

# Contaminazione da Legionella degli impianti idrici degli ospedali piemontesi.

S. Ditommaso\*, L. Guidetti\*\*, M. Giacomuzzi\*, M. Vallana\*\*, C. Chia\*, N. Pepe\*\*, A. Maiello\*\*, C. Zotti\*, R. Vioglio\*\*, A. Ruggenini Moiraghi\*

## Parole chiave

Legionella  
Acque  
Piemonte  
Impianti idrici

## Key words

Legionella  
Water  
Piedmont region  
Water supply

## RIASSUNT O

**Obiettivi:** Tracciare un quadro "iniziale" della contaminazione da Legionella degli impianti idrici degli ospedali piemontesi (luglio 98 - luglio 99).

**Metodi:** Prelievi di acqua calda in mandata e di ricircolo da impianti e serbatoi di riserva e da punti terminali di maggiore interesse; concentrazione mediante filtrazione e coltura su terreno selettivo; successiva conferma ed identificazione con i metodi ufficiali.

**Risultati:** Legionella spp sono state isolate in concentrazioni diverse in 35 di 36 ospedali controllati. La specie più frequentemente osservata è stata Legionella pneumophila ed i sierotipi prevalenti sono 1 e 6.

**Conclusioni:** La contaminazione delle reti idriche ospedaliere in Piemonte è largamente diffusa e non associata a particolari caratteristiche degli edifici. Ne deriva la necessità di una riflessione attenta sulla opportunità di porre in atto sistematici interventi di decontaminazione e sulla loro tipologia.

## ABSTRACT

LEGIONELLA'S CONTAMINATION IN HOSPITAL WATER SUPPLY IN PIEDMONT REGION.

**Objectives:** The aim of authors is to give an initial outline about Legionella spp hospital water supply contamination in Piedmont (Italy) between July 98 and July 99.

**Methods:** Sampling of hot water from water systems and reservoirs and from

final pipes; concentration on filters and culture by means of standard methods.

**Results:** Legionella spp was isolated at different bacterial concentrations in 35 out of 36 hospitals investigated. L.pneumophila (serotypes 6 and 1) was the most frequently isolated species.

**Conclusions:** The hospital water supplies in Piedmont have been repeatedly found contaminated with Legionella spp but no associations with the hospital's building age and the dimensions emerged. These results put into doubt the real efficacy of continued decontamination of water systems and of the methods used for the decontamination.

**N**ELL'ESTATE 1998 in un ospedale piemontese si verificò un'epidemia di polmonite da Legionella che coinvolse numerosi degenti, di cui alcuni morirono (dati non pubblicati).

Successivamente fu osservato un caso di polmonite in un dipendente di un altro ospedale della Regione, che, attribuito a Legionella pneumophila di sierogruppo 1, determinò dapprima l'intervento dello Spresal e, in un secondo tempo, della Magistratura, interessata, peraltro, anche al primo evento. Ne derivò, oltre alla verifica dell'associazione tra casi clinici citati e caratteristiche ambientali, l'ingiunzione del controllo, relativamente alla contaminazione da Legio-

\*Università degli Studi di Torino  
- Dipartimento di Sanità  
Pubblica e Microbiologia  
\*\*Agenzia Regionale per la  
Protezione Ambientale del  
Piemonte - Polo di Virologia  
Ambientale e Microbiologia  
speciale di Novara

## ● LEGIONELLA

nella, degli impianti idrici di tutti gli Ospedali posti nel territorio di competenza della Procura di Torino. L'incarico di procedere a questa operazione fu affidato dal Magistrato ai NAS e da questi trasferito alla Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale (ARPA). In Piemonte solo la delegazione di Novara è in grado di operare la ricerca

proposta e, pertanto, è stata coinvolta su tutto il territorio interessato. Nel frattempo, le Direzioni Ospedaliere, allarmate per quanto stava succedendo, si sono attivate spontaneamente, nell'intento di precedere, se possibile, l'intervento pubblico o, comunque, di procurarsi dati utilizzabili sia per eventuali confronti, sia per valutare l'efficacia di interventi di bonifica che si fossero ritenuti necessari. Con questo obiettivo molte Direzioni sanitarie si sono rivolte, oltre che alla stessa ARPA, al Dipartimento di Sanità Pubblica dell'Università di Torino. Ad entrambi gli Enti è stata contemporaneamente richiesta la consulenza per programmare, monitorare e valutare eventuali interventi di bonifica degli impianti. In tal modo si è resa disponibile una notevole quantità di dati, che ci consentono, oggi, di tracciare un quadro "iniziale" della contaminazione degli impianti degli Ospedali pubblici piemontesi (ed anche di talune Case di cura private). E' questo l'obiettivo del presente lavoro.

### ■ Metodi

I prelievi di acqua sono stati eseguiti sull'acqua calda in mandata e su quella di ricircolo degli impianti e/o sui serbatoi di riserva di acqua calda, ove esistenti, e da una serie di punti terminali, privilegiando quelli dei Reparti in cui si fossero verificati casi o si ipotizzasse una probabilità di infezione (reparti di ematologia, trapianti, nefrologia e dialisi, ecc). Per ciascun rubinetto è stato effettuato un tampone ed immediatamente dopo un prelievo di un litro di acqua, in contenitore sterile. La scelta di operare senza far scorrere l'acqua è stata suggerita dall'intento di privilegiare, in questa prima fase, la valutazione del rischio associato all'uso di un determinato rubinetto.

Tab. 1 - Campioni di acqua potabile calda prelevati ed esaminati nel II semestre 1998

ANNO 1998	lug	ago	set	ott	nov	dic	Totale
<b>Verbania</b>							
A					5	5	10
B				6			6
<b>Torino</b>							
A		5	34		15	8	62
B					21	9	30
<b>Alessandria</b>							
A		32					32
B			5				5
<b>Novara</b>							
A				7		9	16
<b>Totale</b>	<b>0</b>	<b>37</b>	<b>39</b>	<b>13</b>	<b>41</b>	<b>31</b>	<b>161</b>

Tab. 2 - Campioni di acqua potabile calda prelevati ed esaminati nel I semestre 1999

ANNO 1999	gen	feb	mar	apr	mag	giu	lug	Totale
<b>Verbania</b>								
C		9						9
D						10		10
<b>Vercelli</b>								
A				10			4	14
B				10			5	15
C						8		8
D				13			6	19
<b>Torino</b>								
C		4	9					13
D			9					9
E				10		5		15
F				19				19
G							11	11
H			11					11
I			10					10
L				10				10
M		10						10
N	11							11
O		12						12
P		12						12
Q	10							10
R		11						11
S		11						11
T				11				11
<b>Alessandria</b>								
C					10			10
<b>Cuneo</b>								
A						6		6
B						10		10
C						10		10
<b>Asti</b>								
A				5				5
B			10					10
C						7		7
<b>Totale</b>	<b>21</b>	<b>69</b>	<b>49</b>	<b>88</b>	<b>28</b>	<b>53</b>	<b>11</b>	<b>319</b>

In tempi successivi si è proceduto a prelevare l'acqua dopo averla fatta defluire per un minuto, privilegiando in tal modo l'accertamento delle condizioni della rete. Il prelievo è stato effettuato in presenza di tiosolfato di sodio, in proporzione di 0,8 ml/litro di una soluzione al 10%, partendo dal presupposto che tutte le acque esaminate contenessero  $Cl_2$ .

I campioni sono stati successivamente portati in laboratorio ed esaminati in giornata. La tecnica prevede la concentrazione dei campioni prelevati mediante filtrazione (filtri  $m\mu$  0,22) e successivo ricupero del filtro che viene eluito in 10 ml dell'acqua in esame. Del concentrato, 100  $\mu$ l sono seminati in Piastra di Petri, contenente terreno selettivo per *Legionella* (BCYE) e incubate a 37°C. Dopo l'incubazione (mediamente 5-10 giorni), le colonie caratteristiche sono presuntivamente ritenute *Legionella* ed enumerate. Le colonie presuntive vengono quindi confermate come *Legionella* mediante sottocolture atte a dimostrare la necessità di L-cisteina e di ferro per lo sviluppo (BCYE), in parallelo a piastre contenenti agar sangue sulle quali non si osserva crescita. Si eseguono successivamente le prove sierologiche per l'identificazione di specie e, per le colonie non agglutinabili con gli antisieri specifici, si ricorre all'amplificazione genica, mediante PCR.

## ■ Risultati

Vengono di seguito riportati i dati relativi al periodo luglio 1998 - luglio '99, che riferiscono del "primo intervento" eseguito dai due Enti in precedenza citati, in assenza (almeno dichiarata) di operazioni di bonifica. Appare evidente il notevole incremento dei punti controllati, che, da 161 del secondo semestre 1998, divengono 319 nei primi sette mesi

del '99 (Tab. 1 e 2) e il diffondersi della tendenza alla verifica degli impianti: infatti nel '98 risultano coinvolte quattro province, mentre nel '99 se ne aggiungono altre due; gli

accertamenti si estendono oltre a quanto era stato richiesto dalla Magistratura; la figura 1 riassume l'andamento temporale degli accertamenti effettuati. Dei 36 nosocomi

Tab. 3 - Distribuzione positività/negatività dei campioni in funzione della temperatura rilevata all'atto del prelievo

temp. acqua °C	assenti	presenti	totali
≤ 53	140	227	367
> 53	24	17	41
<b>totali</b>	<b>164</b>	<b>244</b>	<b>408</b>

$\chi^2$ : n.s.

Fig. 1 - Distribuzione mensile dei campioni prelevati ed esaminati durante il primo sopralluogo negli ospedali oggetto dello studio

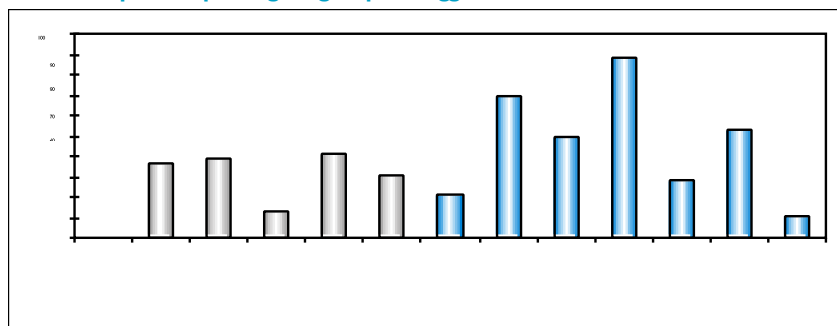


Fig. 2 - Distribuzione delle positività osservate nei diversi ospedali in classi di concentrazione (UFC/litro)

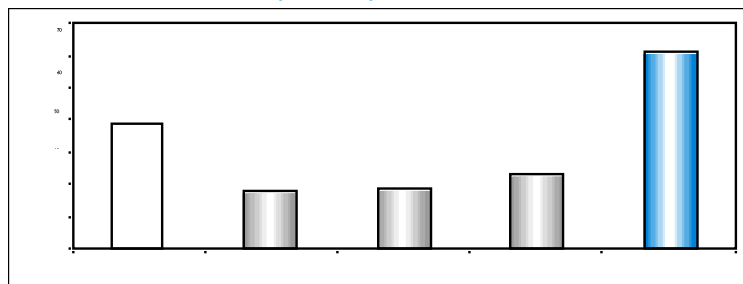
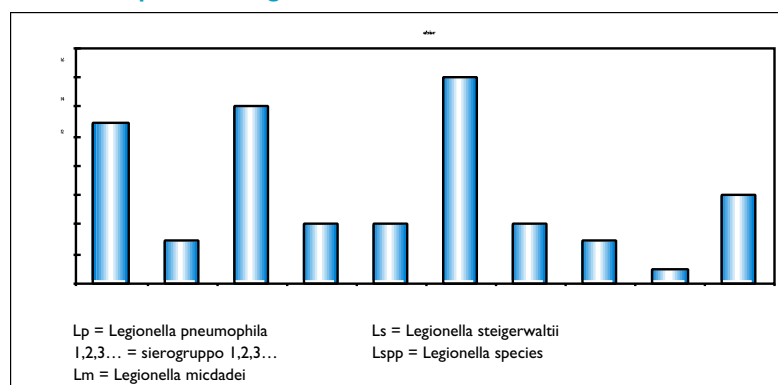


Fig. 3 - Specie di *Legionella spp.* e relativi sierogruppi isolati nelle strutture ospedaliere indagate



controllati, di cui 33 pubblici, soltanto in 1 caso non è stata riscontrata alcuna positività per *Legionella*; consistenti differenze sono viceversa emerse relativamente all'entità della contaminazione osservata ed alle diverse specie isolate.

In particolare: nella globalità dei diversi ospedali è risultato negativo il 39% dei prelievi, mentre si osserva che le positività si sono distribuite nelle classi illustrate nella figura 2 (100-1.000; 1.001-10.000; >10.000 UFC/litro).

La figura 3 illustra invece la tipologia dei sierogruppi isolati: appare evidente che *L.pneumophila* (vari sierogruppi) rappresenta la maggior parte degli isolati e va precisato che le altre specie (*L.micdadei*, *L.steigerwaltii* o ceppi non tipizzati) sono quasi sempre state reperite in associazione a *L.pneumophila*.

Nell'ambito della specie *L.pneumophila*, il sierogruppo 1 è stato isolato in 11 strutture, localizzate in varie province (AL, AT, CN, TO), il sierogruppo 2 in 3 strutture (AT, TO); il sierogruppo 3 in 12 (AL, AT, CN, TO, VB); il sierogruppo 4 in 4 (AL, AT, TO); il sierogruppo 5 in 4 (AT, VB, VC) e il sierogruppo 6 in 15 strutture (AL, AT, CN, NO, TO, VB, VC). Pertanto i sierogruppi maggiormente circolanti sono risultati, in ordine decrescente, il 6, il 3 e 1. Solo in 7 ospedali, dei 36 controllati, è stato isolato un solo sierogruppo; negli altri sono stati reperiti da 2 a 4 sierogruppi. Dai dati disponibili inoltre non è emersa relazione tra dimensione dell'ospedale e positività per *Legionella spp.*, né evidente associazione con la temperatura di erogazione dell'acqua (Tab. 3).

### ■ Conclusioni

Il problema della legionellosi ospedaliera è segnalato nel mondo ed

anche in Italia da oltre 20 anni<sup>9,8,7,13</sup> ed ha sempre suscitato interesse vivace, ma, soprattutto, è stato condizionato dalla segnalazione di casi isolati o di cluster epidemici di polmoniti nosocomiali. Esiste comunque una ricca bibliografia mediante la quale viene puntualizzato il ruolo degli impianti idrici e non solo, come inizialmente ipotizzato, dei condizionatori delle torri di raffreddamento e richiamata l'attenzione sulla opportunità e sulle modalità di bonifica<sup>4</sup>.

Relativamente al problema considerato, con il presente contributo ci siamo proposti non solo di delineare la situazione ospedaliera nella nostra realtà regionale, il che costituiva l'obiettivo del lavoro, ma abbiamo altresì cercato di analizzare alcuni fattori nell'intento di individuarne l'eventuale associazione con la presenza di *Legionella spp.* negli impianti di distribuzione dell'acqua. In effetti non è emersa alcuna relazione significativa tra contaminazione ed età e dimensione del nosocomio, né si è rilevata determinante la temperatura di erogazione dell'acqua.

Dalla tabella 3 si evince infatti che il superamento della temperatura massima di esercizio a cui si attiene la quasi totalità dei nosocomi in osservanza del DPR n. 412 del 26 agosto 1993 (48°C ± 5°C), non riduce significativamente la proporzione di campioni risultati positivi. Va tuttavia sottolineato che il numero di campioni con temperature più elevate (circa la decima parte di quelli controllati) si attestava oltre i 53 °C e che non risulta se detta temperatura fosse estemporanea o permanente per un tempo più o meno lungo.

Un dato non disponibile, che forse avrebbe potuto fornire qualche indicazione utile, è quello relativo ai

caratteri fisico-chimici dell'acqua controllata, ad esempio la durezza, nell'ipotesi che i depositi calcarei possano favorire lo sviluppo di *Legionella spp.*

E' già stato sottolineato l'incremento di richieste "spontanee" da parte degli ospedali, incremento che è continuato anche dopo la fine del periodo da noi considerato, nell'arco del II semestre '99. Ciò testimonia il timore dell'intervento degli organismi pubblici di controllo o della Magistratura ed il desiderio delle Direzioni sanitarie di non farsi cogliere impreparate e di porre in atto interventi di bonifica. Tale atteggiamento ci pare tuttavia discutibile, in relazione alla reale necessità di tali interventi. E' noto infatti e ribadito dalle linee guida CDC<sup>2,5,14,15</sup> che non è stato raggiunto accordo su questo punto e che esiste una linea di indirizzo secondo la quale non si debba eseguire alcuna verifica della contaminazione degli impianti in assenza di casi segnalati. La valenza positiva della ricerca di colonizzazione degli impianti sarebbe peraltro configurabile nell'aumento della sensibilizzazione dei clinici alla ricerca attiva di eventuali casi, ma, di per sé, non costituirebbe prassi efficace - anche in relazione alla difficoltà della bonifica - né, conseguentemente, efficiente.

Analizzando i risultati da noi ottenuti, si può affermare che la *Legionella* è ampiamente diffusa nei nosocomi della nostra Regione. Soltanto uno su 36 esaminati è risultato totalmente indenne. E' interessante notare che l'ospedale in oggetto è dotato di un proprio acquedotto alimentato da sorgenti montane che sgorgano nelle adiacenze. Va anche sottolineato che all'interno di ciascun ospedale si sono reperiti anche punti negativi

e che le cariche contaminanti osservate sono distribuite in un ampio range (da 100 UFC/litro a >10.000).

Assume notevole importanza la localizzazione dei campioni positivi, nel senso che la presenza di contaminazione in reparti che ricoverano malati critici (emopatici, renali, tumori, soggetti genericamente immunocompromessi) acquisisce maggiore significatività<sup>11</sup>. L'entità della carica osservata non sembra relazionabile ad una maggiore criticità della situazione, anche se alcuni autori<sup>3</sup> affermano che cariche maggiori di 1.000 UFC/litro si configurerebbero in reale pericolo per i degenti. Nella nostra casistica la proporzione di campioni che superano tale concentrazione assomma al 43% dei positivi (Fig. 2). Sembra comunque opportuno sottolineare che il ruolo dell'ospite, peraltro riconosciuto quale determinante dell'infezione/malattia dal modello epidemiologico generale delle malattie infettive, assume, nel caso della legionellosi ospedaliera, una rilevanza fondamentale. Infatti all'ampissima diffusione, sia in ambito ospedaliero sia in ambito generale, si accompagna la relativamente bassa patogenicità per l'uomo, sempre subordinata a particolari situazioni ambientali ed a compromesse condizioni di resistenza dell'ospite<sup>10</sup>.

Un altro dato interessante ci pare l'assoluta prevalenza della specie *L.pneumophila* sulle altre e sul fatto che queste sono state quasi costantemente isolate in associazione con la prima. Nell'ambito della specie *L.pneumophila* pare rilevante il fatto che il sierogruppo I (responsabile del 75-80% delle polmoniti) sia stato isolato in associazione con altri o con altre specie in 11 dei 36 nosocomi controllati.

Questo aspetto assume importanza anche alla luce delle procedure diagnostiche: è infatti noto che, da qualche tempo, si è reso disponibile per i laboratori un "kit" atto ad individuare, peraltro con elevata sensibilità e specificità l'antigene urinario di tutti i sierogruppi di *Legionella pneumophila* e non solamente del gruppo I, come si verificava impiegando un primo presidio diagnostico<sup>10,12</sup>.

In conclusione riteniamo di poter affermare che in Piemonte la contaminazione delle reti idriche ospedaliere è largamente diffusa e non associata a particolari caratteristiche degli edifici. Il problema che ne scaturisce e che ci riprogettiamo di affrontare e di discutere in ulteriori contributi è quello relativo agli interventi da porre in atto, relativamente ai quali abbiamo raccolto un'ampia casistica. Comunque a titolo di anticipazione ci paiono irrinunciabili due raccomandazioni di cui la prima prevede la messa in opera o il potenziamento delle operazioni di manutenzione degli impianti idrici, sia a livello centrale (caldaie, serbatoi) sia periferico (rubinetti, docce, giunti, ecc.) e la seconda si configura nella sorveglianza attiva delle polmoniti nosocomiali volta alla identificazione etiologica precoce ed al conseguente trattamento specifico. ■

#### Bibliografia

1. Brundrett GW. *Epidemics from cooling towers and industrial processes. Outbreak at Stafford District General Hospital. Cases from clean water supplies such as domestic water services and spas.* In Brundrett GV (Ed) *Legionella and Building Services*. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford 1992: 60-189.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Guidelines for Prevention*

*of Nosocomial Pneumonia*. MMWR 1997; 46/NoRR-1: 28-31.

3. Castellani Pastoris M, Benedetti P. *Legionella e legionellosi*. ISS 1993; 1-71.
4. Dournon E, Mayaud C, Bure A, Desplaces N. *Epidemiological features of Legionnaires' Disease in the Paris area*. Zbl. Bkt. Hyg. I Abt. Orig. A 1983; 255:76-83.
5. Hogue CW, Breiman RF. *Advances in the epidemiology and control of Legionella infections*. Epidemiol. Rev. 1991; 13: 329-340.
6. Kohler RB. *Legionella antigenuria: testing and interpretation*. Clin. Microb. Newsletter. 1990; 12: 185-188.
7. Korvick J, Yu VL. *Legionnaires' Disease: an emerging surgical problem*. Ann. Thorac Surg. 1986; 43: 341-347.
8. Marrie TJ, Mc Donald S, Clarke S, Haldane D. *Nosocomial Legionnaires' Disease: lesson from a four years prospective study*. Am. J. Infection Control. 1991; 19: 79-85.
9. Mc Dade J, Shepard C, Fraser D. et al. *Legionnaires' Disease: description of an epidemic of pneumonia*. N.England J. Med 1977; 297: 1183-1197.
10. Orsi N, Goldoni P, Sinibaldi L. *Il ferro, elemento essenziale nella biologia di Legionella pneumophila*. L'Igiene Moderna 1999; 112: 295-317.
11. Ruff C, Pagano E, Raeber PA, Gaia V, Peduzzi R. *Legionelle all'Ospedale - Direttive pratiche per il depistaggio*. SWISS NOSO 1998; 5: 1-5.
12. Ruf B, Schurmann D, Horbach I, et al. *Frequency and diagnosis of Legionella pneumophila: a 3 year prospective study with emphasis on application of urinary antigen detection*. J. Infect. Dis. 1990; 62: 1341-1347.
13. Ruggenini Moiraghi A, Castellani Pastoris M, Benedetti P. *Epidemiologia e prevenzione della legionellosi in Italia*. Fed. Med. 1990 XLIII; 721-726.
14. Struelens MJ, Maes N, Deflano A, et al. *Genotypic and phenotypic methods for the investigation of a nosocomial Legionella pneumophila outbreak and efficacy of control measures*. J. Infect. Dis. 1992; 166: 22-30.
15. Yu VL, Beam TR, Lumish R, et al. *Routine culturing for Legionella in the hospital environment may be a good idea: 3 hospital prospective study*. Am. J. Med. Sci. 1987; 294: 93-97.

#### Indirizzo per la corrispondenza:

Prof.ssa Angela Ruggenini Moiraghi  
Dipartimento Sanità Pubblica  
Via Santena 5 bis - 10126 Torino  
Tel. 011/6706559 - Fax 011/6706551  
Email: angela.moiraghi@unito.it

