrana. Dispensare in aliquote da 1 mL in



contenitori sterili e conservare a 20 ± 3 °C. Scongellare a temperatura ambiente prima dell'uso.

- Aggiungere 2 g di anisomicina a 100 mL di etanolo e decontaminare mediante filtrazione per membrana. Dispensare in 4 mL in contenitori sterili.
- Aggiungere 10 mg di blu di bromotimolo a 10 mL d'acqua, mescolare e decontaminare mediante filtrazione per membrana.
- Aggiungere 10 mg di porpora di bromo cresolo a 10 mL d'acqua, mescolare e decontaminare mediante filtrazione per membrana.
- Gli antibiotici (ad eccezione della anisomicina) possono essere conservati fino a 6 mesi quando sono congelati. Questo supplemento selettivo va aggiunto al BCYE, dopo aver aggiunto α -ketoglutarato e 3 g di glicina priva di ammonio e aver aggiustato il pH a $6,8 \pm 0,2$.

Per il controllo di qualità dei terreni valutare la crescita sia di *Legionella pneumophila* che *Legionella bozemanii*.

In alternativa si possono utilizzare terreni e reagenti deidratati seguendo per la preparazione le indicazioni fornite dalle case produttrici.

Si può inoltre prendere in considerazione la possibilità di utilizzare tutti i terreni sopra citati già pronti in piastra sottoponendoli a controllo di qualità, qualora non fosse stato effettuato dalla ditta produttrice. In questo caso verificare sempre la data di scadenza e seguire le istruzioni per la conservazione e l'utilizzo indicate dal produttore.

Soluzione PAGE

Cloruro di sodio (NaCl)	0,120 g
Solfato di magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,004 g
Cloruro di calcio ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0,004 g
Idrogenofosfato di disodio (Na_2HPO_4)	0,142 g
Diidrogeno fosfato di potassio (KH_2PO_4)	0,136 g
Aqua distillata	1000 mL

Dissolvere i sali nell'acqua, mescolare bene e autoclavare a (121 ± 3) °C per (20 ± 1) min.

NOTA. Per una preparazione accurata preparare una soluzione 10X e poi diluire 1:10 con acqua distillata sterile.

Soluzione Ringer

Cloruro di sodio (NaCl)	8,6 g
Cloruro di potassio (KCl)	0,3 g
Cloruro di Calcio ($CaCl_2$)	0,33 g
Aqua distillata	1000 mL

Dissolvere i sali nell'acqua, mescolare bene, diluire 1:40, dispensare in aliquote e sterilizzare in autoclave a (121 ± 3) °C per (20 ± 1) min.

Conservare le soluzioni PAGE e Ringer in frigo a 5 ± 3 °C per 3 mesi.



Procedimento per campioni ambientali a matrice acquosa

Concentrazione per filtrazione

- Agitare bene il campione d'acqua manualmente per staccare le legionelle che aderiscono alle pareti del contenitore, soprattutto se è di plastica (questo avviene in particolare durante il trasporto e la conservazione)
- Se ci si attende una concentrazione maggiore o uguale a 10^3 si può seminare direttamente il campione (da 0,1 a 0,5 mL) anche prima della concentrazione
- Se si presume che il campione abbia una bassa concentrazione di legionelle si suggerisce l'uso del metodo basato sulla semina diretta della membrana (vedi di seguito)
- Il campione d'acqua può essere filtrato attraverso membrane sterili di policarbonato o nylon o esteri misti di cellulosa con porosità pari a 0,22-0,45 μm poste su apparati filtranti di vario genere (sistemi composti da beute da vuoto o rampe per filtrazione)
- Filtrare attraverso una pompa da vuoto, esercitando preferibilmente una pressione di circa 500-550 mm Hg (per evitare stress alle legionelle)
- Se il campione ha un volume maggiore di un litro o è particolarmente contaminato si possono usare anche più membrane in successione oppure prevedere una centrifugazione (vedi di seguito)
- Al termine della filtrazione la membrana viene prelevata con pinzette sterili e posta in un contenitore di vetro o in provetta in plastica monouso sterile di capacità adeguata e richiudibile, contenente 10 ml di diluente (soluzione Ringer o Page, vedere la composizione nella nota del presente Allegato) o con l'acqua dello stesso campione. Si procede quindi al distacco dei microrganismi che sono stati trattiene, pipettando ripetutamente il diluente sulla membrana, oppure mediante sfregamento della pipetta sulla membrana stessa, oppure si può procedere anche allo sminuzzamento della membrana con forbici sterili. In alternativa si può usare una piastra Petri di 90 mm con 5-10 mL di diluente (soluzione Ringer o Page o acqua dello stesso campione), rimuovere i batteri adesi alla membrana con uno scraper o una spatola (passarlo almeno due volte sull'intera membrana) e trasferire poi il volume di diluente in una provetta di plastica monouso sterile
- Si procede poi ad una agitazione vigorosa per 2' con il vortex
- In alternativa si possono utilizzare anche buste sterili dove si colloca la membrana con il diluente e poi si procede al massaggio con le dita attraverso la busta della membrana stessa per almeno 30'' per rimuovere i batteri e ad un trattamento in bagno ad ultrasuoni (vedi punto successivo)
- Se si possiede un bagno ad ultrasuoni è consigliabile trattare il concentrato da 2 a 10 minuti in alternativa al vortex; assicurarsi che il livello di diluente che copre la membrana sia sotto il livello dell'acqua nella vasca ad ultrasuoni
- Il campione così ottenuto rappresenta il concentrato da utilizzare per l'inoculo. Effettuare subito la semina e conservarlo in frigorifero a $+5 \pm 3^\circ\text{C}$ per un periodo massimo di 7 giorni (N.B. In presenza di epidemie si raccomanda la conservazione del rimanente concentrato fino alla completa esecuzione di tutte le indagini ambientali ed epidemiologiche)
- Trattamento al calore e/o con soluzione acida¹. Quando del campione si conosce l'entità di contaminazione da microrganismi interferenti si può adottare un trattamento o l'altro. Ad esempio si presume che acque provenienti da sistemi idrici sottoposti a trattamento di disinfezione abbiano una bassa contaminazione e pertanto un solo trattamento è sufficiente. Al contrario acque provenienti da sistemi idrici non sottoposte a disinfezione e quindi presumibilmente contaminate saranno trattate con entrambe le modalità. Per campioni, in cui è visibile anche ad occhio nudo una considerevole presenza di detriti o altro materiale



- organico ed inorganico, si può considerare anche di effettuare entrambe i trattamenti in successione sulla stessa aliquota (prima quello al calore e poi, previo raffreddamento del campione, quello con acido). In alternativa la conservabilità del campione concentrato (stabile per un massimo di 7 gg), permette di eseguire i trattamenti suddetti, quando necessario, anche successivamente alla semina del concentrato tal quale in relazione a quanto si evidenzia a 48-72 di incubazione
- Calore: prendere un'aliquota (es. $1 \pm 0,5$ mL) di campione concentrato o diluito e metterlo in una provetta da centrifuga con tappo a vite ed incubare a 50 ± 1 °C per 30 ± 2 min.
 - Acido: con soluzione tamponata HCl-KCl a pH 2,2 (vedere la composizione nella nota dell'Allegato 2). In tale caso, centrifugare da 1 a 10 ml della sospensione concentrata a 3000 ± 100 g per 30 min. Rimuovere il sopranatante lasciando la metà di quello centrifugato ed aggiungere un ugual volume della soluzione tamponata acida, mescolare bene e lasciare a temperatura ambiente per $5 \pm 0,5$ min
 - Inoculare da 0,1 a 0,5 mL del campione concentrato tal quale trattato (con il calore e/o con acido) e non trattato in una o due piastre di terreno selettivo per *Legionella*²;
 - Incubare a 36 ± 2 °C in aerobiosi, in ambiente umido, con 2,5% di CO₂, oppure in microaerofilia
 - Esaminare le piastre, per i primi 4-5 giorni ogni 24 ore. Qualora nel campione ci fosse una elevata presenza di legionelle o di flora contaminante, sarà necessario eseguire sul campione concentrato, diluizioni in base 10 (10^{-1} e 10^{-2} con soluzione Ringer o soluzione Page) eseguire, se necessario, di nuovo i trattamenti come indicato in precedenza, e inoculare di nuovo le diluizioni non trattate e trattate su terreno selettivo
 - Eliminare una piastra come negativa solo dopo almeno 10 giorni di incubazione
 - Nel caso di presenza di colonie di *Legionella* tipiche (vedi allegato 5 identificazione), per avere una discreta rappresentatività delle colonie presenti in un campione, analizzare 5 colonie³ per ogni piastra seminata cercando di prelevare quelle che presentano un aspetto diverso. Nel caso di piastre con presenza di colonie tipiche tra 1 e 5 analizzare tutte le colonie
 - Si procederà quindi alla identificazione (Allegato 5). Per le conferme, prendere in considerazione tra tutte le piastre seminate (del campione non trattato e trattato con acido e con calore) quella che alla diluizione più bassa presenta un numero di colonie non superiore a 150.
 - Si potrà effettuare una valutazione quantitativa (unità formanti colonia/Litro, UFC/L, vedi il presente Allegato par. 6.4) in base al numero di colonie contate per piastra, al numero delle colonie confermate tra quelle sottoposte a conferma ed alla concentrazione effettuata sul

¹Questi trattamenti hanno una diversa funzione nel recupero delle legionelle da un campione ambientale. Il trattamento con acido ad esempio, spesso consente il recupero di quelle specie di legionelle (e. *Legionella micdadei* e *Legionella anisa*) più sensibili al calore, inoltre l'acidità della soluzione può facilitare la lisi delle amebe e quindi un recupero maggiore di legionelle in esse eventualmente presenti; il trattamento al calore inibisce la crescita di altri batteri resistenti agli antibiotici ed antifungini presenti nei terreni selettivi;

²Per limitare quanto più possibile il tempo di attesa dell'esito dell'analisi, si suggerisce di effettuare subito una diluizione 1:10 del solo campione non trattato quando si presume che ci sia un'elevata concentrazione di legionelle ad es. campioni provenienti da impianti non trattati con biocida e correlati con casi di malattia) e del campione trattato con acido e al calore quando si presume che ci sia un elevato livello di contaminazione (ad es. campioni provenienti da torri di raffreddamento o da altri siti contaminati).

³ In presenza di cluster o di focolai epidemici, al fine di consentire una maggiore attendibilità del confronto genomico tra i ceppi ambientali e quelli di origine umana, si suggerisce di analizzare un numero di colonie ≥ 5 . Inoltre, in questi casi è necessario conservare i ceppi ambientali isolati e inviarli al più presto al Laboratorio Nazionale di Riferimento.



campione originale, tenendo conto anche delle eventuali diluizioni effettuate successivamente

- Per determinare il numero di UFC di *Legionella* presenti nel campione, si deve considerare la piastra del campione non trattato o trattato (acido e/o calore) che presenta il maggior numero di colonie confermate
- Se attraverso le procedure di analisi ed identificazione si ottengono dati di quantificazione prima dei 10 giorni si possono comunicare al committente al fine di consentire le idonee misure di prevenzione e controllo a tutela della salute pubblica. Tali dati saranno indicati come "preliminari" e dovranno essere successivamente confermati.

Concentrazione per filtrazione con posa diretta della membrana sul terreno di coltura

Per i campioni che contengono basse concentrazioni di *Legionella* (ad es. acqua fredda di un impianto idrosanitario o acque della rete municipale, ecc.) si può utilizzare la concentrazione per filtrazione con posa diretta della membrana sul terreno di coltura.

- ✓ Agitare il campione d'acqua manualmente prima della filtrazione
- ✓ Analizzare da 10 a 1000 mL (prendere nota del volume di campione filtrato) del campione d'acqua
- ✓ Dividere il campione in due aliquote di pari volume e filtrare. Una di esse sarà trattata con acido l'altra no
- ✓ Effettuare il trattamento con acido, direttamente sul filtro con 30 ± 5 mL di soluzione acida (vedi nota Allegato 2) lasciando agire per 5 minuti
- ✓ Eliminare l'acido per filtrazione e lavare la membrana con 20 ± 5 mL di soluzione PAGE o un altro tampone corrispondente
- ✓ Rimuovere con cautela la membrana dal supporto con pinzette sterili e porla (a testa in su) direttamente sul terreno di coltura BCYE o GVPC o MWY assicurando che nessuna bolla d'aria sia intrappolata sotto
- ✓ Trattare l'altra parte di campione allo stesso modo senza aggiunta di acido
- ✓ Incubare a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ in aerobiosi, in ambiente umido, con 2.5% di CO_2 , oppure in microaerofilia
- ✓ Esaminare le piastre ogni 2-4 giorni per un periodo di 10 giorni

Nel caso di presenza di colonie di *Legionella* tipiche per avere una discreta rappresentatività delle colonie presenti in un campione, analizzare 5 colonie³ cercando di prelevare quelle che presentano un aspetto diverso. In caso di piastre con presenza tra 1 e 5 colonie tipiche di *Legionella* per avere una discreta rappresentatività delle colonie presenti in un campione analizzare tutte le colonie. Si procederà quindi alla identificazione (Allegato 5).

Nota Bene.

La filtrazione di grandi volumi di campione può portare ad un arricchimento di sostanze tossiche sulla membrana filtrante. Una diminuzione, ovvero un basso recupero di legionelle con volumi crescenti possono indicare la presenza di sostanze inibenti.

Le colonie di *Legionella* che crescono su una membrana filtrante crescono più lentamente e usualmente hanno dimensioni più piccole delle colonie che crescono sulla superficie dell'agar. Specie di *Legionella non pneumophila* possono non crescere su membrana.



Concentrazione per centrifugazione

In alternativa è possibile utilizzare la concentrazione per centrifugazione. Questo metodo tuttavia è sconsigliato a causa del basso recupero di legionelle ottenuto. Si suggerisce di utilizzarlo solo per campioni difficili da filtrare perché molto torbidi e/o per la presenza di materiale corpuscolare. La centrifugazione viene effettuata con 200 ± 5 ml di campione a 6000 ± 100 g per 10min oppure 3000 ± 100 g per 30min tra 15 e 25 °C. Si elimina sterilmente e molto delicatamente il sopranatante e si risospende il deposito (in 2-20 ml di soluzione Ringer o soluzione Page) o acqua distillata sterile. E' consigliabile rimuovere il sopranatante mediante aspirazione con una pompa da vuoto o con una pipetta sterile, non per decantazione per evitare di perdere le legionelle. Registrare il volume finale, che rappresenta il volume in cui si è concentrato il campione

Procedimento per campioni ambientali a matrice non acquosa

Depositi o sedimenti.

Effettuare diluizioni in base 10 (10^{-1} e 10^{-2}) con acqua distillata sterile soluzione Ringer o Page e agitare bene. Trattare le sospensioni al calore e con acido ed effettuare la semina su terreno selettivo come descritto per le matrici acquose.

Incrostazioni

Frantumare e tritare le incrostazioni in mortaio o mixer sterili. Trattare le sospensioni al calore e con acido ed effettuare la semina su terreno selettivo come descritto per le matrici acquose.

Tamponi

Agitare il tampone nella provetta per rimuovere il materiale raccolto. Trattare le sospensioni al calore e/o con acido ed effettuare la semina su terreno selettivo come descritto per le matrici acquose.

Filtri

Lavare il filtro o parte di esso in acqua distillata sterile o soluzione Ringer o Page. Utilizzare il volume minimo necessario per evitare di diluire il campione. Se si dovesse rendere necessario l'utilizzo di volumi maggiori ai 20 mL effettuare una centrifugazione a 6000 ± 100 g per 10 min oppure 3000 ± 100 g per 30min tra 15 e 25 °C. Si elimina sterilmente il sopranatante e si risospende il deposito (in 2-20 ml di soluzione Ringer o soluzione Page). E' consigliabile rimuovere molto delicatamente il sopranatante mediante aspirazione con una pompa da vuoto o con una pipetta sterile, non per decantazione per evitare di perdere le legionelle.

Trattare le sospensioni sia al calore che con acido ed effettuare la semina su terreno selettivo come descritto per le matrici acquose.

La presenza massiccia di flora interferente (es. funghi) anche dopo entrambi i trattamenti (calore e acido) non sempre permette di verificare concretamente l'eventuale presenza di



Legionella nella piastra di semina con il rischio di falsi negativi, pertanto il ricorso a tale tipologia di analisi potrebbe non essere significativo.

Tutte le matrici ambientali sopra indicate possono essere conservate a $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ per 7 giorni

Espressione dei risultati

Campioni ambientali a matrice acquosa

Filtrazione con membrana con procedura di lavaggio o con procedura di centrifugazione

In merito alla conferma delle colonie e al successivo calcolo, per quanto riguarda *Legionella* la diluizione viene effettuata solo per avere in piastra un numero contabile di colonie (≤ 150), ed è possibile tenere in considerazione, tra tutte le piastre seminate, (tal quale, trattamento acido, calore), solo quella che alla diluizione più bassa presenta un numero di colonie ≤ 150 . Al fine di soddisfare la necessità del confronto con il riferimento normativo anche per i piccoli numeri (< 10 colonie), calcolare il numero delle UFC di *Legionella* presenti in 1 litro (UFC/L) in base al numero delle colonie contate sulla piastra considerata, al numero delle colonie confermate tra quelle sottoposte a conferma, al volume filtrato,

Calcolare il numero delle unità formanti colonia di *Legionella* presenti in 1 litro (UFC/1000 mL) in base al numero delle colonie contate sulla piastra considerata, al numero delle colonie confermate tra quelle sottoposte a conferma, alla diluizione eventualmente effettuata sul campione e al fattore di concentrazione secondo la seguente formula:

$$C_s = \frac{k \times z \times V_s}{n \times V_t \times d} \times \frac{1}{c}$$

dove:

C_s = numero totale dei microrganismi confermati nel volume di riferimento del campione V_s (1000 mL);

k = numero di colonie confermate tra quelle sottoposte a conferma (n);

n = numero di colonie tipiche sottoposte a conferma;

z = numero di colonie tipiche contate sulla membrana;

V_t = volume di campione o della diluizione inoculato su piastra (in mL);

V_s = volume di riferimento per l'espressione dei risultati (1000 mL);

d = diluizione utilizzata;

c = fattore di concentrazione (es. 1000 mL concentrati in 10 mL fattore di concentrazione = 100).

Arrotondare all'intero i valori ottenuti: se la prima cifra dopo la virgola è minore di 5, non modificare quella precedente; se la prima cifra dopo la virgola è maggiore o uguale a 5, aumentare la cifra precedente di una unità.

Esprimere i risultati preferibilmente con un numero compreso tra 1,0 e 9,9 moltiplicato per l'appropriato esponente in base 10 o l'intero numero con due cifre significative.

L'assenza di *Legionella* sarà riportata come <100 UFC/L se il volume esaminato è un litro, il volume di concentrato è 10 mL ed il volume dell'inoculo è 0,1 mL. Tale limite soddisfa i requisiti richiesti dalle finalità di prevenzione sanitaria indicate nei documenti di riferimento



dove la concentrazione di 100 UFC/L è la soglia al di sotto della quale non è necessario alcun intervento.

Volumi diversi indicheranno limiti di quantificazione diversi.

Filtrazione con posa diretta della membrana sul terreno di coltura

Tra tutte le piastre in coltura con numero di colonie ≤ 100 , selezionare per il conteggio quella che al minor volume filtrato presenta il maggior numero di colonie ascrivibili a *Legionella*.

Eseguire il conteggio solo su piastre che presentano un numero di colonie caratteristiche non superiore a 100 UFC. Al fine di soddisfare la necessità del confronto con il riferimento normativo anche per i piccoli numeri (< 10 colonie), calcolare il numero delle unità formanti colonia di *Legionella* presenti in 1 litro (UFC/L) in base al numero delle colonie contate sulla piastra considerata, al numero delle colonie confermate tra quelle sottoposte a conferma, al volume filtrato, secondo la seguente formula:

$$C_s = \frac{k \times z \times V_s}{n \times V_t}$$

C_s = numero totale dei microrganismi confermati nel volume di riferimento del campione V_s (1000 mL)

k = numero di colonie confermate tra quelle sottoposte a conferma (n);

n = numero di colonie tipiche sottoposte a conferma;

z = numero di colonie tipiche contate sulla membrana;

V_t = volume di campione saggiato (in mL);

V_s = volume di riferimento per l'espressione dei risultati (1000 mL).

Se in tutte le piastre seminate non vengono riscontrate colonie ovvero non vengono confermate le eventuali colonie caratteristiche (sospette), esprimere il risultato come riportato nella tabella seguente:

Volume filtrato (mL)	Risultato in UFC/L
≥ 1000	< 1
$< 1000 \div \geq 100$	< 10
$< 100 \div \geq 10$	< 100

Incertezza di misura

Normalmente al risultato non viene associata l'incertezza di misura in quanto non significativa ai fini del confronto con i limiti di intervento indicati nel presente documento.

Nel caso in cui fosse richiesta, la norma di riferimento è la ISO 29201 (15.01.2012) "*Water quality- The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods*".

Volumi d'acqua inferiori ad un litro.

Quando non è possibile avere un campione d'acqua di un litro (es. campionamenti effettuati nelle UTA o nei circuiti di riuniti odontoiatrici, ecc.) esprimere il risultato indicando le UFC/volume campionato.



Campioni ambientali a matrice non acquosa (depositi, sedimenti, incrostazioni, tamponi e filtri)

L'espressione dei risultati in questo caso sarà qualitativa: presenza o assenza oppure rilevata/non rilevata nella matrice esaminata.

Campioni di bioaerosol

Per quanto riguarda i campioni d'aria poiché non esistono sufficienti dati nella letteratura scientifica internazionale, che comprovino l'affidabilità del campionamento della matrice bioaerosol per la ricerca di *Legionella*, questo metodo non può essere applicabile per la ricerca quantitativa di tale microrganismo. Infatti:

- a. Non esistono studi sulle fonti da campionare né sulle modalità del campionamento, ovvero la distanza dalla fonte, la quantità di bioaerosol e il sistema da utilizzare per campionare, che potrebbero dare un maggiore un recupero. Infatti, applicando il metodo di impatto su agar o su filtro si potrebbero avere dei falsi negativi a causa dell'essiccamento e stress delle legionelle. L'interferenza sull'esito analitico si potrebbe avere anche a causa dell'impossibilità di trattare il campione con il calore o con soluzione acida, per eliminare flora microbica interferente (lieviti, funghi o altri batteri), come avviene per la matrice acquosa e/o solida (sedimenti, depositi, ecc.).
- b. Pur esistendo dei campionatori che "impattano" su liquido (soluzione Page o terreno di coltura) in grado di consentire il trattamento del campione, e che dovrebbero pertanto essere utilizzati per bioaerosol potenzialmente contenente *Legionella*, ad oggi la scarsità di studi sulla modalità di campionamento e la mancanza di protocolli di validazione dei sistemi di campionamento sopradescritti non consentono di valutare e garantire l'affidabilità del metodo descritto al punto a).



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONNE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATO 5

Scheda Monitoraggio parametri fisici e chimici

<i>Identificazione Punto di controllo</i>	<i>Data</i>	<i>Temperatura acqua calda sanitaria</i>	<i>Temperatura acqua fredda sanitaria</i>	<i>Concentrazione di disinfettante(se applicato)</i>



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATO 6

SCHEDA PER SEGNALAZIONE DI CASO SOSPETTO DI MALATTIA INFETTIVA

Da compilarsi da parte del Medico Curante, Specialista Ambulatoriale ed Extrambulatoriale, Direttore Sanitario e da trasmettersi entro le 12 ore via fono, via tele o via fax al Servizio di Igiene Pubblica ed Epidemiologia dell'ASL 6

Regione _____	Provincia _____
Comune _____	USL _____
Caso sospetto di (a stampatello) _____	
(le malattie sono indicate nella circolare)	

Sezione A

Cognome _____	Nome _____	Sesso M F
Codice SSN _____	USL _____	
Professione _____	Cittadinanza _____	
Residenza _____	Tel. _____	
Domicilio abituale _____		
Età compiuta all'inizio della malattia (<1 anno) da 0 a 11 mesi = (>1 anno) da 1 a 99 anni = Età _____		
Data inizio primi sintomi g. _____ m. _____ a. _____ Comune inizio primi sintomi _____		
Ricovero in luogo di cura: SI _____ NO _____		
Se esiste vaccino nei confronti della malattia, indicare: Non vaccinato _____ Non noto _____ Vaccinato _____		
N° dosi _____	Data ultima dose g. _____ m. _____ a. _____	Luogo _____ Tipo vaccino _____

Sezione B

Permanenza a qualunque titolo in Stati esteri nei 2 mesi precedenti la comparsa dei sintomi		
Luogo _____	dal _____	al _____
Luogo _____	dal _____	al _____
Luogo _____	dal _____	al _____
Ricerche diagnostiche eseguite in corso:		
Tipo ricerca _____	Data esame _____	
Luogo _____	Risultato _____	
Principali dati anamnestici _____		

Esame obiettivo riferito esclusivamente agli organi ed apparati clinicamente interessati dall'infezione		

Sezione C

Nome e Cognome del Medico segnalatore _____		
N° di codice regionale _____		
OSPEDALE _____	POLIAMBULATORIO _____	PROPRIO AMBULATORIO _____
DAY HOSPITAL _____		DI BASE _____
Recapito professionale _____		SPECIALISTICO _____
Tel. _____		Tel. abitaz. _____
REPARTO _____		

Il Responsabile dell' U.O.

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO
U.O. di Prevenzione e Sorveglianza delle Infezioni Ospedaliere
Dott. G. Calamusa

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 76 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATO 7: REVISIONE CIRCOLARE 400.2/9/5708 DEL 29/12/93

Facendo seguito alle precedenti circolari ministeriali concernenti la sorveglianza dei casi di legionellosi si forniscono indicazioni in merito all'aggiornamento della scheda relativa a detta sorveglianza.

Le modifiche apportate alla scheda sono suggerite dall'esigenza di disporre di dati più mirati, che consentano di individuare più correttamente i fattori di rischio e le eventuali esposizioni dei casi di legionellosi nel nostro Paese.

Di seguito vengono riportate le modifiche apportate alla scheda:

- E' stata aggiunta una voce relativa al trapianto di organo (tale voce è stata ritenuta un'importante informazione, in quanto pazienti sottoposti a trapianto sono a maggior rischio di infezione).
- E' stata tolta la voce relativa al trattamento con antibiotici.
- E' stata ampliata la voce relativa al ricovero ospedaliero con la richiesta di specificare la diagnosi di ammissione.
- E' stata aggiunta la voce cure termali.

La scheda modificata, di seguito riportata, sostituisce la precedente allegata alle Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi. Gazzetta Ufficiale n. 103 del 05/05/2000 e dovrà essere utilizzata per la segnalazione dei casi di legionellosi.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

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

Esito: Miglioramento/Guarigione ☐

Decesso ☐ Non noto ☐

Diagnosi clinica

segni di polmonite focale rilevabili all'esame clinico SI ☐ NO ☐

esame radiologico suggestivo di interessamento polmonare SI ☐ NO ☐

Diagnosi di laboratorio

Isolamento del germe SI ☐ NO ☐

Se sì, specificare da quale materiale biologico

specie e siero gruppo identificati

Sierologia SI NO

1° siero: n. gg da inizio sintomi titolo specie e sg

2° siero: n. gg da inizio sintomi titolo specie 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

(metodo non ancora validato)

Fattori di rischio

Abitudine al fumo SI ☐ NO ☐ da quanto tempo quantità

Abitudine all'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'azienda Indirizzo

con esposizione professionale ad acqua aerosolizzata SI ☐ NO ☐ NON NOTO ☐

con utilizzo della doccia SI ☐ NO ☐ NON NOTO ☐

in luoghi con presenza di torri di raffreddamento SI ☐ NO ☐ NON NOTO ☐

Specificare il reparto e l'ultimo giorno di lavoro

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 78 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Cure odontoiatriche nei 10 giorni precedenti l'esordio SI ☐ NO ☐

specificare ambulatorio/struttura e data _____

Ricovero Ospedaliero nei 10 giorni precedenti l'esordio SI ☐ NO ☐

Ospedale _____ Reparto _____

Periodo da [] [] [] a [] [] []

Ricovero presso strutture sanitarie/socio-sanitarie SI ☐ NO ☐

Tipo di struttura _____ Nome _____

Comune _____ periodo: da [] [] [] a [] [] []

Soggiorno nei 10 giorni precedenti all'esordio,
in luoghi diversi dalla propria abitazione SI ☐ NO ☐

Specificare tipo di struttura recettiva: (es. albergo, terme, campeggio, nave, parchi acquatici,
fiere espositive, ecc..) _____

Nome e indirizzo _____ n. stanza _____

Eventuale nome operatore turistico _____

In gruppo ☐ Individuale ☐ periodo: da [] [] [] a [] [] []

Attività di giardinaggio, uso di autolavaggio, esposizione a nebulizzatori d'acqua, ecc.

SI ☐ NO ☐
specificare sito _____ e data: _____

Trattamenti e cure inalatorie (anche presso stabilimenti termali), aerosol, ossigenoterapia
SI ☐ NO ☐ NON NOTO ☐

Nome e indirizzo _____

Uso di docce, vasche per idromassaggio presso impianti sportivi/stabilimenti balneari o frequentazione di centri
benessere e piscine, nei 10 giorni precedenti l'esordio SI ☐ NO ☐

Specificare tipo di struttura _____

Indagine Ambientale a cura del Dipartimento di Prevenzione SI ☐ NO ☐

Se SI, specificare il luogo e il materiale analizzato _____

Se SI ☐ Positiva ☐ Negativa ☐

Se Positiva specificare Specie e Sierogruppo _____

Note _____

Generalità e recapito del medico compilatore

Nome Cognome _____

Ospedale _____ Reparto _____

Indirizzo _____ Tel. _____ Fax _____

Data Compilazione [] [] []



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATO 8

AREA OSPEDALIERA [_____]

		BLOCCO	DESCRIZIONE
N°	DATA	ORA	FIRMA operatore DITTA ESECUTRICE SERVIZIO PULIZIE
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

Data archiviazione scheda _____

FIRMA leggibile Coord./ Resp./Delegato Area _____

Pagina Registro N°



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

ALLEGATO 9

AREA OSPEDALIERA [_____]

		BLOCCO	DESCRIZIONE
N°	DATA	ORA	FIRMA operatore DITTA ESECUTRICE SERVIZIO PULIZIE
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

Data archiviazione scheda _____

FIRMA leggibile Coord./ Resp./Delegato Area _____

Pagina Registro N°

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 81 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

Allegato 10: lista di controllo per il sopralluogo di valutazione del rischio legionellosi

La presente lista di controllo è redatta al fine di mettere a disposizione, dell'Organo di Controllo Pubblico, uno strumento di supporto per redigere una sintetica valutazione del rischio legionellosi, in occasione di controlli nei quali si debba verificare la valutazione del rischio legionellosi della struttura oggetto delle attività ispettive.

Tale lista di controllo può anche essere utilizzata, quale base preliminare di stima del rischio, da parte del Responsabile della struttura, in fase d'iniziale azione di prevenzione del Rischio.

Al Responsabile della struttura è comunque richiesta la redazione di una completa ed approfondita valutazione del rischio legionellosi. Pertanto, si sottolinea che l'esecuzione di tale base preliminare di studio non sostituisce, per il Responsabile della struttura, la necessità della redazione di una più completa ed approfondita valutazione del rischio legionellosi.

La definizione motivata degli interventi tesi a ridurre e controllare gli eventuali Fattori di Rischio (FR), individuati tramite tale lista di controllo, deve essere sviluppata dal Responsabile della struttura, laddove non già eseguito.

Identificazione Struttura

Tipologia di Struttura

☐ Ad uso collettivo ☐ Industriale ☐ Nosocomiale ☐ Recettivo ☐ Termale ☐ Altro _____

Ragione sociale _____

Indirizzo _____

Città _____

Tel _____ Fax _____ E-mail _____

Periodo di esercizio: ☐ Annuale ☐ Stagionale da _____ a _____

Valutazione del rischio legionellosi effettuata dalla struttura ☐ Si ☐ No

Data emissione del più recente Documento di Valutazione del rischio Legionellosi: _____

Notazioni: _____



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Piano di Gestione del rischio implementato dalla Struttura ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Campionamenti microbiologici di controllo presenza *Legionella* spp. effettuati ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Registro d'Igiene - Manutenzione presente o documentazione equivalente ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Monitoraggio Temperature acqua destinata al consumo umano

Identificazione Punto di controllo	Temperatura acqua calda sanitaria	Temperatura acqua fredda sanitaria	Concentrazione di disinfettante (se applicato)	Condizioni di pulizia diffusori/rompigetto

Sistema di disinfezione acqua destinata al consumo umano

Presente ☐ Si ☐ No

Se presente, il disinfettante usato

è: _____



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

*Se presente, è disponibile la Scheda di Sicurezza del disinfettante ad indicarne la sua
composizione?* ☐ Sì ☐ No

Se presente, il dosaggio è ☐ Automatico ☐ Manuale

*Se presente, è stato implementato un sistema di controllo automatico del funzionamento
dell'impianto di disinfezione e di monitoraggio in continuo delle concentrazioni del
disinfettante?* ☐ Sì ☐ No

Notazioni: _____

Impianto d'acqua fredda sanitaria

*Se presenti più di un impianto d'acqua fredda sanitaria, tale sezione è da compilare
separatamente per ognuno di essi.*

Fonte di approvvigionamento dell'acqua all'impianto

- ☐ Rete idrica municipale
☐ Pozzo
☐ Mista

**Materiale/i delle
condutture:** _____

*Se sono presenti serbatoi di raccolta dell'acqua fredda destinata al consumo umano essi
sono:*

- ☐ In muratura ☐ Prefabbricati ☐ In cemento armato

Se prefabbricati essi sono isolati termicamente ☐ Sì ☐ No

Se presenti, il loro collegamento idraulico è ☐ In serie ☐ In parallelo ☐ Non applicabile

Numero serbatoi: _____

Capacità totale: _____

Capacità parziali: _____

Se presenti, è effettuato lo svuotamento e la pulizia almeno annuale dei serbatoi ☐ Sì ☐ No

**FR.4F.1) Se lo svuotamento e la pulizia almeno annuale dei serbatoi non è effettuata, essa è
compensata da un'azione di controllo alternativa?** ☐ Sì ☐ No ☐ Non applicabile (se non
presenti)



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONO" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Notazioni

FR.AF.2) ASSENZA di rami morti (linee di distribuzione mai utilizzate) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____

FR.AF.3) ASSENZA di linee di distribuzione caratterizzate da limitato utilizzo (indicativamente utilizzate meno di 20 minuti alla settimana) o rallentamento del flusso idrico ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____

FR.AF.4) ASSENZA di linee di distribuzione esterne o scarsamente/per nulla isolate termicamente

☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____

FR.AF.5) Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che tutte le temperature d'erogazione dell'acqua fredda sanitaria sono inferiori ai 20°C? ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate _____

FR.AF.6) Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che la temperatura di stoccaggio dell'acqua fredda sanitaria è inferiore ai 20°C? ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (se non presenti serbatoi di raccolta dell'acqua fredda sanitaria o se sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Notazioni: _____



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Lavori di ristrutturazione

Sono state effettuate modifiche nell'impianto idrico negli ultimi 12 mesi? ☐ Sì ☐ No

Descrizione tipologia
d'intervento: _____

Impianto d'acqua calda sanitaria

Se presenti più di un impianto d'acqua calda sanitaria, tale sezione è da compilare
separatamente per ognuno di essi.

Fonte di approvvigionamento dell'acqua all'impianto

- ☐ Rete idrica municipale
☐ Pozzo
☐ Mista

Materiale/i delle
condutture: _____

Presenza di bollitori/serbatoi di raccolta dell'acqua calda sanitaria ☐ Sì ☐ No

Se presenti, essi sono isolati termicamente ☐ Sì ☐ No

*Se presenti, più di un bollitore/serbatoio centralizzato di alimentazione per singolo impianto
di acqua calda sanitaria, il loro collegamento idraulico è* ☐ In serie ☐ In parallelo ☐ Non
applicabile

Numero serbatoi: _____

Capacità totale: _____

Capacità parziali: _____

FR.AC.1) *Se presenti bollitori/serbatoi di raccolta dell'acqua calda sanitaria, è effettuato lo
spurgo regolare dalla loro valvola di fondo?* ☐ Sì ☐ No ☐ Non applicabile (se non presenti)

*Se presenti bollitori/serbatoi di raccolta dell'acqua calda sanitaria, è effettuata la loro
disinfezione almeno semestrale?* ☐ Sì ☐ No



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

FRAC.2) Se la disinfezione almeno semestrale dei bollitori/serbatoi non è effettuata, essa è compensata da un'adeguata azione di controllo alternativa? ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (se non presenti)

Notazioni: _____

FRAC.3) ASSENZA di rami morti (linee di distribuzione mai utilizzate) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____

FRAC.4) ASSENZA di linee di distribuzione caratterizzate da limitato utilizzo (indicativamente utilizzate meno di 20 minuti alla settimana) o rallentamento del flusso idrico ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____

FRAC.5) ASSENZA di linee di distribuzione esterne o scarsamente/per nulla isolate termicamente ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____

FRAC.6) Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che tutte le temperature d'erogazione dell'acqua calda sanitaria sono superiori ai 50°C? ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Descrivere le misure di compenso, se applicate: _____



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

FR.AC.7) Il monitoraggio delle temperature ha evidenziato che la temperatura di stoccaggio dell'acqua calda sanitaria è superiore ai 60°C? ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (se non presenti serbatoi d'acqua calda sanitaria o se sono già in atto adeguate misure di compenso di tale fattore di rischio)

Notazioni: _____

Lavori di ristrutturazione

Sono state effettuate modifiche della rete idrica negli ultimi 12 mesi? ☐ Si ☐ No

Descrizione tipologia
d'intervento: _____

Impianto di raffreddamento a torre evaporativa/condensatore evaporativo

Presenza di torre di raffreddamento/condensatore evaporativo ☐ Si ☐ No

Esercizio ☐ Annuale ☐ Stagionale da _____ a _____

FR.IC.1) Se presente torre/condensatore, è applicato un trattamento biocida? ☐ Si ☐ No

Descrizione tipologia del trattamento biocida, se applicato: _____

FR.IC.2) Se presente torre/condensatore, è applicato un trattamento contro le corrosioni e le incrostazioni? ☐ Si ☐ No

Descrizione tipologia del trattamento contro le corrosioni e le incrostazioni, se applicato: _____

FR.IC.3) Se presente torre/condensatore, è effettuato un intervento di pulizia (chimica e/o fisica) e disinfezione biocida shock con frequenza media semestrale? ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Ispezione impianti aeraulici

Presenza di impianti aeraulici ☐ Si ☐ No

Se presenti, essi prevedono l'umidificazione dell'aria con l'utilizzo dell'acqua allo stato liquido?

☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

FR.L4.1) Se è utilizzato il sistema d'umidificazione dell'aria con l'utilizzo dell'acqua allo stato liquido, è presente un sistema di disinfezione od una procedura equivalente finalizzata al mantenimento di idonee condizioni d'igiene di tale acqua d'umidificazione? ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile (se non presente o scollegato definitivamente il sistema d'umidificazione dell'aria con l'utilizzo dell'acqua allo stato liquido)

Se presente, il trattamento dell'acqua d'umidificazione applicato è: _____

Se presente un sistema di disinfezione dell'acqua d'umidificazione, il disinfettante usato è: _____

Se presente un sistema di disinfezione, è disponibile la Scheda di Sicurezza del disinfettante ad indicarne la sua composizione? ☐ Si ☐ No

Se presente un sistema di disinfezione, il dosaggio è ☐ Automatico ☐ Manuale

Notazioni: _____

FR.L4.2) E' previsto un programma di regolare ispezione, pulizia e sanificazione degli impianti aeraulici? ☐ Si ☐ No



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Notazioni: _____

Ispesione altri impianti idrici

Presenza di riuniti odontoiatrici ☐ Si ☐ No

FR.RO) Se presenti, è applicato ad essi uno specifico piano di manutenzione, che ne preveda un'adeguata pulizia e disinfezione? ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Presenza di piscine ☐ Si ☐ No

FR.PI) Se presenti, è applicato ad esse uno specifico piano di manutenzione, che ne preveda un'adeguata pulizia e disinfezione? ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Presenza di vasche idromassaggio ☐ Si ☐ No

FR.VI) Se presenti, è applicato ad esse uno specifico piano di manutenzione, che ne preveda un'adeguata pulizia e disinfezione? ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Presenza dell'impianto d'irrigazione ☐ Si ☐ No

FR.IR) Se presente, esso è esercitato in orari e/o modalità tali da minimizzare l'esposizione ad aerosol d'acqua rilasciati dall'impianto? ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____

Presenza di fontane ☐ Si ☐ No



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Le fontane sono ☐ All'interno dell'edificio ☐ All'esterno dell'edificio

FR.FO) Se presenti, è applicato ad esse uno specifico piano di manutenzione, che ne preveda un'adeguata pulizia e, se valutato necessario, disinfezione? ☐ Si ☐ No

Notazioni: _____



Fattori di Rischio (FR) individuati - Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi per le seguenti tipologie d'impianti: acqua fredda e calda sanitaria, a torre evaporativa o condensatore evaporativo ed aeraulici.

La stima è da ottenersi seguendo i 2 passaggi definiti a seguire:

1. Si sommino il numero di domande di rischio (identificate dall'acronimo FR) per le quali è stata fornita risposta negativa (No).

Non si devono pertanto conteggiare né le domande di rischio (FR) per le quali è stata fornita risposta positiva (Si) né le domande di rischio (FR) per le quali la domanda di rischio non era applicabile al caso specifico.

2. Si verifichi, nella tabelle a seguire, specifiche per ciascuna tipologia d'impianto considerato (acqua fredda e calda sanitaria, a torre evaporativa o condensatore evaporativo ed aeraulici), ove ricada il numero ottenuto. Le tabelle forniscono le indicazioni per la stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio legionellosi di ciascun impianto oggetto di tale preliminare Valutazione:

IMPIANTO ACQUA FREDDA SANITARIA		
Numero di domande di rischio (FR.AF) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale o superiore a 5	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.AF).	3 su 3
Compreso tra 2 e 4	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei Fattori di Rischio individuati (FR.AF).	2 su 3
Inferiore o uguale a 1	Controllo del Rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al Fattore di Rischio (qualora) individuato (FR.AF) e ridurlo ove possibile	1 su 3

IMPIANTO ACQUA CALDA SANITARIA		
Numero di domande di rischio (FR.AC) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale o superiore a 5	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.AC).	3 su 3
Compreso tra 2 e 4	Controllo del Rischio da	2 su 3



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della legionellosi

	migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei Fattori di Rischio individuati (FR.AC).	
Inferiore o uguale a 1	Controllo del Rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al Fattore di Rischio (qualora) individuato (FR.AC) e ridurlo ove motivato opportuno.	1 su 3

IMPIANTO A TORRE EVAPORATIVA - CONDENSATORE EVAPORATIVO		
Numero di domande di rischio (FR.TC) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale a 3	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.TC).	3 su 3
Uguale a 2	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo dei Fattori di Rischio individuati (FR.TC).	2 su 3
Uguale o inferiore a 1	Controllo del Rischio complessivamente adeguato. Prestare comunque attenzione al Fattore di Rischio (qualora) individuato (FR.TC) e ridurlo ove motivato opportuno.	1 su 3

IMPIANTO AEREAULICO		
Numero di domande di rischio (FR.IA) alle quali è stata fornita risposta negativa (No)	Stima dell'attuale livello di Controllo del Rischio Legionellosi	Livello di Rischio
Uguale a 2	Controllo del Rischio da incrementare immediatamente, intervenendo sui fattori di Rischio individuati (FR.IA).	3 su 3
Uguale a 1	Controllo del Rischio da migliorare, attivando celermente azioni di controllo del Fattore di Rischio individuato (FR.IA).	2 su 3

ALTRI IMPIANTI IDRICI
Per tale categoria d'impianti, l'avere fornito risposta negativa alla rispettiva domanda di rischio (FR.RO, FR.PI, FR.VI, FR.IR, FR.FO), determina che il Controllo del Rischio sia da

Data: 21/10/2022

Rev. 0

Pag. 93 di 102

Questo documento è di proprietà dell'A.O.U.P. di Palermo e non può essere usato, riprodotto o reso noto a terzi senza autorizzazione.



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONE" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

incrementare immediatamente, intervenendo sulla mancanza individuata.

Schema di conteggio del numero di domande di rischio (identificate dall'acronimo FR) per le quali è stata fornita risposta negativa (No). In caso di molteplici impianti appartenenti alla medesima categoria (acqua fredda sanitaria, acqua calda sanitaria, torre/condensatore evaporativo, aeraulico) è necessario rispondere alla rispettiva serie di domande di rischio, per ogni impianto idrico/aeraulico presente, oggetto di valutazione.

FR.AF.1) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AF.2) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AF.3) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AF.4) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AF.5) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AF.6) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile

Numero totale di domande di rischio per le quali è stata fornita risposta negativa
(No): _____

Livello di Rischio: _____

FR.AC.1) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AC.2) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AC.3) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AC.4) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AC.5) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AC.6) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FR.AC.7) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile

Numero totale di domande di rischio per le quali è stata fornita risposta negativa
(No): _____

Livello di Rischio: _____

FR.IC.1) ☐ Si ☐ No
FR.IC.2) ☐ Si ☐ No
FR.IC.3) ☐ Si ☐ No

Numero totale di domande di rischio per le quali è stata fornita risposta negativa
(No): _____

Livello di Rischio: _____

FRLA.1) ☐ Si ☐ No ☐ Non applicabile
FRLA.2) ☐ Si ☐ No

Numero totale di domande di rischio per le quali è stata fornita risposta negativa
(No): _____



AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
POLICLINICO (A.O.U.P.) "P. GIACCONI" PALERMO

DIREZIONE SANITARIA DI PRESIDIO

Protocollo per la prevenzione, la sorveglianza ed il controllo della
legionellosi

Livello di Rischio: _____

Interventi raccomandati

Nome e Cognome del Tecnico dell'Organo Pubblico di Controllo chi ha effettuato la
valutazione del rischio: _____

Data e firma: _____



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 compromessa da ripetuti shock termici soprattutto in presenza di tubazioni in materiale plastico.

Durante il trattamento è necessario interdire l'uso dell'acqua calda sanitaria da parte degli utenti e degli operatori al fine di evitare il rischio di ustioni.

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 bollitore) viene impiegato nel controllo della temperatura di distribuzione di acqua calda a 48-53°C. In base alle temperature utilizzate, la *Legionella* non può svilupparsi nei bollitori, ma soltanto nelle reti di distribuzione e di ricircolo.

La disinfezione termica di questi impianti viene effettuata applicando la seguente procedura:

- si innalza 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 distribuita 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 temperatura, il batterio della *Legionella* può colonizzare sia i bollitori che le reti di distribuzione e di ricircolo. La disinfezione termica di questi impianti non è agevole dal momento che:

- possono essere utilizzati solo sistemi di regolazione a punto fisso con almeno due livelli (quello di esercizio a 48-50°C e quello di disinfezione a 65°C);
- è difficile tenere sotto controllo il tempo di disinfezione in quanto occorre elevare la temperatura non solo ai bollitori, ma anche nelle reti di distribuzione;
- anche dopo il trattamento, si è costretti a distribuire acqua troppo calda, non essendo presente una regolazione indipendente a valle dei bollitori.

Normalmente, considerando tali difficoltà, è opportuno modificare il sistema di regolazione adottando quello basato sull'uso del termostato e del miscelatore.

Irraggiamento UV

La luce ultravioletta a 254 nm è in grado di inattivare i batteri dimerizzando la timina presente nel DNA in modo da ostacolare 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

È 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 qualitativo 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

Il 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 trihalometani 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.

Ionizzazione 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'acqua. 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'acqua (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.