

Legionella pneumophila in ospedale, un problema superabile.

G. Agolini*, G. Anzalone**, A. Benini°, A. Raitano^, M. Vitali#

Parole chiave

Legionella
Clinica
Prevenzione

Key words

Legionnaires' disease
Clinical aspects
Prevention

*Farmacologia, Dip. Sci.

Biomed, Università di Trieste

**Sez. Aggr. Pneumologia,
Ospedale Misericordia e Dolce,
Prato

°Farmacia, Ospedale
S. Maria Annunziata, Firenze

^Scuola di Specializzazione in
Farmacia Ospedaliera,
Università di Bologna

#Ist. Igiene, Università "La
Sapienza", Roma

RIASSUNTO

L'associazione tra presenza della Legionella nell'acqua potabile e nell'acqua calda degli ospedali e "malattia dei legionari" è un noto esempio del ruolo dell'ambiente come causa di infezioni nosocomiali. Gli autori ne esaminano l'eziopatogenesi, gli aspetti clinici, la diagnosi e la terapia.

Per la prevenzione, mentre si esclude l'utilità degli antisettici, si evidenziano pregi e difetti dell'iperclorazione dell'acqua con ipoclorito di sodio o con biossido di cloro, dell'uso della monocloramina, dell'ozono, dei raggi UV, del surriscaldamento, della ionizzazione rame/argento e di altri metodi di trattamento dell'acqua per ridurre i conseguenti casi di polmonite.

ABSTRACT

LEGIONELLOSIS, A PREVENTABLE DISEASE - The presence of Legionellae in drinking water and in hot water is the main cause of Legionnaires' disease in hospitals and an example of the role of environment in the acquisition of some nosocomial infections. The authors review symptoms and signs, diagnosis and treatment of Legionellosis.

Antiseptics and surface disinfectants have no space in prevention of this sporadic, endemic or epidemic disease. Chlorination with sodium hypochlorite or other chlorine compounds, superheating, copper/silver ionization, UV radiation, ozone and other treatments of drinking and hot waters, if rationally used, may contribute substantially to avoiding this preventable pneumonia.

IN UNA PRECEDENTE PUBBLICAZIONE

abbiamo sottolineato l'inutilità degli antisettici e della totalità dei disinfettanti di superficie nella prevenzione delle infezioni da *Aspergillus fumigatus* nei pazienti soggetti a trapianto: nel 99% dei casi, la trasmissione di questo micete è infatti aerogena e non avviene tramite contatti diretti od indiretti con personale o altri pazienti contaminati².

Antisettici e disinfettanti superficiali, anche se molto attivi sullo *Ps. aeruginosa*, possono, a loro volta, non essere in grado di prevenire infezioni nosocomiali, se questo germe è presente nell'acqua "potabile" ospedaliera, nell'acqua dei vasi di fiori nelle stanze dei pazienti immunodepressi, nelle verdure fresche delle cucine, nelle medicazioni ortopediche, in certe preparazioni di iodio PVP, ecc.³.

L'inutilità degli antisettici e della disinfezione di superficie, sia pure in modo diverso da quanto accade con l'*Aspergillus* e, in parte, con lo *Pseudomonas*, si evidenzia anche nella prevenzione delle legionellosi ospedaliere, (di cui non è mai stata dimostrata la trasmissione da persona a persona).

In questa nota verranno analizzate l'eziopatogenesi di questa malattia, le possibilità diagnostiche, le manifestazioni cliniche e le terapie specifiche, nonché i sistemi risultati più validi per prevenire o bloccare in modo efficace la diffusione intra- ed extra-ospedaliera.

■ Eziopatogenesi

dell'infezione polmonare

Le Legionelle sono un gruppo di germi, di cui, in pochi anni, sono state identifi-

cate oltre 40 specie; la metà circa può essere patogena per l'uomo, anche se in più dell'80% dei casi le infezioni sono dovute solamente alla *Legionella pneumophila*^{1,9,60,71}.

La Legionella si presenta talora come coccobacillo, più spesso come bastoncino sottile, più o meno lungo, dotato di pili e di flagelli polari. E' un Gram-negativo, aerobio, non sporigeno, produttore di potenti esoproteasi, che sopprimono la leucocitosi ed inducono la citolisi.

La polmonite da *L. pneumophila* si riscontra in sede extra-ospedaliera, prevalentemente in casi sporadici e raramente come epidemie; in sede nosocomiale, come infezioni endemiche, raramente epidemiche⁶⁰.

Fattori predisponenti, di frequente riscontro nei pazienti ricoverati nei reparti critici, sono: l'immunosoppressione (soprattutto da corticosteroidi), l'età avanzata, le malattie polmonari ostruttive croniche (COPD) (talora "superinfettate" dalla Legionella), la necessità di ventilazione meccanica sia nei neonati che negli adulti, il fumo, ecc.^{39,48,60,67,70,78,82,88,94,95}.

Fattori determinanti: gli aerosol prodotti da rubinetti, docce, lavapappeti, fontane decorative, tubi nasogastrici, unità idriche odontoiatriche, bacinelle per il lavaggio degli occhi, bagni, piscine, condizionatori, nebulizzatori, ventilatori (anche manuali), umidificatori, tubi per tracheotomia, altre attrezzature per l'assistenza respiratoria, ecc., che utilizzano, nei modi più diversi, acqua contaminata, talora fortemente, dal germe proveniente da torri di raffreddamento, da "addolcitori", da serbatoi, da conduttore dell'acqua potabile, ecc.^{13,15,18,25,30,40,50,71,80,85,93}.

Infezioni da Legionella si possono avere anche nei reparti di endoscopia, in cui, invece di acqua sterile per il lavaggio finale degli en-

doscopi disinfettati con glutaraldeide, si usi acqua potabile contaminata dal germe; sono così possibili epidemie e pseudoepidemie, queste ultime quando il germe, riscontrato nei campioni di BAL (lavaggio broncoalveolare) prelevati dai pazienti, rimane senza conseguenze cliniche e senza risposta sierologica⁶³.

Alcuni casi di legionellosi sono tipici dei paesi ove si verificano. Negli Stati Uniti sono di largo impiego sia le macchine che producono cubetti di ghiaccio che i distributori di acqua fredda da bere; il calore che si sviluppa in queste macchine può favorire talora, specie nelle linee di rame, lo sviluppo della Legionella, germe che invece può restare irreperibile in altri apparecchi ospedalieri. La Legionella può poi venire eliminata dalle macchine del ghiaccio e dai distributori di acqua fredda, ad es., con un trattamento per 2 ore con ipoclorito di sodio al 5,2% = 52.000 ppm di cloro disponibile^{30,69,80}.

La letteratura riporta un caso verificatosi in un reparto di rianimazione di un ospedale nello stato di New York, dove un paziente immunodepresso, che aveva già una polmonite interstiziale di origine ignota ed era in ventilazione controllata, si è infettato ad opera della Legionella per microaspirazione dell'acqua dei cubetti di ghiaccio ingeriti³⁰.

(Recentemente il ghiaccio e le macchine che lo producono sono stati oggetto di esame anche da parte di Rutala⁸⁰).

Qualunque sia l'origine dell'acqua contaminata, una volta inspirata, la Legionella raggiunge gli alveoli, ove, come riferito, dopo averne invasi i macrofagi ed i leucociti polinucleati, si sviluppa e causa la malattia^{1,12}.

Si deve ricordare che, mentre la Legionella può essere dimostrata nelle polmoniti in percentuali che

vanno dall'1% al 15%, la mortalità può essere elevata: fino all'80% nei pazienti che presentano malattie basali o fattori predisponenti⁶⁰ e nei quali la terapia specifica non sia stata immediata⁷⁰.

Negli Stati Uniti, i dati degli anni 1980-1989 hanno riferito di 3.524 casi di legionellosi, dei quali il 23% nosocomiale e per i quali la mortalità era stata del 40%¹⁵. Negli anni 1987-1996, in un ospedale universitario nordamericano, specializzato in trapianti, si sono evidenziati 25 casi di legionellosi con una mortalità del 48%⁴⁰.

Una percentuale poco diversa è stata riferita da successivi dati inglesi. Su 196 casi di legionellosi ospedaliera, 30 si sono avuti in trapiantati e 31 in immunodepressi: la mortalità, in questi 61 pazienti, è stata del 41%⁷².

Nel 1997, in Inghilterra e nel Galles si sono avuti 226 casi di legionellosi: l'80% come casi isolati, acquisiti nelle comunità; solo 6 di origine ospedaliera (a riprova di una più efficace prevenzione)³⁶. Anche nell'ospedale nordamericano sopracitato, dopo il settembre 1996, in seguito ad appropriate misure preventive, non si è avuto alcun caso di legionellosi nosocomiale⁴⁰.

In totale, nel 1996, negli USA i casi di legionellosi sono stati 21.337; oggi non dovrebbero essere più di 10.000-15.000 all'anno, con percentuali molto basse nei reparti trapianti.

Anche in Inghilterra il numero totale delle legionellosi è oggi ridotto. In altre parti del mondo il numero di queste infezioni è invece largamente sottostimato^{28,55,70}.

■ Aspetti clinici della polmonite da Legionella

Dopo una incubazione di 2-10 giorni, l'infezione si manifesta abitualmente con febbre alta, mal di

testa, mialgie, brividi, debolezza, in assenza di tosse produttiva; solo in un secondo tempo si hanno difficoltà respiratorie, sputo ematico o purulento.

Le localizzazioni extra-polmonari sono rare⁴⁵, mentre, al contrario, i sintomi extra-polmonari, quali diarrea, vomito, ecc. sono frequenti^{60,78}.

Il quadro radiologico rivela, di regola, un infiltrato polmonare ed una effusione pleurica unilaterali; solo in alcuni casi questi si fanno bilaterali e sono sempre a lenta risoluzione⁸².

Nei soggetti più giovani e non immunodepressi, la *L. pneumophila* causa talora una malattia "similinfluenzale": la "Malattia di Pontiac", priva di interessamento polmonare, con febbre, mialgie, mal di testa, vomito, diarrea, ecc.; comunque, raramente si hanno complicazioni^{25,60}.

In ospedale, se la sintomatologia della legionellosi è iniziata dal secondo al decimo giorno del ricovero, si hanno molte probabilità che si tratti di infezione nosocomiale; se il paziente non ha lasciato l'ospedale per 11-15 giorni, la causa è certamente "intra-ospedaliera"^{28,39,40}.

■ Legionella ed ambiente

Le Legionelle, anche se abitualmente in numero ridotto, sono germi ubiquitari, che si trovano nell'acqua dei fiumi e dei laghi, nelle acque profonde ed in quelle vulcaniche, nonché spesso nelle acque potabili.

Le Legionelle non sono di sviluppo rapido e facile nelle acque fredde, mentre crescono preferibilmente nelle acque calde tra 30° e 40° C³⁰ e sopravvivono anche se esposte, per tempi molto brevi, a temperature di 60° C^{57,64,72,78,83}.

Nell'acqua crescono ancora più rapidamente nelle amebe e in altri protozoi, ove vedono aumentare la loro virulenza: le cisti inoltre le difendono dal cloro e ne consen-

tono la presenza per lunghi periodi nei "biofilm"^{1,10,33,50,70,72,78,92,93}.

Il germe colonizza i serbatoi, le linee corrose, le zone "morte", le zone di rallentamento del flusso con sedimenti ed in genere le condutture di distribuzione idrica, in certe zone geografiche, in singoli alberghi o campings, navi, costruzioni urbane, ecc., infine anche negli ospedali^{13,25,39,50,55,70,80,92}.

Non per niente, in Francia, ove si difende giustamente anche il turismo, la legge richiede la segnalazione di ogni caso di legionellosi, con apposite ricerche epidemiologiche se si hanno più di due casi di polmonite da detto germe in una stessa area³⁵.

Per quanto riguarda gli ospedali, è vero che la Legionella non si riscontra nell'acqua potabile di "tutti" i nosocomi che vengono esaminati, ma è soprattutto negli ospedali che si concentrano malati anziani, immunodepressi, trapiantati, ecc.^{25,50,51,55,72,78,79,88,95} ed è quindi in tale sede che si deve focalizzare la ricerca, anche perché questa, una volta iniziata appropriatamente, evidenzia il germe in alta frequenza¹⁸.

Che, d'altra parte, l'acqua sia alla base della infezione extra- ed intra-ospedaliera risulta evidente, perché:

- 1) il germe viene spesso isolato nell'acqua potabile alla quale sono stati esposti i pazienti con legionellosi;
- 2) la Legionella, che si evidenzia nell'acqua, risulta di regola identica a quella isolata dai pazienti;
- 3) l'iperclorazione, il superiscaldamento dell'acqua calda ospedaliera, od altri trattamenti efficaci sono di regola seguiti da un calo e talora dalla scomparsa delle legionellosi.

In 4 studi controllati, la legionellosi nosocomiale era assente negli ospedali in cui l'acqua potabile e l'acqua calda erano prive del germe specifico^{57,64,95}.

■ Diagnosi

Abbiamo già visto, come, specie in soggetti giovani, la presenza di tosse, espettorazione, dolore toracico in assenza di sintomi extra-polmonari, possono indirizzare la diagnosi verso polmoniti di diversa origine batterica, non da Legionella.

La diagnosi sicura di polmonite da Legionella oggi è possibile sulla base dei dati di laboratorio.

Poter evidenziare, ad es. con la colorazione di Gram, la presenza della Legionella in prelievi effettuati da colture cellulari, in macrofagi alveolari o in leucociti polinucleati o in altri campioni in esame, offre una possibilità rapida per la diagnosi della "malattia dei legionari"⁷⁸. Purtroppo i risultati sono variabili, anche per difficoltà intrinseche dei vari metodi di colorazione utilizzati; eventuali evidenze positive possono comunque essere molto utili³⁹. Per le prove colturali, non facili perché bisogna usare terreni speciali⁹¹, va tenuto presente che, nella raccolta e nel trattamento dei campioni, i ripetuti congelamenti e scongelamenti, come gli eventuali riscaldamenti per più di 1 minuto a 60° C oppure per 30 minuti a 50° C inattivano la Legionella⁷⁸; nella raccolta dei campioni di BAL c'è anche la possibilità di errori diagnostici causati da broncoscopi contaminati⁶³.

I metodi colturali sono di varia sensibilità (dal 50% all'80%) mentre risultano di alta specificità, il 100%⁴².

In una bimba, che aveva subito un trapianto di midollo per una leucemia, le colture batteriche, fatte con i metodi abituali, risultarono "sterili"; le successive colture, appropriate, evidenziarono il germe⁴⁴. Anche la immunofluorescenza indiretta non garantisce risultati univoci, per la presenza talora di fluorescenza nel materiale amorfo derivato dai macrofagi lisati, op-



pure negli antigeni dei germi molto danneggiati dalla terapia antibiologica^{19,47,94}.

La conversione sierologica è importante, ma talora inconsistente e spesso tardiva: di regola richiede da 3 a 6 settimane^{39,40,60}.

Il radioimmunosaggio degli antigeni nell'urina, nello sputo o nelle secrezioni del tratto respiratorio, o nel siero, è invece un metodo rapido e sensibile (circa al 90%) e specifico (al 100%)^{19,31,39,47}. Purtroppo questo test non rivela tutti i vari sierotipi di *Legionella*^{39,60}. Poiché inoltre l'escrezione dell'antigene urinario inizia dopo tre giorni di malattia e dura anche un anno, la positività può conseguire non una polmonite specifica in atto, ma una polmonite precedente^{8,31}.

L'identificazione del germe con i kit commerciali per la PCR: Binax (R); Biotest (R), ecc., è ritenuta facile e rapida, in grado di rivelare in poche ore gli acidi nucleici della *Legionella*^{22,40,94}.

La PCR dà un importante contributo per una migliore comprensione dell'ecologia microbica e dei metodi di trasmissione di questo germe⁸. Consentendo inoltre l'identificazione sicura del clone riscontrato, ne evidenzia anche l'origine: interna od esterna all'ospedale^{14,31,81}.

Purtroppo molti ospedali, non disponendo dei test specifici di laboratorio, non hanno ancora acquisito esperienza in merito⁷⁸.

Negli Stati Uniti, ad es., in un ospedale in cui per anni si era affermato che non si erano verificati casi di legionellosi, questi risultarono invece spesso presenti dal momento in cui si adottarono mezzi diagnostici adeguati^{16,31,70}.

■ Terapia

Anche se nuovi chemioterapici sono allo studio^{10,24,96}, la terapia della legionellosi si basa sull'uso dell'eritromicina o dell'azitromicina, talo-

ra associate a rifampicina; anche la ciprofloxacina, la levofloxacina od altri fluorochinoloni possono risultare efficaci^{12,29,38,82}.

Secondo alcuni Autori sono sufficienti 3 giorni di terapia⁸²; secondo altri, questa va invece continuata a lungo, al fine di evitare ricadute⁶⁰.

In casi di forti depressioni cardiocircolatorie, le tossine prodotte dal germe possono venire eliminate con la emofiltrazione⁵⁶.

Il problema fondamentale della terapia contro la legionellosi non risiede tanto nella efficacia dei chemioterapici (poiché, fra l'altro, non sono stati nemmeno riferiti ceppi di *Legionella* con resistenza acquisita), quanto invece nella tempestività dell'applicazione. Ritardarne di giorni l'inizio, come spesso accade, può comportare l'inefficacia della cura per il precipitare della situazione patologica, ad es., nei vecchi con altre malattie croniche, negli immunocompromessi, nei bambini, ecc., soggetti che infatti presentano la più alta mortalità^{12,24,49,67,94}.

Da qui l'interesse per metodi diagnostici non solo specifici, ma anche rapidi nel fornire i risultati²⁷.

■ Prevenzione

Le prime "linee guida" per la prevenzione della legionellosi sono state proposte in Inghilterra nel 1991²⁵; negli Stati Uniti nel 1994⁴⁰. In aggiunta ai miglioramenti diagnostici, conseguenti anche ad una maggiore attenzione da parte di clinici e microbiologi²⁵, la prevenzione tuttora si basa con frequenza su accorgimenti ingegneristici relativi al sistema idrico, sulla iperclorazione sia a breve termine (*shock chlorination*) che prolungata e sul surriscaldamento dell'acqua (usati singolarmente od in associazione), oppure su altri metodi ad effetto prevalentemente "locale".

Nei modi suddetti viene spesso trattata l'acqua potabile e quella calda delle torri di raffreddamen-

to, dei serbatoi, delle tubature ospedaliere, ecc.^{25,39,57,66,72,85,86,91}.

Come accennato, per necessità ridotte, ad es., per il trattamento solo dell'acqua potabile da usare per i vari scopi nei reparti critici (trapianti, terapie intensive, neonatologie, ecc.) si possono usare "boiler" oppure altre disinfezioni "in loco", effettuate (dopo filtrazione iniziale dell'acqua per ridurre i sedimenti) mediante trattamento con ozono oppure con raggi UV o con filtri antibatterici applicati a rubinetti, docce, ecc. o con altri sistemi.

L'ozono, dotato di un potenziale di ossidoriduzione (V=2,07) più elevato di quello del cloro gassoso (V=1,36) e dell'acido ipocloroso (V=1,49), è attivo contro germi vegetativi, spore, virus e protozoi e viene utilizzato con frequenza in Europa per la potabilizzazione dell'acqua, per la disinfezione dei condizionatori d'aria, ecc.

L'ozono ha una notevole efficacia contro la *Legionella*: la dose minima attiva "in vitro", in 20 minuti, è di soli 0,34 mg/l²³; per di più l'ozono è disinfettante molto valido contro le amebe ed altri protozoi, nei quali, come riferito, la *Legionella* si sviluppa particolarmente bene ed i quali, per di più, riducono sostanzialmente l'attività biocida del cloro^{4,5}.

Contro l'ameba, ad es., 1 ppm di ozono è efficace in 5 minuti, per cui considerando che la vita media del gas nell'acqua potabile è di 30 minuti, le quantità di gas di 1-5 ppm rese disponibili dagli ozonizzatori possono risultare efficaci sulla base del parametro C X T (concentrazione per tempo di contatto)^{4,5}.

L'impiego esclusivamente "locale" dell'ozono, degli UV e di diversi altri metodi di disinfezione è conseguenza inevitabile della mancata persistenza di efficacia di questi trattamenti nelle linee di distribuzione^{4,5}.

Come acqua da bere, per il lavag-

gio dei denti, ecc., nei reparti critici si può utilizzare acqua in bottiglia oppure acqua sterile, se sottoposte a periodici controlli batteriologici^{8,26,32,39,40,50,55,57,72,73}.

In letteratura è riferito il caso di un reparto di trapianti renali in cui le infezioni da *Legionella* scomparvero quando l'acqua in arrivo venne disinfettata con i raggi UV e al posto dei corticosteroidi, per l'immunosoppressione, si usò la ciclosporina, in grado di assicurare il vantaggio aggiuntivo di una attività antiprotozoaria⁷³.

Abbiamo già accennato al fatto che la *Legionella*, di per se "non" sensibilissima al cloro⁸⁶, diventa talora ancor più resistente a questo alogeno (fino a concentrazioni superiori a 50 ppm) quando si trova inglobata nei protozoi presenti nei "biofilm" esistenti nelle linee "morte" oppure a flusso lento delle condutture, ecc.^{33,72,83,86}.

Nelle linee di distribuzione dell'acqua potabile si ritiene che si debbano riscontrare, come minimo, quantità di cloro disponibile almeno superiori a 0,6 ppm⁴. Si ricordi che in certi reparti gli "addolcitori", necessari per correggere la "durezza" dell'acqua, riducono la presenza dell'alogeno; di fatto, nelle linee di distribuzione periferica dell'acqua potabile, per l'una o l'altra ragione, è frequente constatare quantità molto inferiori di cloro^{40,75}. Contro la *Legionella*, nei trattamenti "acuti", secondo l'HICPAC (Hospital Infection Control Practice Advisory Committee), è necessario raggiungere "alla periferia" ("at the tap"), almeno 10 ppm (10 mg/l) di cloro per 5 minuti²⁸.

Aumentare, mediante l'uso di iniettori, la concentrazione dell'alogeno a 6 ppm^{50,57}, oppure a 10-20 ppm^{22,40} e, soprattutto, superare i 50 ppm (50 mg/litro) per tempi lunghi (ore e giorni), può aggravare notevolmente i fenomeni di corrosione delle condutture^{33,50,73}.

Nelle iperclorazioni, il timore per la presenza di alometani, potenzialmente cancerogeni, è, a nostro parere, ingiustificato per le ridotte quantità di sostanze organiche abitualmente presenti nelle linee di distribuzione delle nostre acque potabili⁴ ed anche per l'uso solo estemporaneo dell'iperclorazione⁴. Negli ospedali in cui la legionellosi crea problemi ricorrenti (ed in cui le condutture idriche non siano rinnovabili) alla decontaminazione rapida con cloro (iperclorazione) è indispensabile, secondo alcuni Autori, garantire poi in continuità un'acqua potabile con cloro disponibile non inferiore a 1-2 ppm^{15,28,68}.

Un recente articolo del Lancet (1999), ricordato il largo impiego negli Stati Uniti della monocloramina per la "post-clorazione" delle acque potabili municipali, ha riferito come, studiando la distribuzione geografica degli ospedali che avevano avuto casi di legionellosi nosocomiale negli anni precedenti, si sia visto che detta malattia si è verificata meno frequentemente negli ospedali che usavano acqua sottoposta al trattamento di post-clorazione con la monocloramina al posto dell'ipoclorito di sodio⁴¹.

La monocloramina (NH₂Cl), che presenta una più lunga permanenza nelle linee di distribuzione ed una maggiore capacità di penetrare nei "biofilm"^{77,83}, non serve però per "l'iperclorazione" rapida. È noto da decenni che il suo potenziale di ossidoriduzione (V=0,75) è molto inferiore a quelli citati dell'ozono (V=2,07) e dell'ipoclorito (V=1,49) e che il parametro C X T (concentrazione per tempo di contatto), se paragonato a quello dell'ipoclorito, è molto svantaggioso nei riguardi non solo dei batteri (Figura 1)^{4,5}, ma anche nei riguardi dei protozoi⁵⁴.

Fra l'altro la monocloramina non è nemmeno di facile impiego, poiché si ottiene solo estemporaneamente, facendo agire il gas cloro

sull'ammoniaca: non è cioè sostanza facilmente disponibile e stabile, ad es. in polvere come la cloramina T (sodio-p-toluen-sulfoncloramide).

Riassumendo, in certe aree geografiche, in grossi complessi abitativi od ospedalieri per evitare la legionellosi può esser preferibile, a lungo termine, usare un'acqua potabile "post-clorata" con monocloramina, al posto dell'ipoclorito di sodio, purché in ospedale ci si ricordi di inattivare la cloramina prima di usare l'acqua così trattata per i pazienti in emodialisi^{14,5,41,46,59,87}.

Se non ci fossero problemi di tossicità, per la post-clorazione a lungo termine, si potrebbe anche usare il biossido di cloro, che non comporta odori percepibili, sarebbe meno sensibile dell'ipoclorito di sodio ai valori alcalini del pH, meno corrosivo, nonché più efficace nel controllo della *Legionella*, anche in presenza di "biofilm"^{25,33}.

A proposito di iperriscaldamento, abbiamo già riferito come la *Legionella* si sviluppi più facilmente nell'acqua tiepida e come possa sopravvivere, per tempi molto brevi, a temperature fino a 60° C⁷²; nei serbatoi dell'acqua calda, per eliminare il germe, si è pertanto più sicuri se si raggiungono i 70° C per più giorni, facendo poi seguire flussi di acqua iperriscaldata attraverso tutti i rubinetti, le docce, ed, in genere, i siti periferici, per almeno 5-10 minuti, possibilmente per 30^{50,61,62,70,72,73}.

In alcuni ospedali³⁹ si ritiene poco costoso, efficace e comodo mantenere la temperatura dell'acqua calda sempre a circa 65° C⁷⁰. Questo metodo di trattamento non richiede attrezzature speciali e costa poco; va fatto però con attenzione per non ustionare pazienti e personale; talora viene associato alla iperclorazione a breve termine (*shock chlorination*).

Recentemente è stato proposto di portare l'acqua a bassa temperatura (5°-10° C), ovunque possibile,

per rendere più difficile lo sviluppo della Legionella, ed aggiungere poi all'acqua una sostanza polimerica ad attività antimicrobica, il PHMB (poli-esametilene-biguanide-cloridrato), di cui sono note sia la elevata efficacia antibatterica che la specifica azione inibente nei riguardi delle amebe. L'uso dei polimeri, inizialmente suggerito a scopo antisettico e conservante per cosmetici, e più recentemente per la disinfezione dell'acqua delle piscine, richiede, come minimo, conferma di atossicità, maggiore sperimentazione clinica e valutazione dei costi^{43,58}. Un altro metodo, in fase di crescente diffusione, per eliminare la Legionella dall'acqua, è la ionizzazione con rame/argento^{14,47,58,63,77,86,90,95}. Il raggiungimento di determinati livelli di apporto ionico richiede accurati servizi di mantenimento e di controllo, anche se, ad es., l'annerimento dell'acqua (da precipitazione di argento), ed eventuali depositi di questo metallo nei serbatoi idrici sembrano problemi facilmente evitabili^{50,86,90,95}. Comunque, nessun sistema di disinfezione da solo, e neanche la ionizzazione, garantisce un'efficacia del 100%^{15,28,64,86}. La disinfezione dell'acqua, e delle attrezzature che la utilizzano, va integrata dalle correzioni tecniche dei punti morti di distribuzione e dagli altri interventi "ingegneristici" che l'esperienza suggerisce, nonché da controlli batteriologici protratti e programmati nel tempo^{32,50,53,70,73,86,95}. Poiché questi interventi strutturali non sono sempre possibili, talora, come accennato, si debbono adottare misure correttive e di disinfezione "locali" per soli reparti critici: trapianti, terapie intensive, ecc.^{33,73}. All'Istituto di Ematologia dell'Università di Bologna, il "Seragnoli", non molti anni fa, per un problema di questo genere si sono dovute cambiare le tubature idrauliche di un reparto⁷⁴.

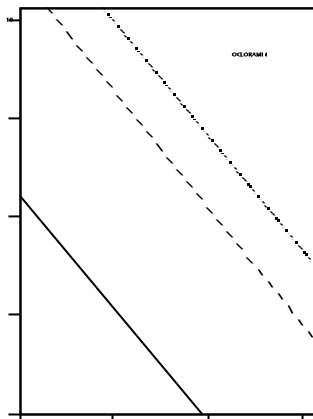


Fig. 1 - Comparazione dell'attività germicida dell'acido ipocloroso dello ione ipoclorito e della monochloramina nei riguardi dell'E. coli

Logicamente, queste modifiche, che possono riguardare anche solo le linee "morte" in "ali" abbandonate, vanno fatte con cautela, tenendo conto anche del fatto che certi materiali edilizi possono favorire lo sviluppo della Legionella⁵⁰. Resta dunque aperto il problema: "Come prevenire con sicurezza le legionellosi nei vari reparti e come controllare nel tempo l'efficacia dei sistemi adottati?". Anche per la Legionella è più importante prevenire che curare⁹⁵. Come abbiamo visto, il riscontrare la colonizzazione ospedaliera da Legionella non comporta solo problemi ingegneristici, ma anche la scelta, ad es., tra "l'impegnativo e noioso" surriscaldamento dell'acqua, l'iperclorazione "non scevra talora di grossi inconvenienti", la "costosa" ionizzazione rame/argento e, per pochi ambienti, l'uso di "boiler" o di ozono o di irradiazione UV, ecc.^{8,25,40,90,95}. Accertata l'origine dei casi di legionellosi nei ricoverati in ospedale (di origine esterna o nosocomiale), quando si riscontri, accanto all'infezione nosocomiale, la presenza del germe nell'acqua calda dei serbatoi, dei rubinetti, delle docce, ecc., si potranno fare le ricerche specifiche per la Legionella ed i suoi antigeni urinari in tutti i casi di polmonite nei pazienti ricoverati: questi controlli saranno utili, di tanto in tanto, anche negli ospedali ove non siano

stati segnalati ancora casi di legionellosi ospedaliere^{31,39,50}. In diversi ospedali probabilmente si evidenzieranno casi di legionellosi in precedenza non sospettati e si riscontrerà il germe nei sistemi idrici^{16,31}. A questo punto ci si potrà chiedere: "Quale valore dare alla presenza di Legionelle nell'acqua dell'ospedale?".

Il germe, quasi onnipresente nelle acque superficiali e profonde, è ritenuto evidenziabile in non meno del 30% delle acque ospedaliere⁹⁵. Qual è il livello di contaminazione da Legionella accettabile nelle condotte idriche degli ospedali?

Secondo "linee guida tedesche", l'acqua, che viene usata negli ospedali, dovrebbe contenere meno di 10 unità formanti colonia/ml³⁹. L'acqua da usare nei reparti critici deve esserne del tutto priva in conseguenza proprio dell'iperrecettività dei pazienti^{8,39,62}. Come accennato, anche a nostro parere, secondo quanto suggerito dall'Allegheny County Health Department, 1998, e da recenti pubblicazioni di responsabili dei Centers of Disease Control and Prevention^{31,95}, il comportamento dovrebbe variare nelle diverse situazioni. Si è trovata la Legionella nell'acqua dei serbatoi, dei rubinetti, delle docce ecc., degli ospedali?

Se la risposta è negativa, si dovrà continuare la sorveglianza microbiologica, almeno una volta all'anno, delle acque in uso^{15,50,95}. Se la risposta è risultata affermativa, si controlleranno i dati dei reparti clinici presumibilmente interessati, per vedere se si sono avuti eventuali casi di legionellosi.

Nel caso che la Legionella sia stata evidenziata nel sistema idrico ospedaliero e si siano avuti casi di legionellosi, si impongono la disin-

fezione dell'acqua dei serbatoi, dei rubinetti, delle docce, ecc., ed i relativi interventi ingegneristici ed altre misure preventive.

Se invece, pur essendosi trovate Legionelle nell'acqua dell'ospedale, non sono stati riferiti casi clinici di polmoniti causate da questo germe, negli ospedali grandi e medi si dovranno controllare le percentuali di rubinetti, docce e vari siti distali che risultino contaminati³¹.

Nel caso che la percentuale contaminata di detti siti periferici superi il 30%, si dovrà disinfettare il sistema idrico.

Se invece la percentuale di contaminazione periferica risulterà inferiore e se la carica batterica sarà bassa, si dovranno approfondire le ricerche di laboratorio in tutti i casi segnalati di polmonite, curando tutte le eventuali sospette legionellosi con una terapia macrolido-chinolonica. Nel caso di assenza di legionellosi cliniche e di germi specifici nel sistema idrico ospedaliero, come sopra accennato, si dovrà continuare estemporaneamente solo il controllo batteriologico centrale e periferico dell'acqua. E' opinione nostra e di altri specialisti⁵⁵ che la legionellosi sia prevenibile, anche se non sempre con facilità. ■

Bibliografia

1. Abu Kwaik Y, Gao LY, Stone BJ, et al. *Invasion of protozoa by Legionella pneumophila and its role in bacterial ecology and pathogenesis*. Appl Environ Microbiol 1998; 64: 3127-33.
2. Agolini G, Andolina M, Biffoni F, et al. *Aspergilloso polmonare, leucemie e trapianti*. Trasf. Sangue 1997; 42: 137-42.
3. Agolini G, Faraguna D. *Pseudomonas, un vecchio problema ospedaliero*. Giorn It Chemioter 1998; 45: 49-54.
4. Agolini G, Erice I, Gemiti F, Melissari G, Raitano A. *L'Ozono nella disinfezione dell'aria e dell'acqua*. Ossigeno-ozono Fitness news, 1999-2000, in stampa.
5. Agolini G, Gemiti F, Raitano A, Vitali M. *Utilizzazione delle proprietà microbiche dell'ozono nella prevenzione delle infezioni*. Giorn. It Infesz Ospedal, 1999; 6: 130-41.
6. Appelt, Sommer R, Kundt M. *Reproduzierbarkeit und Wiederfindungsrate einer Membranfilter- Methode zum kulturelle Nachweis*

von Legionella pneumophila in Wasserproben. Hyg Med 1996; 21 (Suppl 2): 25-6.

7. AWWA Committee on gasket materials for waterworks service: Committee reports: Gasket materials. Journal AWWA 1998; 90: 14-6.
8. Batt MD, Siccum S, White L, Ritman J. *Minimizing Legionella pneumophila in a retro-fitted autologous bone marrow transplantation unit*. Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 14/7, M50.
9. Benson RF, Fields BS. *Classification of the genus Legionella*. Sem Respir Infect 1998; 13/2: 90-9.
10. Bernander S, Kallings I. *Human parasites and amoeba: lower warmwater temperature is favourable to Legionella bacteria*. Lakartidningen 1998; 95: 4340-4.
11. Biurron A, Caballero L, Pelaz C, et al. *Treatment of a Legionella pneumophila colonized water distribution system using copper-silver ionization and continuous chlorination*. Infect Control Hosp Epidemiol 1999; 20: 426-8.
12. Breiman RF, Butler JC. *Legionnaires' disease: clinical, epidemiological and public health perspectives*. Semin Respir Infect 1998; 13/2: 84-9.
13. Brown CM, Nuorti P, Fields B, et al. *Community outbreak of Legionnaires'disease*. Abstr. 44 Ann Epidemic Intell Serv- Conf. Atlanta, Georgia 1995, March, 27-31.
14. Castellani Pastoris M, Ciceroni L, Lo Monaco R, et al. *Molecular epidemiology of an outbreak of Legionnaires' disease associated with a cooling tower in Genova Sestri Ponente, Italy*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16: 883-92.
15. Centers for Disease Control and Prevention. *Transmission of Legionnaires disease*. JAMA 1997; 277: 1927-8.
16. Chang FY, Jacobs SL, Colodny SM, et al. *Nosocomial Legionnaires' disease caused by L pneumophila serogroup 5: laboratory and serological implications*. J Infect Dis 1996; 174: 1116-9.
17. Chow JW, Yu VL. *Legionella a major opportunistic pathogen in transplant recipient*. Semin Respir Infect 1998; 13/2: 132-9.
18. Cole EC, Cook CE. *Characterization of infectious aerosols in health care facilities: an aid to effective engineering controls and preventive strategies*. AIC 1998; 26: 453-64.
19. Cunha BA. *Clinical features of legionnaires'disease*. Semin Respir Infect 1998; 13/2: 116-27.
20. Daschner FD. *Holy water, tap water, mineral water or water filters?* J Hosp Infect 1997; 35: 71-2.
21. Dychdala GR. *Chlorine and chlorine compounds*. In Block SS: Disinfection, sterilization and preservation. IV Ed, Lea & Febiger, Philadelphia 1991: 131-51.
22. Dominguez JA, Gali N, Pedrosa P, et al. *Comparison of the Binax Legionella urinary enzyme immunoassay (EIA Biotest - Germany) for detection of Legionella antigen in both concentrated and non concentrated urine samples*. J Clin Microbiol 1998; 36: 18-22.
23. Edelstein PH, Whittaker RE, Kreilking RL, Howell CL. *Efficacy of ozone in eradication of Legionella pneumophila from hospital plumbing fixtures*. Appl Environ Microbiol 1982; 44: 1330-34.
24. Edelstein PH, Edelstein MA. *In vitro activity of the ketolide HMR 3647 for Legionella spp., its*

pharmacokinetics in guinea pigs, and use of the drug to treat guinea pigs with Legionella pneumophila pneumonia. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43/1: 90-5.

25. Fallon RJ. *How to prevent an outbreak of legionnaires' disease*. J Hosp Infect 1994; 27: 247-56.
26. Farr BM. *What to do about high epidemic rate of infection*. In Wenzel RP: Prevention and control of nosocomial infections. III Ed. Williams & Wilkins, Baltimora, 1997: 163-73.
27. File TMR; Tan JS, Plouffe JF. *The role of atypical pathogens: Mycoplasma pneumoniae; Chlamidia pneumoniae; Legionella pneumophila in respiratory infection*. Infect Clin Dis North Am 1998; 12: 569-92, vii.
28. Fiore AE, Butler JC, Grace JC, Grace Emori T, Gaynes P. *A survey of methods used to detect nosocomial legionellosis among participants in the National Nosocomial Infectious Surveillance System*. Infect Control Hosp Epidemiol 1999; 20: 412-6.
29. Garcia de Lomas J, Millas E, Lazaro MA, et al. *A comparative study on the efficacy of new quinolone alatrofloxacin in the treatment of experimental legionellosis in guinea pigs*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17: 420-3.
30. Graman PS, Quinlan GA, Rnak JA. *Nosocomial legionellosis traced to a contaminated ice machine*. Infect Control Hosp Epidemiol 1997; 18: 637-40.
31. Goetz AM, Stout JE, Jacobs SL, et al. *Nosocomial legionnaires'disease discovered in community hospitals following cultures of the water system: seek and you shall find*. AIC 1998; 26: 8-11.
32. Guerrero IC, Filippone CA. *Cluster of legionnaires' disease in a community hospital: a clue to a larger epidemic*. Infect Control Hosp Epidemiol 1996; 17: 177-8.
33. Hamilton E, Seal DV, Hay J. *Comparison of chlorine and chlorine dioxide disinfection for control of Legionella in a hospital potable water supply*. J Hosp Infect 1996; 156-9.
34. Haugh C, Hone R, Smyth CJ. *Legionella in Dublin water supply*. Ir J Med Sci 1990; 159/1: 10-3.
35. Jarraud S, Reyrolle M, Riffard S, et al. *Legionnaires' disease in travellers*. Bull Soc Pathol Exot 1998; 91: 486-9.
36. Joseph CA, Harrison TG, Ilijic-Car D, et al. *Legionnaires'disease in residents in England and Wales*. Commun Dis Public Health 1998; 1/4: 252-8.
37. Jernigan DB, Hofman J, Cetron MS, et al. *Outbreak of Legionnaires'disease among cruise ship passengers exposed to a contaminated whirlpool spa*. Lancet 1996; 347: 494-9.
38. Klein NC, Cunha BA. *Treatment of legionnaires' disease*. Semin Respir Infect 1998; 13/2: 140-6.
39. Koehler JR, Maiwald M, Luech PC, et al. *Detecting legionellosis by unselected culture of respiratory tract secretions and developing links to hospital water strains*. J Hosp Infect 1999; 41: 301-11.
40. Kool JL, Fiore AE, Kioski CM, et al. *More than 10 years of unrecognized nosocomial transmission of Legionnaires'disease among transplant patients*. Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19: 898-904.
41. Kool JL, Carpenter JC, Fields BS. *Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial legionnaires'disease*. Lancet 1999; 353: 272-7.

42. Kucta JM, Navratel JS, Shepherd ME, et al. *Impact of chlorine and heat on the survival of Hartmanella vermiformis and subsequent growth of Legionella pneumophila.* Appl Environ Microbiol 1993; 59: 4096-100.
43. Kusnetov JM, Tulkki AI, Ahonen HE, Martikainen PJ. *Efficacy of three prevention strategies against Legionella in cooling water systems.* J Appl Microbiol 1997; 82: 763-8.
44. La Scola B, Michel G, Raoult D. *Isolation of L pneumophila by centrifugation of shell vial cell cultures from multiple liver and renal abscesses.* J Clin Microbiol 1999; 37: 785-7.
45. Larive S, Nguyen G, Auvray E, et al. *Acute pericarditis of unusual etiology.* Rev Pneumol Clin 1998; 54/3: 152-5.
46. Le Chevalier MW. *The case of maintaining a disinfectant residual.* Journal AWWA 1999; 91: 86-94.
47. Lepine LA, Jernigan DB, Butler JC, et al. *A recurrent outbreak of nosocomial Legionnaires' disease detected by urinary antigen testing: evidence for long term colonization of a hospital plumbing system.* Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19: 905-10.
48. Levy I, Rubin LG. *Legionella pneumonia in neonates: a literature review.* J Perinatol 1998; 18/4: 287-90.
49. Lin YE, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. *Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of Legionella pneumophila.* Wat Res 1996; 30: 1905-13.
50. Lin YE, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. *Legionella in water distribution systems.* Journal AWWA 1998; Sept. 113-21.
51. Lin YS, Stout JE, Yu VL, Vidic RD. *Disinfection of water distribution systems for Legionella.* Semin Respir Infect 1998; 13/2: 147-59.
52. Mc Eachern R, Campbell JD Jr. *Hospital-acquired pneumonia: epidemiology, etiology and treatment.* Infect Dis Clin North Am 1998; 12: 761-79.
53. Marchiaro G, Piccin N. *Dalla selezione dei patogeni emergenti alla sorveglianza mirata: il Laboratorio come risorsa per l'ICI nella prevenzione ed il controllo delle infezioni ospedaliere.* Quad ANIPIO 1996; 5 agosto: 55-61.
54. Marignas BJ, Rennecker JL, Ruffill KM, Rubin GA. *Inactivation of Cryptosporidium parvum oocysts with ozone, chlorine dioxide and monochloramine.* Abs Int Congr Crypto. Paris, 1999.
55. Mathis W, Deng MC, Meyer J, Junge Mathis E. *Fatal nosocomial Legionnaires disease after heart transplantation. Clinical course, epidemiology and prevention strategies for highly immunocompromised host.* J Hosp Infect 1999; 43: 242-6.
56. Matsubara S, Akashi S, Naitok K, et al. *Severe Legionella micdadei pneumonia effectively treated with hemofiltration therapy.* Nihon Koyuki Gakkai Zasshi 1998; 19/12: 886-90.
57. Matulonis U, Rosenfeld CS, Shaddock RK. *Prevention of Legionella infections in a bone marrow transplant unit: multifaceted approach to decontamination of a water system.* Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 14: 571-5.
58. May OW. *Polimeric antimicrobial agents.* In Block SS: Disinfection, sterilization and preservation. IV Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1991: 322-32.
59. Meeks UN. *Chloramine and carbon de-mystified.* Contemp Dialysis & Nephrol. 1988, July, 8-9, 21-22.
60. Merck Manual of Diagnosis and Therapy: *Pneumonia of Legionnaires' disease.* 17a ed., 1999, 608-9.
61. Mermel LA, Dempsey J, Paresatean S, et al. *An outbreak of Legionnaires' disease.* Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 14/7: M23.
62. Mietzner S, Schwillie RC, Farley A, et al. *Efficacy of thermal treatment and copper-silver ionization for controlling Legionella pneumophila in high volume hot water plumbing systems in hospitals.* AJIC 1997; 25/6: 452-7.
63. Mitchell DH, Hicks LJ, Chiew R, et al. *Pseudoepidemic of Legionella pneumophila serogroup 6 associated with contaminated bronchoscopes.* J Hosp Infect 1997; 37: 19-23.
64. MMWR-Morb Mortal Wkly Rep. *Sustained transmission of nosocomial Legionnaires' disease.* Arizona and Ohio 1997; 46/19: 416-21.
65. Moreno C, De Blas I, Miralles F, et al. *A single method for eradication of Legionella pneumophila from a potable waters systems.* Canad J Microbiol 1997; 43: 1189-96.
66. Muder RR. Book reviews: Frejire MR, Barba-ree JM. *Legionellae control in health facilities: a guide for minimizing risk.* Infect Control Hosp Epidemiol 1997; 38: 528.
67. Murphy OM, Gould FK. *Prevention of nosocomial infection in solid organ transplantation.* J Hosp Infect 1999; 42: 177-83.
68. Norton CD, Le Chevalier MW. *Chloramination: its effect on distribution system water quality.* Journal AWWA 1997; 87: 66-77.
69. NZ. *Winning the war against microbes.* Journal AWWA 1998; 89: 65.
70. Pannuti CS. *Hospital environment for high risks.* In Wenzel RP: Prevention and control of nosocomial infections. III Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1997.
71. Pankhurst CL, Johnson NW, Woods RG. *Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific argument.* Int Dent J 1998; 48: 359-68.
72. Patterson WJ, Hay J, Scal DV, McLuckie. *Colonization of transplant unit water supplies with Legionella and protozoa: precautions required to reduce the risk of legionellosis.* J Hosp Infect 1997; 37: 7-17.
73. Perkins ME, Wu TW, Le Blancq SM. *Cyclosporin analogs inhibit in vitro growth of Cryptosporidium parvum.* Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 843-8.
74. Raitano A. *Comunicazione personale.* 1999 giugno, 10.
75. Ramon Duck F, Ruiz de Porzas L, Elizaede G, Abella M. *Description and study of etiology of a community outbreak of atypical pneumonia in l'Esplug de Francoli-Tarragona.* Med Clin Barc 1997; 108: 490-4.
76. Rhodes Trussell R. *Safeguarding of distribution system integrity.* Journal AWWA 1999, 91: 46-54.
77. Riebel WL. *Effect of silver/copper ionization on Legionella pneumophila in potable hot water.* Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 14/7: M46.
78. Rodgers FG, Pasculle WA. *Legionella.* In Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, et al. Manual of Clinical Microbiology. Am Soc Microbiol, Washington (DC) 1991: 443-53.
79. Rowbotham TU. *Legionellosis associated with ships.* Commun Dis Public Health 1998; 1/3: 146-51.
80. Rutala AW. *Water as a reservoir of nosocomial pathogens.* Infect Control Hosp Epidemiol 1997; 18: 609-16.
81. Sabria-Leal M, Pedro-Botet ML, Ruiz L, Gimenez G. *Molecular epidemiology and Legionnaire disease.* Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 14: 616-7.
82. Sanchez F, Mensa J, Mertienz JA, et al. *Treatment of pneumonia caused by Legionella with azithromycin.* Rev Esp Quimioter 1998; 11/2: 147-51.
83. Sanduzzi A, Cardone M, Covelli I. *Aggiornamenti in tema di legionellosi.* Boll Microbiol Med 1995; 16/4: I-III.
84. Sessa R. *Controllo della contaminazione ambientale da Legionella negli impianti di aria condizionata.* PBI Not Tecnico 1998; 172: 2979.
85. Sopena N, Sabria Leal M, Pedro Boter ML, et al. *Comparative study of the clinical presentation of L pneumophila and the community acquired pneumonias.* Chest 1998; 115: 1195-200.
86. Schlossberg D, Bonoan J. *Legionella and immunosuppression.* Semin Respir Infect 1998; 13/2: 128-31.
87. Siu KK, Denoncour JP, Sanzi GC. *Monochloramine removal by granular activated carbon.* Contemp Dialysis & Nephrol. 1988; March: 30-7.
88. Stattes S, Kuchta J, Young W, et al. *Controlling Legionella using copper-silver ionization.* Journal AWWA 1998; Sept. 123-9.
89. Straus WL, Plouffe JF, File TM Jr, et al. *Risk factors for domestic acquisition of Legionnaires' disease.* Arch Intern Med 1996; 156: 1685-92.
90. Stout JE, Lin YE, Goetz AM, Muder RR. *Controlling Legionella in hospital water systems: experience with superheat-and-flush method and copper/silver ionization.* Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19: 911-4.
91. Ta AC, Stout JE, Yu VL, Wagener MM. *Comparison of culture methods or monitoring Legionella species in hospital potable water systems and recommendations for standardization of such methods.* J Clin Microbiol 1995; 33: 2118-23.
92. Triefenbrunner F. *Chemikalienfreie Desinfektion von Wasser und Wasserinstallationen. Biofilm und Trinkwasser qualitaet in Grossgebauten.* Hyg Med 1998; 23, 55.
93. Vergis EN, Baden L, Yu VL. *Epidemiology and pathogenesis of Legionella infection.* Up To Date 1999, 7/1.
94. Yamaguchi K, Takeda K, Ishii Y, Murakami H. *L. pneumophila- epidemiology, clinical characteristics and development of diagnosis.* Nippon Rinsho 1998; 56: 2707-17.
95. Yu VL. *Resolving the controversy on environmental cultures for Legionella: a modest proposal.* Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19: 893-7.
96. Waltz A, Nichtrelein T, Hof H. *Eccellent activity of newer quinolones on L pneumophila in J774 macrophages.* Zentralblatt Bakteriol 1997; 285: 431-9.

Indirizzo per la corrispondenza:
 Prof. Giuliano Agolini
 Via Filzi, 21 - 34132 Trieste
 Tel. 040/363733 - 040/213541
 Fax 040/280944