

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA



CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E
CHIRURGIA

ANNO ACCADEMICO 2025/2026

TESI DI LAUREA

Valutazione ambientale ed epidemiologica della contaminazione
da *Legionella Pneumophila* in ambito ospedaliero: analisi su cinque anni
presso l'IRCCS Aom Ospedale Policlinico San Martino di Genova

RELATORE

Prof. Andrea Orsi

CORRELATORI

Dott.ssa Matilde Ogliastro

Dott.ssa Elena Lagorio

CANDIDATO

Giulia Ivaldi

INDICE

CAPITOLO 1

LEGIONELLA E LEGIONELLOSI

- 1.1 Cenni storici e scoperta della Legionella
 - 1.2 Caratteristiche microbiologiche
 - 1.3 Modalità di trasmissione
 - 1.4 Patogenesi
 - 1.5 Fattori di rischio
 - 1.6 Manifestazioni cliniche
 - 1.7 Diagnosi
 - 1.8 Diagnosi Differenziale
 - 1.9 Terapia

CAPITOLO 2

EPIDEMIOLOGIA E SORVEGLIANZA

- 2.1 Epidemiologia della legionellosi
 - 2.1.1 Dati globali
 - 2.1.2 Europa
 - 2.1.3 Italia
- 2.2 Sorveglianza sanitaria
- 2.3 Definizione e classificazione dei casi
- 2.4 Notifica e gestione dei casi

CAPITOLO 3

LEGIONELLOSI IN AMBITO SANITARIO

- 3.1 Infezioni correlate all'assistenza (ICA)
- 3.2 Legionellosi nosocomiale
- 3.3 Valutazione del rischio nelle strutture sanitarie
- 3.4 Misure di prevenzione e controllo
 - 3.4.1 Monitoraggio e sorveglianza ambientale
 - 3.4.2 Interventi di controllo immediati
 - 3.4.3 Strategie di prevenzione a lungo termine
- 3.5 Applicazione in un contesto ospedaliero complesso: il caso dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova

CAPITOLO 4

STUDIO SPERIMENTALE

- 4.1 Obiettivi dello studio
- 4.2 Materiali e metodi
 - 4.2.1 Setting dello studio: IRCCS Ospedale Policlinico San Martino
 - 4.2.2 classificazione del rischio e misure di prevenzione
 - 4.2.3 Campionamento ambientale e analisi microbiologiche
- 4.3 Risultati
 - 4.3.1 Risultati complessivi della sorveglianza ambientale
 - 4.3.2 Distribuzione per sierogruppo, concentrazione e edificio
 - 4.3.3 Casi clinici di legionellosi notificati nel periodo di studio

CAPITOLO 5

DISCUSSIONE

CONCLUSIONE

BIBLIOGRAFIA

RINGRAZIAMENTI

CAPITOLO 1

LEGIONELLA E LEGIONELLOSI

1.1 Cenni storici e scoperta della Legionella

La Legionella è oggi riconosciuta come uno dei principali patogeni responsabili di infezioni respiratorie acquisite attraverso l'esposizione ad ambienti acquatici contaminati. Tuttavia, la sua identificazione come agente eziologico di malattia è relativamente recente e risale alla seconda metà del XX secolo (1) (2).

La sua scoperta è legata ad un episodio epidemico verificatosi nel 1976 a Philadelphia, negli Stati Uniti, in occasione di un congresso dell'American Legion (1) (2). Durante l'evento, oltre duecento partecipanti svilupparono una forma di polmonite acuta, con un numero significativo di decessi (1). L'evento suscitò un'immediata mobilitazione delle autorità sanitarie, in particolare del Centers for Disease Control and Prevention (CDC), che avviò un'indagine epidemiologica approfondita per identificare la causa dell'epidemia (2).

Dopo mesi di analisi, venne isolato un batterio nei tessuti polmonari dei pazienti deceduti. Questo microrganismo fu denominato *Legionella pneumophila*, in riferimento sia all'evento che aveva portato alla sua scoperta, sia alla sua capacità di colpire il parenchima polmonare (1) (2).

Successivamente, vennero riesaminati episodi epidemici precedenti, tra cui un focolaio verificatosi nel 1968 a Pontiac, nel Michigan, inizialmente non attribuito ad una causa specifica. Questo portò all'identificazione di una forma clinica più lieve, oggi nota come "febbre di Pontiac", caratterizzata da un quadro simil-influenzale privo di coinvolgimento polmonare (3).

Negli anni, l'interesse scientifico nei confronti della Legionella è cresciuto significativamente, portando all'identificazione di numerose specie e sierogruppi, nonché alla comprensione del ruolo ambientale del microrganismo (2) (3) (4).

È emerso come la Legionella non sia un patogeno esclusivamente umano, ma un batterio ubiquitario, presente in ambienti naturali ed artificiali, in grado di colonizzare sistemi idrici complessi.

L'importanza della sorveglianza di Legionella in ambito sanitario deriva non solo dalla gravità delle infezioni che può determinare, ma anche dalla difficoltà di controllo ambientale e dalla capacità di persistere negli impianti idrici. Per questo motivo, la legionellosi è oggi

considerata una patologia di assoluta rilevanza per la sanità pubblica, ed è oggetto di specifici programmi di sorveglianza e prevenzione.

1.2 Caratteristiche microbiologiche

Il genere *Legionella* appartiene alla famiglia delle *Legionellaceae*. Sono batteri Gram-negativi aerobi obbligati, caratterizzati da una peculiare capacità di sopravvivenza e replicazione all'interno di cellule eucariotiche (2) (4).

Dal punto di vista morfologico, si presentano come bacilli sottili, di dimensioni variabili, generalmente compresi tra 0,3 e 0,9 micrometri di diametro e fino a 20 micrometri di lunghezza (5). Una delle caratteristiche più rilevanti della *Legionella* è la sua natura di parassita intracellulare facoltativo. Il batterio è infatti in grado di moltiplicarsi all'interno di protozoi ambientali, come amebe e ciliati, e successivamente all'interno delle cellule dell'ospite umano, in particolare dei macrofagi alveolari. Questa capacità rappresenta un elemento chiave sia per la sua sopravvivenza nell'ambiente, sia per la sua patogenicità (2) (6) (7) (8) (9).

Ad oggi sono state identificate oltre sessanta specie di *Legionella*, suddivise in numerosi sierogruppi. Tuttavia, solo una parte di queste è considerata patogena per l'uomo (2). La specie di maggiore rilevanza clinica è *Legionella pneumophila*, principale responsabile dei casi di legionellosi (2) (3) (10). Un aspetto importante della classificazione microbiologica è rappresentato dalla suddivisione di *Legionella p.* in diversi sierogruppi, definiti sulla base di differenze antigeniche, in particolare a livello della componente lipopolisaccaridica della membrana esterna (3). Tale specie comprende almeno 16 sierogruppi. Tra questi, il sierogruppo 1 riveste il maggiore interesse clinico ed epidemiologico, poiché è quello più frequentemente associato ai casi di legionellosi nell'uomo ed è anche il principale bersaglio della ricerca dell'antigene urinario, metodica rapida e ampiamente utilizzata nella diagnosi clinica. Le infezioni sostenute da altri sierogruppi o da altre specie di *Legionella* possono pertanto risultare più difficili da riconoscere se non vengono impiegate metodiche complementari, come la coltura, la PCR o la tipizzazione degli isolati (11) (7).

Accanto al sierogruppo 1, la sorveglianza ambientale può tuttavia evidenziare anche altri gruppi antigenici, tra cui il 3, il 6 e altri sierogruppi non-1, talvolta riportati nei referti come gruppo 2-14. Questi isolati, pur essendo meno frequentemente documentati nei campioni clinici, possono contribuire alla colonizzazione degli impianti idrici e assumere particolare importanza in ambito ospedaliero, dove sono presenti pazienti immunocompromessi o con elevata fragilità clinica. Per questo motivo, la distinzione tra i sierogruppi risulta utile non solo dal punto di vista tassonomico, ma anche per la valutazione del rischio, per

l'interpretazione dei dati ambientali e per l'eventuale correlazione epidemiologica tra contaminazione idrica e casi clinici (2) (3) (11).

Dal punto di vista strutturale, la parete cellulare della *Legionella* presenta caratteristiche peculiari rispetto ad altri batteri Gram-negativi, tra cui la presenza di acidi grassi a catena ramificata. Inoltre, il microrganismo possiede diverse strutture di superficie, come flagelli e pili, che contribuiscono rispettivamente alla motilità e all'adesione alle cellule ospiti (3) (5) (10) (12).

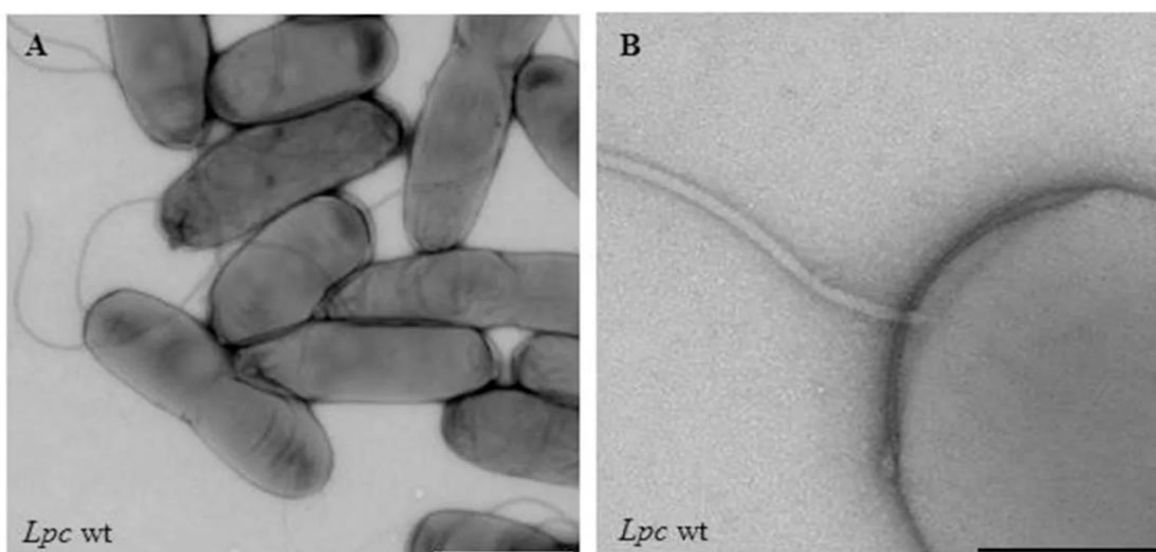


Figura 1. Immagini al microscopio elettronico di ceppi wild-type di *Legionella* flagellati e non flagellati, nonché di un ceppo mutante privo di flagello. Sono mostrati (A e B) *Legionella pneumophila* Corby (*Lpc wt*). I batteri sono stati coltivati in terreno AYE a 30°C e i campioni sono stati colorati con acetato di uranile allo 0,5%. Barre di scala bianche: 1 μm; barre di scala nere: 200 nm (92).

Un altro elemento fondamentale è rappresentato dai sistemi di secrezione proteica, che permettono al batterio di interagire con l'ambiente intracellulare e di modulare i meccanismi difensivi dell'ospite. In particolare, il sistema di secrezione di tipo IV svolge un ruolo centrale nella sopravvivenza intracellulare (12). Dal punto di vista metabolico, la *Legionella* presenta esigenze nutrizionali specifiche, non è in grado di crescere su terreni di coltura standard. Richiede infatti terreni arricchiti con sostanze come L-cisteina e ferro, indispensabili per la sua replicazione. Questa caratteristica rende più complesso l'isolamento del microrganismo in laboratorio (2) (11). Un altro aspetto di grande rilevanza è la capacità della *Legionella* di sopravvivere in condizioni ambientali sfavorevoli. Il batterio può entrare in uno stato definito "vitale ma non coltivabile" (VBNC), stato in cui la sua presenza non è rilevabile con i metodi colturali classici, caratterizzato da una riduzione dell'attività

metabolica che consente la persistenza nell'ambiente anche in presenza di condizioni avverse, come trattamenti di disinfezione (13). Inoltre, la *Legionella* è strettamente associata al biofilm, una struttura complessa costituita da microrganismi e matrice extracellulare (batteri, virus e protozoi in uno strato polisaccaridico) che si forma sulle superfici degli impianti idrici (2) (8) (11). Il biofilm rappresenta un ambiente ideale per la crescita del batterio, offrendo protezione nei confronti degli agenti chimici e facilitando l'interazione con altri microrganismi. Queste caratteristiche microbiologiche spiegano la capacità della *Legionella* di colonizzare sistemi idrici artificiali e di persistere nel tempo, rendendo difficile la sua eradicazione e contribuendo alla sua rilevanza in ambito sanitario.

1.3 Modalità di trasmissione

La *Legionella* è un microrganismo ubiquitario, ampiamente diffuso negli ambienti naturali, in particolare negli ecosistemi acquatici come fiumi, laghi, sorgenti e terreni umidi (4) (14) (15) (16).

Tuttavia, il rischio per la salute umana è principalmente associato agli ambienti artificiali, dove le condizioni possono favorire una significativa proliferazione del batterio. La trasmissione all'uomo avviene quasi esclusivamente via respiratoria, attraverso l'inalazione di aerosol contenenti il microrganismo, costituiti da microgoccioline di acqua di dimensioni inferiori ai 5 micrometri, capaci di raggiungere le basse vie respiratorie e depositarsi a livello alveolare. In questo contesto, la *Legionella* entra in contatto con i macrofagi alveolari, dando inizio al processo infettivo (3) (5) (17).

Le principali fonti di esposizione sono sistemi in grado di generare aerosol, come impianti di climatizzazione, torri di raffreddamento, docce, rubinetti, vasche idromassaggio, fontane, umidificatori e piscine; in ambito sanitario, ulteriori fonti sono dispositivi medici che utilizzano acqua o producono aerosol, tra cui ventilatori, nebulizzatori e sistemi per ossigenoterapia (4) (17) (18) (19). È importante sottolineare che la trasmissione non avviene attraverso l'ingestione di acqua contaminata e che la trasmissione interumana è considerata eccezionale (20). Questo aspetto ha rilevanti implicazioni nella gestione dei casi, in quanto la prevenzione si concentra principalmente sul controllo ambientale piuttosto che sull'isolamento dei pazienti.

La proliferazione della *Legionella* negli impianti idrici è fortemente influenzata da diversi fattori ambientali. Tra questi, la temperatura dell'acqua rappresenta uno dei determinanti principali: il batterio si moltiplica in un intervallo compreso tra 25°C e 45°C, con un optimum intorno ai 35-37°C; temperature inferiori ai 20°C ne inibiscono la crescita, sebbene entri in uno stato dormiente grazie al quale riesce a sopravvivere. Diversamente, sopra ai 50-60°C ci sarà una progressiva inattivazione del microrganismo, ragion per cui l'acqua calda sanitaria deve esser prodotta e mantenuta ad almeno 60 °C, e ai punti terminali (rubinetti, docce) deve raggiungere almeno 50-55 °C, per prevenire la proliferazione del batterio (18) (21) (22). Oltre alla temperatura, altri fattori favorevoli includono la presenza di ristagni d'acqua, biofilm, incrostazioni e depositi organici nelle tubature (23).

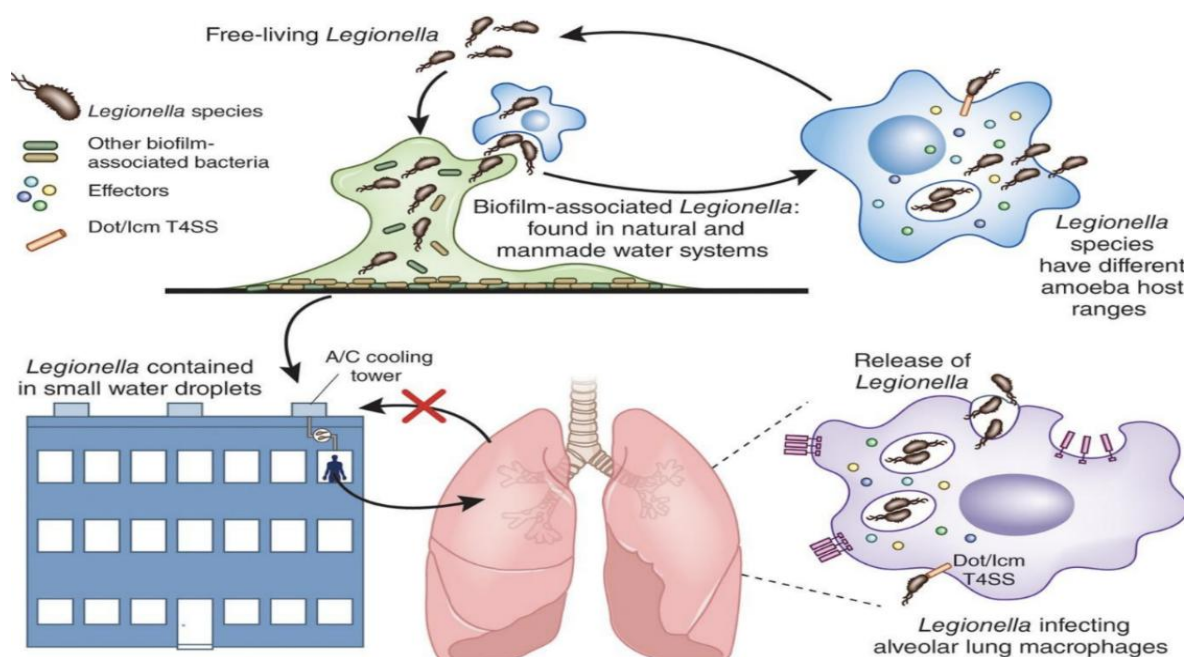


Figura 2 - Ciclo di vita e trasmissione di *Legionella pneumophila*.

Il batterio può vivere in forma libera nell'ambiente acquatico o associato a biofilm e protozoi, da cui può essere rilasciato e trasmesso attraverso aerosol, infettando i macrofagi alveolari.

Fonte: elaborazione propria, adattato da letteratura scientifica

Gli impianti idrici complessi, caratterizzati da rami a fondo cieco, flussi irregolari e difficoltà di manutenzione, rappresentano ambienti particolarmente favorevoli alla colonizzazione batterica.

Un ruolo importante è svolto anche dalla presenza di protozoi e amebe, all'interno dei quali la *Legionella* può replicarsi e trovare protezione dalle condizioni ambientali avverse e dai trattamenti disinfettanti. Questa interazione contribuisce in modo significativo alla persistenza del batterio negli ambienti acquatici (2) (6) (7) (8) (9).

In relazione al contesto di esposizione, è possibile distinguere diverse forme epidemiologiche di legionellosi: forme comunitarie, nosocomiali e associate a viaggi. Le infezioni associate ai viaggi sono spesso correlate a soggiorni in strutture ricettive, come alberghi o campeggi, dove sistemi idrici complessi possono rappresentare una fonte di contaminazione (24) (25).

1.4 Patogenesi

La patogenesi della legionellosi è strettamente legata alla capacità del microrganismo di sopravvivere e replicarsi all'interno delle cellule dell'ospite.

Dopo l'inalazione di aerosol contaminati, la *Legionella* raggiunge gli alveoli polmonari, dove viene fagocitata dai macrofagi alveolari (12); qui, a differenza di molti altri batteri, la *Legionella* è in grado di evitare i meccanismi di distruzione intracellulare. Infatti, in condizioni normali, i microrganismi fagocitati vengono eliminati attraverso la fusione del fagosoma con il lisosoma, che determina la degradazione del patogeno. Tuttavia, la *Legionella* interferisce con questo processo, impedendo la fusione fagosoma-lisosoma e creando un ambiente intracellulare favorevole alla propria replicazione (26).

A mediare è un complesso sistema di secrezione di tipo IV, noto come sistema Dot/Icm, che consente al batterio di trasferire all'interno della cellula ospite numerose proteine effettrici, che modulano il traffico intracellulare e interferiscono con la maturazione del fagosoma, impedendone la fusione con il lisosoma. Questo porta alla formazione di una struttura specializzata, definita *vacuolo contenente Legionella*, all'interno della quale il microrganismo può moltiplicarsi (27). La replicazione intracellulare porta progressivamente alla lisi della cellula ospite, con rilascio di nuovi batteri che possono infettare altre cellule, amplificando il processo infettivo; tale ciclo contribuisce allo sviluppo del danno polmonare e alla risposta infiammatoria. La risposta immunitaria dell'ospite gioca un ruolo fondamentale nella progressione della malattia. Nei soggetti immunocompetenti, l'attivazione dei macrofagi e delle cellule T contribuisce al controllo dell'infezione; al contrario, nei pazienti immunocompromessi, la ridotta efficacia di questi meccanismi favorisce la replicazione batterica e lo sviluppo di forme cliniche più gravi (16).

Tra i principali fattori di virulenza di *Legionella pneumophila* si annoverano sia componenti strutturali sia fattori secreti. Tra le strutture batteriche rilevanti vi sono: il lipopolisaccaride (LPS), i pili, i flagelli e la proteina di membrana esterna (MOMP), una porina che svolge un ruolo chiave nell'interazione con i recettori del complemento CR1 e CR3 espressi su monociti e fagociti. Tali elementi facilitano l'adesione e l'ingresso del batterio nelle cellule ospiti. Per quanto riguarda invece i numerosi fattori secreti dalla *Legionella*, si annoverano enzimi e proteine in grado di modulare la risposta immunitaria dell'ospite. Tra questi, l'acido omogentisico (HGA) contribuisce alla protezione del batterio dallo stress ossidativo e dalla luce, oltre a favorire l'acquisizione del ferro, elemento essenziale per la sopravvivenza e la replicazione batterica. Nel complesso, questi fattori cooperano nel promuovere l'adesione,

l'invasione e la persistenza intracellulare del microorganismo, determinandone l'elevata capacità patogena (12).

Un ultimo aspetto rilevante è rappresentato dalla capacità della *Legionella* di adattarsi a diversi ambienti, passando da una fase replicativa a una fase trasmissiva, caratterizzata da maggiore resistenza agli stress ambientali e maggiore capacità infettiva (3) (5).

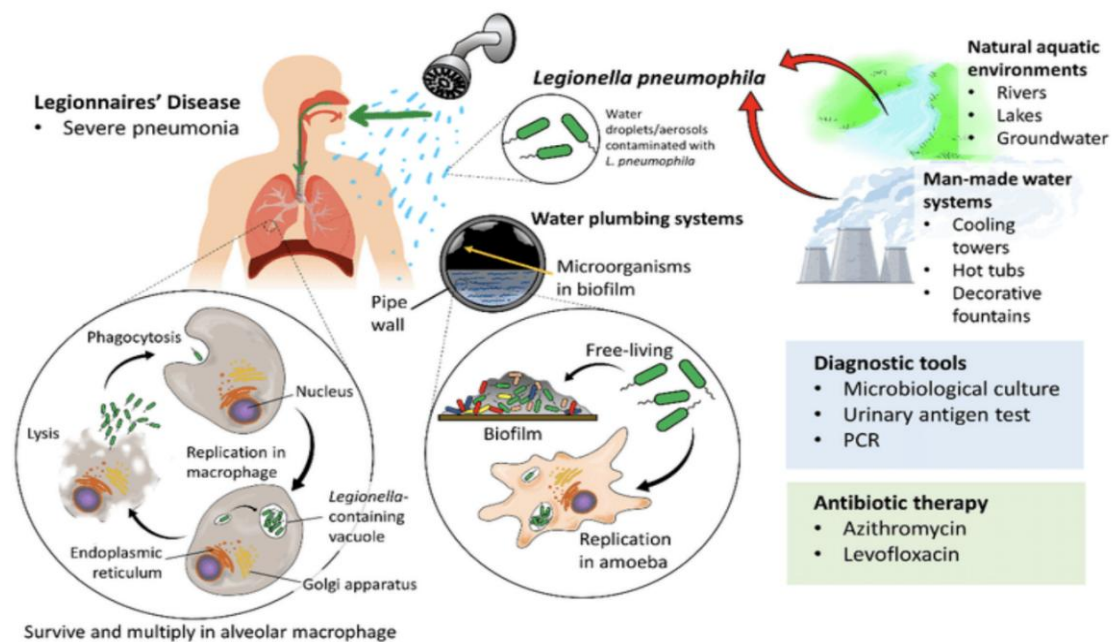


Figura 3 - Ciclo di trasmissione, patogenesi e principali aspetti clinici di *Legionella pneumophila*. Il batterio è presente in ambienti acquatici naturali e artificiali, dove può colonizzare sistemi idrici e biofilm e replicarsi all'interno di protozoi. La trasmissione all'uomo avviene tramite aerosol contaminati, con infezione dei macrofagi alveolari. Sono inoltre riportati i principali strumenti diagnostici e le opzioni terapeutiche.
Fonte: elaborazione propria, adattato da letteratura scientifica

1.5 Fattori di rischio

Lo sviluppo della legionellosi dipende da esposizione al microrganismo e suscettibilità dell'ospite; pertanto, non tutti i soggetti esposti sviluppano la malattia, dato che la probabilità di infezione è influenzata da diversi fattori (19).

Tra i principali fattori di rischio individuali si riconoscono l'età avanzata, in particolare oltre i 50 anni, e il sesso maschile. Questi elementi sono frequentemente associati a una maggiore incidenza della malattia, probabilmente in relazione a differenze comportamentali e a una maggiore prevalenza di comorbidità (19) (28) (11).

Accanto a questi, anche fattori comportamentali ed espositivi contribuiscono ad aumentare il rischio di legionellosi. Il fumo di sigaretta rappresenta uno dei principali elementi predisponenti, poiché altera i meccanismi di difesa delle vie respiratorie, riduce la clearance mucociliare e favorisce la colonizzazione batterica. Anche il consumo eccessivo di alcol è associato a un aumento del rischio, probabilmente per il suo effetto immunosoppressivo (29) (30). La presenza di comorbidità croniche, tra cui diabete mellito, malattie cardiovascolari e patologie respiratorie croniche, contribuisce ad aumentare la suscettibilità all'infezione. Tra queste, la broncopneumopatia cronica ostruttiva assume particolare rilevanza, poiché si associa a un rischio maggiore di sviluppare forme severe. Un ruolo centrale è inoltre svolto dall'immunodepressione, sia primaria sia secondaria. I pazienti in terapia immunosoppressiva, affetti da neoplasie o sottoposti a trapianto d'organo rappresentano infatti una popolazione particolarmente vulnerabile, con maggiore probabilità di sviluppare forme gravi e complicate di malattia (28) (11).

Oltre ai fattori individuali, anche le condizioni ambientali influenzano il rischio di infezione. La presenza di impianti idrici contaminati, temperature favorevoli alla proliferazione del batterio e sistemi complessi difficili da mantenere rappresentano elementi determinanti (19). Infine, la carica batterica e la virulenza del ceppo giocano un ruolo importante nella probabilità di sviluppare la malattia: sebbene la dose minima infettante non sia chiaramente definita, è noto che una maggiore concentrazione di batteri aumenta il rischio di infezione (19).

Categoria	Fattore di rischio	Meccanismo / Razionale
Fattori individuali	Età > 50 anni	Riduzione dell'efficienza del sistema immunitario e maggiore presenza di comorbidità
	Sesso maschile	Maggiore esposizione a fattori di rischio (fumo, comorbidità) e possibili differenze biologiche
Abitudini di vita	Fumo di sigaretta	Alterazione della clearance mucociliare e delle difese respiratorie
	Consumo eccessivo di alcol	Effetto immunosoppressivo e maggiore suscettibilità alle infezioni
Comorbidità	Diabete mellito	Compromissione della risposta immunitaria
	Malattie cardiovascolari	Ridotta riserva funzionale e maggiore fragilità
	Patologie respiratorie croniche (es. BPCO)	Alterazione vie aeree → + rischio di forme severe
Immunodepressione	Terapie immunosoppressive	Riduzione della risposta immunitaria cellulare
	Neoplasie	Compromissione immunitaria legata alla malattia e/o alle terapie
	Trapianto di organi	Elevato grado di immunosoppressione → alto rischio di infezione grave
Fattori ambientali	Impianti idrici contaminati	Fonte di esposizione al microrganismo
	Temperature favorevoli (20–50°C)	Favoriscono la proliferazione della Legionella
	Sistemi idrici complessi	Maggiore difficoltà di manutenzione e controllo
Fattori microbiologici	Elevata carica batterica	Maggiore probabilità di infezione
	Virulenza del ceppo	Maggiore capacità di invasione e replicazione

Figura 4. Classificazione dei fattori di rischio associati alla legionellosi.

I determinanti dell'infezione sono suddivisi per categoria (individuale, comportamentale, clinica, ambientale e microbiologica, con indicazione del rispettivo meccanismo fisiopatologico o razionale epidemiologico che favorisce lo sviluppo della malattia. Fonte: elaborazione propria.

1.6 Manifestazioni cliniche

La legionellosi comprende un insieme eterogeneo di quadri clinici che possono variare da forme lievi e autolimitanti a manifestazioni severe e potenzialmente fatali.

La presentazione clinica dipende da diversi fattori, tra cui la carica infettante, la virulenza del ceppo e, soprattutto, le condizioni immunitarie dell'ospite.

Tradizionalmente, si distinguono due principali forme cliniche: la *febbre di Pontiac* e la *malattia dei legionari* (31) (32).

La *febbre di Pontiac* rappresenta la forma più lieve della malattia, senza coinvolgimento polmonare. Si caratterizza per un quadro simil-influenzale acuto, con un periodo di incubazione generalmente breve, compreso tra 24 e 48 ore. I sintomi principali includono febbre, malessere generale, mialgie e, talvolta, tosse non produttiva. Possono essere presenti anche sintomi gastrointestinali, come nausea e diarrea, e lievi manifestazioni neurologiche, quali cefalea, vertigini, sonnolenza o difficoltà di concentrazione. La caratteristica distintiva di questa forma è l'assenza di interessamento polmonare e la tendenza alla risoluzione spontanea nel giro di pochi giorni, senza necessità di trattamento antibiotico (31).

La *malattia dei legionari* rappresenta invece la forma clinicamente più rilevante, configurandosi come una polmonite acuta che può evolvere rapidamente verso quadri severi. Il periodo di incubazione è più lungo rispetto alla *febbre di Pontiac*, variando generalmente tra 2 e 10 giorni. L'esordio può essere graduale, con sintomi aspecifici iniziali, oppure più acuto (31) (33). Dal punto di vista clinico, il quadro è dominato da sintomi respiratori, tra cui tosse inizialmente secca, dispnea e dolore toracico. La febbre è generalmente elevata, ma può essere meno evidente nei pazienti immunocompromessi. Un elemento peculiare, sebbene non specifico, è la cosiddetta bradicardia relativa, ovvero una frequenza cardiaca inferiore rispetto a quella attesa per il grado di febbre; tale fenomeno sembra riflettere un'alterazione della normale risposta autonoma alla febbre, probabilmente mediata dalla risposta infiammatoria sistemica e da modificazioni del bilancio simpatico-vagale (34).

Un aspetto importante della legionellosi è la frequente presenza di manifestazioni extrapolmonari, che possono fornire un indizio diagnostico. Tra queste si includono:

- sintomi gastrointestinali, come diarrea, nausea e dolore addominale;
- sintomi neurologici, tra cui cefalea, confusione e alterazioni dello stato mentale;
- alterazioni epatiche, con aumento delle transaminasi;
- disturbi elettrolitici, in particolare iponatriemia (33) (35) (36).

Questa combinazione di segni e sintomi, soprattutto in presenza di polmonite, deve far sospettare una possibile infezione da *Legionella*.

Dal punto di vista laboratoristico, si osserva frequentemente un aumento degli indici di flogosi, leucocitosi, incremento della creatinichinasi e alterazioni degli elettroliti;

FEBBRE DI PONTIAC Forma lieve e non polmonare		MALATTIA DEI LEGIONARI Forma di polmonite acuta, anche grave
Periodo di incubazione	24–48 ore	2–10 giorni
Sintomi principali	• febbre • malessere • mialgie • cefalea • tosse non produttiva • nausea e diarrea • risoluzione spontanea senza necessita di antibiotici	• tosse, secca inizialmente • dispnea e dolore toracico • febbre elevata • <i>bradycardia relativa</i> • diarrea, nausea, dolore addominale • cefalea, confusione, alterazioni transaminasi e dello stato mentale • iponatriemia

Figura 5 - Confronto tra i profili clinici delle infezioni causate da *Legionella*.

A sinistra, la Febbre di Pontiac si configura come una forma simil-influenzale acuta a breve incubazione (24-48 ore) e a decorso benigno. A destra, la malattia dei legionari presenta un periodo di incubazione più lungo (2-10) giorni e manifestazioni polmonari severe.

Fonte: elaborazione propria.

l'iponatriemia è considerata un reperto relativamente caratteristico, anche se non specifico (35). Le indagini radiologiche, comprendenti la radiografia del torace e la tomografia computerizzata (TC) toracica, possono mostrare reperti polmonari variabili, che includono addensamenti alveolari, infiltrati interstiziali o lesioni multifocali. Nei pazienti immunocompromessi possono inoltre comparire cavitazioni. Tuttavia, tali reperti non sono specifici e non consentono di distinguere con certezza la legionellosi da altre polmoniti batteriche (37). La legionellosi può evolvere verso complicanze gravi, soprattutto nei pazienti a rischio. Tra queste rientrano l'insufficienza respiratoria acuta, talvolta con necessità di ventilazione meccanica, lo shock settico, l'insufficienza renale acuta e la coagulazione intravascolare disseminata. La mortalità può essere significativa, in particolare nei casi nosocomiali e nei soggetti immunodepressi (32) (38). Nei pazienti pediatrici la malattia è rara, ma quando si verifica è spesso associata a condizioni predisponenti, come prematurità, patologie respiratorie croniche o terapie con glucocorticoidi (34).

1.7 Diagnosi

La diagnosi di legionellosi rappresenta una sfida clinica, in quanto la presentazione della malattia è spesso aspecifica e sovrapponibile ad altre forme di polmonite. Per questo motivo, il contesto epidemiologico e clinico risulta fondamentale e deve essere integrato con indagini di laboratorio specifiche. Ai fini dell'orientamento diagnostico, è quindi importante valutare le caratteristiche del singolo paziente, inclusi età, periodo dell'anno, dati anamnestici quali viaggi recenti o soggiorni in ambienti a rischio, nonché l'eventuale presenza di disturbi gastrointestinali o alterazioni dello stato mentale (39) (40).

Per quanto concerne le indagini di laboratorio, il CDC raccomanda, nei casi sospetti di *malattia del legionario*, l'esecuzione congiunta dei seguenti test diagnostici:

- Coltura o test molecolari di campioni delle secrezioni delle basse vie respiratorie, quali espettorato, lavaggio broncoalveolare, aspirato tracheale e tessuto polmonare (41).
- Test antigenico urinario per *Legionella pneumophila* sierogruppo 1

La diagnosi definitiva è rappresentata dall'isolamento colturale, considerato il gold standard, sebbene richieda tempi relativamente lunghi (14).

Attualmente sono disponibili diverse tecniche diagnostiche, ciascuna caratterizzata da specifici vantaggi e limiti.

Il metodo colturale, pur rappresentando il gold standard diagnostico, richiede condizioni di crescita particolari: il genere *Legionella* necessita infatti di terreni specifici, come il BCYE (Buffered Charcoal Yeast Extract), e incubazione a circa 35°C, con comparsa delle colonie dopo 4–10 giorni. I campioni più utilizzati sono quelli di origine polmonare, tra cui lavaggio broncoalveolare (BAL), tracheoaspirato e liquido pleurico, sebbene in alcuni casi il batterio possa essere isolato anche da sedi extrapolmonari, come fegato, milza, reni o ascessi cutanei (42) (43). Le colture batteriche permettono l'identificazione di tutte le specie e dei diversi sierogruppi di *Legionella* e consentono il confronto con gli isolati ambientali durante le indagini epidemiologiche; rappresentano dunque uno strumento essenziale per ricostruire la possibile fonte di esposizione in caso di epidemia o di sospetta acquisizione nosocomiale (41) (44) (45). La coltura è indicata soprattutto nei pazienti con polmonite severa, negli immunocompromessi, nelle infezioni nosocomiali e nei casi in cui si sospettino specie diverse da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 (42) (44).

I test sierologici si basano sulla rilevazione di anticorpi specifici mediante tecniche quali Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), microagglutinazione e

immunofluorescenza. Il limite principale è rappresentato dalla possibile comparsa tardiva della risposta anticorpale, con conseguenti falsi negativi, soprattutto nei pazienti immunocompromessi o anziani, che quindi non permette l'identificazione e la terapia specifica precocemente (43) (46).

La ricerca dell'antigene urinario è attualmente il test più utilizzato nella pratica clinica, grazie alla rapidità di esecuzione e alla buona sensibilità. Consente di rilevare la presenza di antigeni di *Legionella pneumophila*, in particolare del sierogruppo 1, già nelle fasi precoci della malattia. L'antigene, derivato dal lipopolisaccaride della parete batterica, è rilevabile già entro 1–3 giorni dall'insorgenza dei sintomi, con un picco tra il quinto e il decimo giorno (42) (46) (47). In alcuni casi, può rilevare l'infezione da *Legionella* per giorni o settimane (o anche più a lungo, in rari casi) dopo il trattamento. (45) Tuttavia, il limite principale dell'urinary antigen test (UAT) è rappresentato dalla mancata identificazione di altre specie e sierogruppi diversi dal sierogruppo 1; pertanto, se utilizzato come unico test diagnostico, può non identificare infezioni sostenute da altri sierogruppi o da altre specie di *Legionella*. Per questo motivo, la raccolta e l'analisi di campioni delle basse vie respiratorie risultano fondamentali, poiché la coltura e molti test molecolari sono in grado di rilevare specie e sierogruppi non identificabili mediante test antigenico urinario (45).

La rilevazione può essere effettuata mediante metodiche immunoenzimatiche (EIA), caratterizzate da elevata sensibilità, oppure mediante test immunocromatografici (ICT), più rapidi e facilmente eseguibili. Tra i vantaggi si annoverano la semplicità di esecuzione e la possibilità di diagnosi precoce, mentre tra gli svantaggi vi è la difficoltà nel distinguere tra infezione acuta e pregressa, data la possibile persistenza dell'antigene nel tempo (42) (46) (47) (48).

Le tecniche di biologia molecolare, come la Polymerase Chain Reaction (PCR), permettono la rilevazione rapida del DNA batterico e possono consentire l'identificazione di specie e sierogruppi di *Legionella* non rilevabili mediante il solo test antigenico urinario, risultando particolarmente utili nei casi complessi o nei contesti ospedalieri (19) (46). Inoltre, i test molecolari possono risultare più sensibili della coltura nella rilevazione dell'infezione da *Legionella* dopo l'inizio della terapia antibiotica, condizione che può ridurre la vitalità batterica e quindi la possibilità di isolamento colturale (45).

Poiché nessuna metodica diagnostica presenta sensibilità e specificità del 100%, l'approccio più corretto prevede l'utilizzo combinato di differenti test, al fine di aumentare l'accuratezza diagnostica e di ridurre il rischio di falsi negativi. (44) (47)

Test	Sensibilità (%)	Specificità (%)
Cultura	20–80	100
Antigene urinario per <i>L. pneumophila</i> sierogruppo 1 [A] (Lp1)	70–100	95–100
Reazione a catena della polimerasi (PCR) [B]	95–99	>99
Colorazione con anticorpi fluorescenti diretti (DFA)	25–75	>95
Sierologia accoppiata [C]	80–90	>99

Figura 6. Intervalli di sensibilità e specificità di ciascun test diagnostico per *Legionella* (45)

Test	Dettagli	Svantaggi
Test di amplificazione degli acidi nucleici	• Può essere eseguita su campioni patologici (solitamente tessuto polmonare). • Rapido e sensibile • Alcuni test rilevano specie e sierogruppi diversi da Lp1 • Conferma di laboratorio	• I test variano a seconda del laboratorio [D] e la disponibilità commerciale potrebbe essere limitata negli Stati Uniti [E]
Cultura	• Rileva tutte le specie e i sierogruppi • Produce isolati clinici e ambientali che possono essere confrontati • Conferma di laboratorio	• Lento (fino a 14 giorni per crescere) • La sensibilità è altamente variabile • Affetto da trattamento antibiotico appropriato • Richiede terreni di coltura specializzati, che alcuni laboratori potrebbero non avere a disposizione e che possono essere difficili da reperire.

Antigene urinario	• Rapid • Conferma di laboratorio	• Può essere utilizzato solo per rilevare <i>L. pneumophila</i> sierogruppo 1 [A] (Lp1) • Non consente il confronto molecolare con isolati clinici o ambientali.
DFA	• Può essere eseguita su campioni patologici (solitamente tessuto polmonare). • Può rilevare specie e sierogruppi diversi da Lp1 • Prove di laboratorio a supporto	• Tecnicamente difficile • I reagenti potrebbero essere difficili da reperire
Sierologia	• Può rilevare specie e sierogruppi diversi da Lp1 • Conferma di laboratorio per Lp1; a supporto anche per altri tipi di <i>Legionella</i>	• Devono essere raccolti campioni di siero appaiati all'esordio acuto fino a 2 settimane dopo la comparsa dei sintomi e da 3 a 6 settimane dopo [C] [F] • I singoli risultati non possono essere interpretati come indicativi della malattia del legionario. • Non tempestivo per il processo decisionale clinico

Figura 7 e 8 (continuazione). Principali test diagnostici per la legionellosi: caratteristiche, vantaggi e limiti delle diverse metodiche di laboratorio. Sono riportati il test antigenico urinario, la coltura, i test di amplificazione degli acidi nucleici, l'immunofluorescenza diretta e la sierologia, con particolare riferimento alla rapidità diagnostica, alla capacità di rilevare specie e sierogruppi diversi da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 e ai principali limiti applicativi (45).

1.8 Diagnosi differenziale

La diagnosi differenziale della legionellosi si pone principalmente con le altre cause di polmonite acquisita in comunità, in particolare con le forme cosiddette “atipiche”, poiché il quadro clinico iniziale può risultare sovrapponibile e privo di elementi patognomonic.

Tra le principali condizioni da considerare rientrano la polmonite da *Mycoplasma pneumoniae*, le polmoniti virali, la psittacosi, la febbre Q e la tularemia; inoltre, negli immunocompromessi, devono essere prese in considerazione anche le polmoniti sostenute da microrganismi opportunisti (49).

La polmonite da *Mycoplasma pneumoniae* presenta spesso un decorso più subacuto, con sintomatologia respiratoria talora meno severa e maggiore frequenza di interessamento delle alte vie aeree. Al contrario, la legionellosi tende maggiormente a manifestarsi con febbre elevata, compromissione sistemica più marcata e presenza di sintomi extrapolmonari.

Anche le polmoniti virali possono presentarsi con febbre, tosse secca ed infiltrati interstiziali, ma la legionellosi deve essere sospettata soprattutto in presenza di diarrea, confusione, alterazioni dei valori epatici o iponatremia, elementi che, pur non essendo specifici, risultano particolarmente suggestivi nel contesto clinico appropriato.

Sebbene la polmonite pneumococcica rappresenti la forma più comune di polmonite batterica “tipica”, in molti casi la presentazione iniziale può essere difficilmente distinguibile da quella della legionellosi. Tuttavia, la malattia dei legionari si associa più spesso ad un coinvolgimento extrapolmonare, a reperti laboratoristici suggestivi ed a una risposta clinica insoddisfacente alla terapia empirica con beta-lattamici, inefficaci nei confronti di *Legionella* in quanto patogeno intracellulare.

Nel sospetto di psittacosi, febbre Q o tularemia, risultano particolarmente importanti i dati anamnestici ed epidemiologici, quali esposizione ad animali, ambienti rurali o contatti professionali specifici. Analogamente, nella legionellosi assumono grande rilievo l'anamnesi di viaggi recenti, il soggiorno in strutture recettive, l'esposizione a impianti idrici contaminati o la possibile acquisizione nosocomiale dell'infezione. In questo senso, il contesto epidemiologico rappresenta un elemento fondamentale per orientare correttamente la diagnosi differenziale.

Nei soggetti immunocompromessi, infine, la diagnosi differenziale deve estendersi anche alle infezioni opportunistiche, tra cui polmoniti fungine, nocardiosi e polmoniti da *Pneumocystis jirovecii*, che possono condividere con la legionellosi un decorso severo, un quadro radiologico talora atipico e una maggiore probabilità di evoluzione sfavorevole. Per

tale motivo, la valutazione diagnostica non può basarsi su un singolo elemento clinico, ma deve integrare dati anamnestici, quadro clinico, esami di laboratorio, imaging e test microbiologici specifici (50) (39).

1.9 Terapia

Il trattamento della legionellosi si basa sull'utilizzo di antibiotici in grado di penetrare efficacemente all'interno delle cellule, in quanto microrganismo intracellulare.

Le principali classi di antibiotici intracellulari utilizzate sono i macrolidi e i fluorochinoloni. Tra i macrolidi, l'azitromicina è uno dei farmaci più impiegati, grazie alla sua efficacia e al buon profilo di tollerabilità; tra i fluorochinoloni, la levofloxacinina rappresenta una delle opzioni più utilizzate, con elevata attività battericida (51) (52).

La scelta tra queste due classi può dipendere da diversi fattori, tra cui la gravità del quadro clinico, le condizioni del paziente e la presenza di eventuali controindicazioni. Nei pazienti con forme severe, è spesso preferita la terapia con fluorochinoloni per via endovenosa (51) (53). La durata del trattamento varia in base alla gravità della malattia ed allo stato immunitario del paziente. Nei soggetti immunocompetenti, la terapia ha generalmente una durata di 7-10 giorni, mentre negli immunocompromessi può essere necessario prolungarla fino a 14-21 giorni (14).

Il trattamento standard consiste in 500 mg di levofloxacinina ogni 24 ore per 7-10 giorni. Nel caso il fluorochinolone non risultasse adatto, come alternativa può essere utilizzata l'azitromicina alla dose di 500 mg ogni 24 ore.

Un elemento fondamentale è rappresentato dalla tempestività dell'inizio della terapia. Un trattamento precoce e adeguato è infatti associato a una significativa riduzione della mortalità e delle complicanze.

La febbre di Pontiac, essendo una forma autolimitante, non richiede trattamento antibiotico specifico, ma solo terapia sintomatica (53).

Nei casi più gravi, può essere necessario un supporto intensivo, che includa ossigenoterapia, ventilazione meccanica e gestione delle complicanze sistemiche (38)

CAPITOLO 2

EPIDEMIOLOGIA E SORVEGLIANZA

2.1 Epidemiologia della legionellosi

La legionellosi rappresenta una patologia infettiva a distribuzione globale, con un impatto crescente in termini di sanità pubblica. Negli ultimi decenni si è assistito a un progressivo aumento dei casi notificati, fenomeno attribuibile sia a un reale incremento dell'incidenza, sia al miglioramento delle capacità diagnostiche e dei sistemi di sorveglianza (54) (55) (36). L'epidemiologia della legionellosi è caratterizzata da una notevole variabilità geografica e temporale, influenzata da molteplici fattori, tra cui condizioni ambientali, caratteristiche delle infrastrutture idriche, livello di urbanizzazione e qualità dei sistemi sanitari. A questi si aggiungono fattori demografici, come l'invecchiamento della popolazione, e fattori comportamentali, come il fumo di sigaretta (54) (36).

La malattia si presenta prevalentemente in forma sporadica, ma possono verificarsi epidemie o cluster associati ad una fonte comune di esposizione, come sistemi di climatizzazione o reti idriche contaminate (56) (57) (58); questi eventi sottolineano l'importanza del controllo ambientale e della sorveglianza epidemiologica.

Dal punto di vista demografico, la legionellosi colpisce prevalentemente soggetti adulti e anziani, con una netta prevalenza nel sesso maschile (59) (60) (54) (36). Questo dato è verosimilmente correlato sia ad una maggiore esposizione a fattori di rischio, sia a una più elevata incidenza di patologie croniche e abitudini come il fumo.

Un aspetto rilevante è rappresentato dalla sottodiagnosi della malattia. La legionellosi è infatti spesso sottostimata, in quanto non sempre viene ricercata nei pazienti con polmonite, soprattutto nei contesti in cui le risorse diagnostiche sono limitate. (60) (54) (36).

2.1.1 Dati globali

A livello mondiale, la legionellosi è considerata una delle principali infezioni correlate all'acqua, sebbene la distribuzione dei casi sia estremamente eterogenea e influenzata dalla capacità dei diversi Paesi di identificare e notificare la malattia (54) (60).

Nei Paesi ad alto reddito, dove i sistemi di sorveglianza sono più strutturati e l'accesso alle tecniche diagnostiche è più diffuso, l'incidenza è relativamente ben documentata. In questi

contesti, la legionellosi rappresenta una causa significativa di polmonite acquisita in comunità (54).

Al contrario, nei Paesi a basso e medio reddito, la carenza di risorse diagnostiche e di sistemi di sorveglianza efficienti determina una significativa sottostima dei casi (60) (54) (36).

A livello globale, si osserva una tendenza all'aumento dei casi segnalati, fenomeno attribuibile anche al miglioramento delle tecniche diagnostiche, in particolare grazie alla diffusione del test per la ricerca dell'antigene urinario, oltre che all'invecchiamento della popolazione e all'aumento delle condizioni di rischio di immunodepressione (54) (60) (36).

Un ulteriore elemento da considerare è rappresentato dai cambiamenti climatici, che possono favorire la proliferazione della *Legionella* negli ambienti acquatici (60).

2.1.2 Europa

In Europa, la legionellosi è oggetto di monitoraggio tramite sistemi di sorveglianza strutturati. Negli ultimi anni si è osservato un incremento significativo del numero di casi notificati, con valori che hanno raggiunto livelli storicamente elevati (56) (61).

Questo aumento è attribuibile a diversi fattori, tra cui il miglioramento delle capacità diagnostiche, la maggiore consapevolezza clinica e l'invecchiamento della popolazione (61). Esiste tuttavia una marcata variabilità tra i diversi Paesi europei, con incidenze differenti e modalità di segnalazione eterogenee. Paesi come Italia, Francia, Spagna e Germania contribuiscono in maniera rilevante al numero totale di casi (61).

Un aspetto di particolare interesse è rappresentato dai casi associati ai viaggi, spesso legati a soggiorni in strutture ricettive, dove la complessità degli impianti idrici può favorire la proliferazione del batterio in essi (57) (58).

Le epidemie sono generalmente associate a fonti ambientali ben definite, come torri di raffreddamento o sistemi idrici contaminati (56) (57) (58).

2.1.3 Italia

In Italia, la legionellosi rappresenta una patologia di crescente rilevanza epidemiologica, con un numero di casi notificati in progressivo aumento negli ultimi anni (59) (62).

La distribuzione geografica non è uniforme, con un gradiente Nord-Sud caratterizzato da incidenze più elevate nelle regioni settentrionali e centrali; infatti, il 74,9% dei casi è stato notificato da Lombardia, Emilia-Romagna, Toscana, Veneto, Lazio e Piemonte (59) (62).

La maggior parte dei casi è rappresentata da infezioni di origine comunitaria, mentre una quota minore è costituita da casi associati a viaggi e da infezioni nosocomiali (62).

I casi nosocomiali, pur essendo meno frequenti, sono associati a maggiore gravità clinica e mortalità, in relazione alla fragilità dei pazienti coinvolti (59) (62).

Dal punto di vista demografico, i pazienti sono prevalentemente anziani e di sesso maschile, con frequente associazione a comorbidità croniche (60) (62).

Table 1. Legionnaires' disease cases and rates per 100 000 population by country and year, EU/EEA, 2019–2023

Country	2019		2020		2021		2022		2023		
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	ASR
Austria	255	2.9	249	2.8	278	3.1	305	3.4	325	3.6	3.2
Belgium	224	2.0	143	1.2	274	2.4	268	2.3	378	3.2	2.9
Bulgaria	5	0.1	7	0.1	1	0.0	3	<0.1	4	0.1	0.1
Croatia	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NRC
Cyprus	4	0.5	3	0.3	4	0.4	3	0.3	7	0.8	0.8
Czechia	277	2.6	231	2.2	219	2.1	296	2.8	346	3.2	2.7
Denmark	269	4.6	278	4.8	281	4.8	287	4.9	313	5.3	4.6
Estonia	12	0.9	18	1.4	10	0.8	14	1.1	20	1.5	1.3
Finland	44	0.8	24	0.4	34	0.6	43	0.8	54	1.0	0.9
France	1 816	2.7	1 328	2.0	2 039	3.0	1 863	2.7	2 172	3.2	2.8
Germany	1 554	1.9	1 270	1.5	1 530	1.8	1 456	1.7	2 155	2.6	2.1
Greece	45	0.4	29	0.3	25	0.2	48	0.5	59	0.6	0.5
Hungary	113	1.2	101	1.0	85	0.9	86	0.9	106	1.1	1.0
Iceland	4	1.1	4	1.1	10	2.7	2	0.5	NDR	NRC	NRC
Ireland	21	0.4	12	0.2	4	0.1	23	0.5	34	0.6	0.7
Italy	3 205	5.4	2 120	3.6	2 726	4.6	3 106	5.3	3 874	6.6	5.0
Latvia	42	2.2	27	1.4	61	3.2	66	3.5	78	4.1	3.7
Liechtenstein	NDR	NRC	NDR	NRC	2	5.1	1	2.5	2	5.0	4.2

SURVEILLANCE REPORT

Annual epidemiological report for 2023

Country	2019		2020		2021		2022		2023		
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	ASR
Lithuania	17	0.6	12	0.4	4	0.1	21	0.7	71	2.5	2.3
Luxembourg	14	2.3	10	1.6	17	2.7	12	1.9	22	3.3	3.4
Malta	5	1.0	16	3.1	8	1.6	9	1.7	13	2.4	2.3
Netherlands	566	3.3	461	2.6	658	3.8	623	3.5	882	5.0	4.4
Norway	65	1.2	39	0.7	43	0.8	70	1.3	72	1.3	1.3
Poland	74	0.2	46	0.1	46	0.1	109	0.3	424	1.2	1.0
Portugal	201	2.0	307	3.0	254	2.5	245	2.4	361	3.4	2.8
Romania	19	0.1	8	<0.1	8	<0.1	32	0.2	56	0.3	0.3
Slovakia	85	1.6	98	1.8	148	2.7	131	2.4	75	1.4	1.3
Slovenia	196	9.4	120	5.7	88	4.2	143	6.8	169	8.0	6.9
Spain	1 542	3.3	1 336	2.8	1 703	3.6	1 966	4.1	2 283	4.7	4.0
Sweden	182	1.8	135	1.3	168	1.6	216	2.1	182	1.7	1.6
EU/EEA (30 countries)	10 856	2.4	8 432	1.9	10 728	2.4	11 447	2.6	14 537	3.2	2.7
United Kingdom	517	0.8	NDR	NRC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
EU/EEA (31 countries)	11 373	2.2	8 432	1.9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Source: Country reports.

ASR: Age-standardised rate.

NDR: No data reported.

NRC: No rate calculated.

NA: Not applicable.

No data from 2020 onwards were reported by the United Kingdom, due to its withdrawal from the EU on 31 January 2020.

Figura 9. Incidenza della legionellosi nei Paesi dell'Unione Europea/Spazio Economico Europeo (UE/SEE) nel periodo 2019–2023. Numero di casi e tassi per 100.000 abitanti riportati per singolo Paese e complessivamente (61)

2.2 Sorveglianza sanitaria

Le Linee Guida del 7 maggio 2015 per la prevenzione e il controllo della legionellosi costituiscono tuttora il principale riferimento tecnico-scientifico per la gestione del rischio associato a questo patogeno. Tali linee guida forniscono indicazioni operative riguardanti la manutenzione degli impianti idrici e di ventilazione, le modalità di campionamento e le procedure di sanificazione, con l'obiettivo di ridurre la probabilità di contaminazione e diffusione del batterio (19).

Negli ultimi anni, anche in relazione all'aumento dei casi notificati, il quadro normativo italiano è stato progressivamente rafforzato, in coerenza con la Direttiva (UE) 2020/2184. L'introduzione del Decreto Legislativo n. 18/2023 e del successivo D.lgs. n. 102/2025 ha reso obbligatorie molte delle misure precedentemente raccomandate, in particolare negli edifici classificati come prioritari, tra cui strutture sanitarie, residenze assistenziali, scuole e strutture ricettive. In tali contesti, l'adozione di strategie di prevenzione strutturate risulta essenziale, soprattutto in presenza di popolazioni fragili (19).

All'interno di questo quadro, la gestione del rischio di diffusione di *Legionella* si basa su un approccio sistematico e continuo. I responsabili delle strutture sono chiamati ad effettuare una valutazione del rischio specifica per gli impianti, a implementare un Piano di Sicurezza dell'Acqua (PSA) e a garantire un monitoraggio regolare della qualità microbiologica (la concentrazione di *Legionella* nei punti di erogazione non deve superare il limite raccomandato di < 1000 UFC/L) (63) (64).

Particolare attenzione deve essere rivolta al controllo della concentrazione di *Legionella* nei punti di erogazione, che non dovrebbe superare i limiti raccomandati; in caso contrario, devono essere tempestivamente adottate misure correttive, come interventi di disinfezione o adeguamento degli impianti (63) (64).

Un ruolo cruciale è svolto anche dalla prevenzione primaria, che comprende una corretta progettazione degli impianti, la manutenzione periodica, il controllo delle temperature dell'acqua e la prevenzione della stagnazione. Questi interventi consentono di limitare la proliferazione del microrganismo e rappresentano uno degli strumenti più efficaci per ridurre il rischio di infezione (36).

La sorveglianza nazionale della legionellosi, attiva in Italia dal 1983, permette la raccolta sistematica di dati clinici, microbiologici ed epidemiologici, oltre che di informazioni relative alle possibili fonti di esposizione. Questo sistema consente di monitorare nel tempo

l'andamento della malattia e di individuare eventuali variazioni nella sua distribuzione (63) (59).

A livello internazionale, la Legionella è considerata uno dei principali patogeni associati all'acqua, con un impatto rilevante sulla salute pubblica. In questo contesto, l'Europea Centre for Disease Prevenzioni and Control (ECDC) sottolinea l'importanza dell'implementazione di adeguate misure di controllo degli impianti idrici, soprattutto nei contesti ad alto rischio come ospedali e strutture di lunga degenza (56) (65) (66).

Uno degli obiettivi fondamentali della sorveglianza è quello di identificare tempestivamente le esposizioni a rischio per ciascun caso segnalato, al fine di attivare indagini epidemiologiche e ambientali mirate (63) (36).

La legionellosi rientra tra le malattie soggette a notifica obbligatoria. In Italia, i casi vengono segnalati dalle ASL e dalle Regioni al sistema di sorveglianza nazionale coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), attraverso specifiche schede di notifica (59) (63).

Il medico che pone diagnosi di legionellosi ha quindi un ruolo chiave nel sistema di sorveglianza, essendo responsabile della segnalazione tempestiva del caso alle autorità sanitarie competenti.

Le ASL, in collaborazione con l'ISS, Regioni e altri enti, gestiscono le indagini epidemiologiche e ambientali, che comprendono sia la ricostruzione delle possibili esposizioni sia il campionamento degli impianti sospetti. In presenza di cluster o focolai, vengono poi attuate misure di controllo, quali interventi di bonifica, disinfezione e manutenzione straordinaria degli impianti (63) (36).

Il Laboratorio Nazionale di Riferimento dell'ISS svolge un ruolo centrale nella caratterizzazione dei ceppi isolati, conservandoli e rendendone possibile il confronto tra campioni clinici e ambientali, al fine di facilitare l'identificazione delle fonti di infezione. (63)

Infine, l'Italia partecipa al network europeo Elidente (European Legionnaires' disease Surveillance Network), coordinato dall'ECDC, che consente lo scambio di informazioni tra i Paesi membri e il monitoraggio dei casi associati ai viaggi. Questo sistema è particolarmente utile per l'identificazione di cluster transnazionali e per l'attuazione di interventi coordinati a livello europeo (56) (65) (63).

2.3 Definizione e classificazione dei casi

La definizione di caso rappresenta un elemento fondamentale nell'ambito della sorveglianza epidemiologica della legionellosi, in quanto consente di classificare in modo uniforme i pazienti e di garantire la comparabilità dei dati tra diversi contesti geografici e temporali (36).

Tra gli obiettivi principali della sorveglianza rientrano il monitoraggio della frequenza della malattia, l'identificazione di eventuali variazioni nel tempo e l'individuazione precoce di cluster epidemici, al fine di riconoscere i fattori di rischio e di interrompere la catena di trasmissione (19).

La definizione di caso si basa su una combinazione di criteri clinici e di laboratorio. Dal punto di vista clinico, è richiesta la presenza di un'infezione acuta delle basse vie respiratorie, generalmente sotto forma di polmonite, documentata da segni clinici e/o reperti radiologici compatibili.

I criteri di laboratorio permettono invece di distinguere i casi in base al grado di certezza diagnostica. In particolare, si definiscono:

- **casi confermati**, in presenza di evidenze microbiologiche certe, quali l'isolamento del microrganismo da campioni clinici, la rilevazione dell'antigene urinario o l'identificazione del DNA batterico mediante tecniche molecolari (36) (19);
- **casi probabili**, quando sono presenti criteri clinici compatibili associati a evidenze di laboratorio meno specifiche, come la sierologia (36) (19).

Questa distinzione risulta essenziale per una corretta interpretazione dei dati epidemiologici e per la gestione dei sistemi di sorveglianza (56).

Un ulteriore livello di classificazione riguarda il contesto di acquisizione dell'infezione. I casi possono infatti essere distinti in:

- **comunitari**, quando l'infezione è acquisita al di fuori di strutture sanitarie;
- **associati a viaggi**, quando il paziente ha soggiornato in strutture ricettive nei giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi;
- **nosocomiali**, quando l'infezione è acquisita in ambito sanitario (65) (56).

Nel caso della legionellosi nosocomiale, la classificazione può essere ulteriormente articolata in:

- **caso certo**, quando l'esposizione in ambito ospedaliero è chiaramente documentata, ad esempio in pazienti ricoverati per almeno dieci giorni prima dell'esordio dei sintomi;

- **caso probabile**, quando esiste una correlazione temporale plausibile tra ricovero e insorgenza della malattia, oppure quando vi è evidenza microbiologica di correlazione tra ceppi clinici e ambientali;
- **caso possibile**, quando il legame con la struttura sanitaria non può essere stabilito con certezza (19) (63).

Dal punto di vista laboratoristico, ulteriori criteri includono l'identificazione diretta del microrganismo mediante tecniche di immunofluorescenza, la rilevazione del materiale genetico tramite PCR e l'evidenza sierologica di infezione attraverso incremento significativo del titolo anticorpale (19).

Infine, la presenza di cluster epidemiologici può essere definita dal riscontro di due o più casi associati alla stessa struttura sanitaria o ricettiva in un determinato intervallo temporale, elemento che assume particolare rilevanza per l'attivazione delle indagini ambientali e delle misure di controllo. (63)

Classificazione della legionellosi nosocomiale		
Categoria	Definizione	Criteri principali
Caso certo	Infezione acquisita con elevata probabilità in ambito ospedaliero	Ricovero continuativo ≥ 10 giorni prima dell'esordio dei sintomi
Caso probabile	Infezione verosimilmente correlata al ricovero	Ricovero da 1 a <10 giorni prima dell'esordio oppure evidenza microbiologica di correlazione tra ceppi clinici e ambientali
Caso possibile	Associazione con l'ambiente ospedaliero non dimostrabile	Esposizione sanitaria presente ma senza criteri temporali o microbiologici sufficienti

Figura 10. Criteri epidemiologici per la classificazione della legionellosi nosocomiale. Le infezioni contratte in ambito ospedaliero vengono suddivise in tre categorie di certezza (caso certo, probabile o possibile) in base alla durata del ricovero precedente all'esordio dei sintomi o alle evidenze microbiologiche.
Fonte: elaborazione propria.

2.4 Notifica e gestione dei casi

La legionellosi è una malattia soggetta a obbligo di notifica, in quanto presenta rilevanti implicazioni per la sanità pubblica. La notifica consente alle autorità sanitarie di essere informate tempestivamente della presenza di nuovi casi e di attivare le necessarie misure di controllo in caso di diffusione. (7) Il medico che pone la diagnosi è tenuto a segnalare il caso alle autorità competenti entro tempi brevi, generalmente entro 48 ore. (25) Questa rapidità è essenziale per consentire un intervento tempestivo, soprattutto in caso di cluster o focolai.

La notifica attiva una serie di procedure che includono un'indagine epidemiologica approfondita. Questa ha l'obiettivo di identificare la possibile fonte di infezione, valutando i luoghi frequentati dal paziente nei giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi, come abitazioni, luoghi di lavoro, strutture sanitarie o strutture ricettive frequentate. (36)

In parallelo, possono essere effettuati campionamenti ambientali, con analisi dell'acqua e degli impianti idrici, al fine di rilevare la presenza di *Legionella*. Queste indagini permettono di individuare eventuali fonti di contaminazione e di attuare interventi di bonifica. (67)

Le misure di gestione possono includere interventi tecnici sugli impianti, come disinfezione, aumento della temperatura dell'acqua o modifiche strutturali. In ambito sanitario, possono essere adottate misure aggiuntive, come la limitazione dell'utilizzo di alcune fonti idriche o l'adozione di dispositivi di filtrazione (36) (67). Un aspetto fondamentale è rappresentato dalla comunicazione tra i diversi livelli del sistema sanitario, che consente una gestione coordinata dei casi. In particolare, la collaborazione tra clinici, microbiologi, igienisti e tecnici è essenziale per una corretta gestione della legionellosi. (7)

Nel caso di cluster o epidemie, è necessario un intervento rapido e coordinato, al fine di interrompere la catena di trasmissione e prevenire nuovi casi. Questo può richiedere anche interventi a livello di sanità pubblica, come la chiusura temporanea di strutture o la bonifica di impianti contaminati. (36)

A livello europeo, la sorveglianza dei casi associati ai viaggi è coordinata dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) attraverso il network dell'European Legionnaires' disease Surveillance (ELDSNet), che raccoglie i dati relativi ai casi che si verificano durante i viaggi e consente l'identificazione precoce di cluster internazionali. (4) (24) (13) (57).

CAPITOLO 3

LEGIONELLOSI IN AMBITO SANITARIO

3.1 Infezioni correlate all'assistenza (ICA)

Le infezioni correlate all'assistenza (ICA) rappresentano una delle principali problematiche in ambito sanitario, sia per l'impatto clinico sui pazienti sia per le implicazioni organizzative ed economiche per le strutture sanitarie (68) (69).

Con questo termine si identificano le infezioni che insorgono durante il ricovero o in seguito a procedure assistenziali, e che al momento dell'ingresso del paziente non erano né presenti né in fase di incubazione. In generale, vengono considerate ICA le infezioni che diventano manifeste dopo almeno 48 ore dall'inizio del ricovero. Sono comprese nella definizione anche le infezioni che si manifestano dopo la dimissione, quando risultino correlate a procedure assistenziali, interventi chirurgici o esposizioni avvenute durante il percorso di cura (68). Le ICA comprendono un ampio spettro di condizioni, tra cui le più frequenti sono infezioni del tratto respiratorio, infezioni delle vie urinarie, infezioni del sito chirurgico e batteriemie. Queste infezioni sono spesso sostenute da microrganismi opportunisti, che sfruttano condizioni di vulnerabilità del paziente, come l'immunodepressione, l'età avanzata, la presenza di comorbidità multiple, uno stato nutrizionale compromesso o l'utilizzo di dispositivi invasivi (68).

Le strutture sanitarie rappresentano ambienti ad alto rischio per lo sviluppo di ICA, a causa della presenza di pazienti fragili e della crescente complessità delle cure, che comporta l'utilizzo di dispositivi medici e procedure invasive. Questi fattori, pur migliorando le possibilità terapeutiche, in alcuni casi possono aumentare il rischio di infezioni (69) (70).

In questo contesto, alcune infezioni presentano caratteristiche peculiari legate alle modalità di trasmissione. Tra queste, la legionellosi si distingue per essere associata prevalentemente a fonti ambientali, in particolare agli impianti idrici, piuttosto che alla trasmissione interumana (66).

Le ICA comportano un significativo aumento della durata della degenza ospedaliera, dei costi sanitari e della mortalità. Inoltre, hanno un impatto rilevante sulla qualità della vita dei pazienti e sulla sicurezza delle cure (71) (70). Per questo motivo, la loro prevenzione è considerata una priorità nei sistemi sanitari moderni.

3.2 Legionellosi nosocomiale

La legionellosi nosocomiale rappresenta una forma di infezione acquisita in ambito sanitario e costituisce una quota relativamente limitata dei casi complessivi, ma con un impatto clinico particolarmente rilevante. I pazienti che contraggono l'infezione durante il ricovero ospedaliero presentano infatti un rischio significativamente maggiore di complicanze e mortalità (72).

La classificazione della legionellosi nosocomiale deve tenere conto del periodo di incubazione della malattia, generalmente compreso tra 2 e 10 giorni, e della relazione temporale tra ricovero ed esordio dei sintomi. Secondo le Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi, un caso viene considerato di origine nosocomiale certa quando si verifica in un paziente ospedalizzato continuativamente per almeno dieci giorni prima dell'inizio dei sintomi. Viene invece considerato di possibile origine nosocomiale quando il paziente è stato ricoverato per un periodo variabile da 1 a 9 giorni nei 10 giorni precedenti l'insorgenza della sintomatologia. Tuttavia, la classificazione può risultare complessa, poiché il paziente può aver avuto esposizioni multiple, ospedaliere ed extraospedaliere, nel periodo precedente l'esordio clinico (72).

Le principali fonti di infezione in ambito ospedaliero sono rappresentate dai sistemi idrici, che possono essere colonizzati da *Legionella* in presenza di condizioni favorevoli. L'acqua calda sanitaria, in particolare, rappresenta un ambiente ideale per la proliferazione del batterio, soprattutto quando le temperature non vengono mantenute a livelli adeguati (66).

Oltre agli impianti idrici, anche alcuni dispositivi sanitari possono contribuire alla trasmissione dell'infezione. Tra questi si includono ventilatori, sistemi per aerosolterapia, dispositivi per ossigenoterapia e apparecchiature per broncoscopia. In questi casi, la contaminazione dell'acqua utilizzata all'interno dei dispositivi può determinare la formazione di aerosol contenenti il microrganismo (72) (66).

Le strutture ospedaliere presentano di per sé caratteristiche che favoriscono la colonizzazione da parte di *Legionella*: la complessità delle reti idriche, la presenza di serbatoi di accumulo, le variazioni di temperatura e la presenza di zone di ristagno rappresentano fattori che contribuiscono alla formazione di biofilm e alla persistenza del batterio (66).

Dal punto di vista clinico, la legionellosi nosocomiale si manifesta spesso con quadri più gravi rispetto alle forme comunitarie. Questo è dovuto principalmente alla maggiore fragilità

dei pazienti coinvolti, che spesso presentano condizioni di immunodepressione o patologie croniche.

I reparti a maggiore rischio includono le unità di terapia intensiva, i reparti di ematologia e oncologia, e le unità di trapianto. In questi contesti, anche una bassa concentrazione di batterio può essere sufficiente a infettare pazienti fragili, per cui le misure preventive messe in atto hanno l'obiettivo di garantire l'assenza di legionella intesa come "non rilevabilità" (66).

La mortalità associata alla legionellosi nosocomiale è significativamente più elevata rispetto alle forme comunitarie, soprattutto nei pazienti immunocompromessi. Questo sottolinea l'importanza di strategie efficaci di prevenzione e di una diagnosi precoce (72).

3.3 Valutazione del rischio nelle strutture sanitarie

La valutazione del rischio rappresenta un elemento fondamentale nella prevenzione della legionellosi in ambito sanitario, configurandosi come un processo sistematico volto a identificare e analizzare i fattori che possono favorire la presenza e la diffusione del microrganismo all'interno della struttura. (66).

Tale attività deve essere effettuata in maniera periodica e aggiornata in base alle caratteristiche della struttura, alle modifiche degli impianti e alla tipologia di pazienti assistiti. Non si tratta infatti di un intervento statico, ma di un sistema dinamico che richiede monitoraggio continuo e adattamento alle condizioni in evoluzione (73).

I principali elementi da considerare includono le caratteristiche dei sistemi idrici, come la presenza di serbatoi di accumulo, la lunghezza delle tubature, la presenza di rami a fondo cieco e la distribuzione della temperatura dell'acqua. Questi fattori influenzano direttamente la possibilità di proliferazione della Legionella (13) (66).

Un altro aspetto rilevante è rappresentato dalla manutenzione degli impianti. La presenza di incrostazioni, depositi e biofilm può favorire la crescita del batterio e ridurre l'efficacia dei trattamenti disinfettanti. Il biofilm, in particolare, rappresenta un ambiente protettivo per il microrganismo, rendendolo più resistente agli agenti chimici e fisici (19) (74).

Per questo motivo, la manutenzione regolare e la pulizia degli impianti sono elementi essenziali nella prevenzione.

La temperatura dell'acqua rappresenta uno dei parametri più importanti nella valutazione del rischio. Il mantenimento di temperature adeguate, sia per l'acqua calda che per quella fredda, è fondamentale per limitare la proliferazione del batterio (66) (13).

La valutazione del rischio deve inoltre considerare la tipologia di pazienti assistiti. Le strutture che ospitano pazienti immunocompromessi devono adottare misure più stringenti, in quanto questi soggetti presentano una maggiore suscettibilità all'infezione (13) (66).

Un ruolo importante è svolto dal monitoraggio ambientale, che include il campionamento periodico dell'acqua e l'analisi microbiologica. I risultati di queste analisi permettono di identificare eventuali contaminazioni e di pianificare interventi correttivi (73) (19).

Infine, la valutazione del rischio deve essere integrata in un piano di gestione complessivo, che includa procedure operative, formazione del personale e sistemi di controllo. Questo approccio, spesso formalizzato nei Piani di Sicurezza dell'Acqua, consente di ridurre il rischio di infezione e di garantire un elevato livello di sicurezza per i pazienti (73).

3.4 Misure di prevenzione e controllo

La prevenzione della legionellosi in ambito sanitario rappresenta un obiettivo prioritario, in quanto l'infezione è strettamente correlata alla contaminazione ambientale e, in particolare, agli impianti idrici. A differenza di molte altre infezioni nosocomiali, la trasmissione della *Legionella* non avviene prevalentemente da paziente a paziente, ma attraverso l'inalazione di aerosol contaminati (17).

Per questo motivo, le strategie di prevenzione devono essere orientate principalmente al controllo dell'ambiente e alla gestione del rischio microbiologico, piuttosto che all'isolamento dei pazienti. Le misure di prevenzione si basano su un approccio integrato che comprende interventi tecnici, organizzativi e procedurali, con l'obiettivo di limitare la proliferazione del batterio e ridurre l'esposizione dei soggetti più vulnerabili. Nel complesso, l'integrazione tra monitoraggio, interventi immediati e strategie a lungo termine rappresenta l'approccio più efficace per il controllo della *Legionella* in ambito sanitario.

3.4.1 Monitoraggio e sorveglianza ambientale

Il monitoraggio ambientale rappresenta uno degli strumenti fondamentali per il controllo della *Legionella* nelle strutture sanitarie. Esso consiste nel campionamento periodico dell'acqua, sia calda che fredda, e nella successiva analisi microbiologica per la ricerca del microrganismo.

La frequenza dei controlli varia in base al livello di rischio della struttura e dei singoli reparti: nelle aree ad alto rischio, come ad esempio terapie intensive o reparti di trapianto, il monitoraggio deve essere più frequente e rigoroso (75). I principali parametri valutati sono la concentrazione di *Legionella* (espressa in UFC/L) e la percentuale di campioni positivi. I risultati ottenuti permettono di valutare l'efficacia delle misure di controllo adottate e di pianificare eventuali interventi correttivi.

Il monitoraggio deve essere integrato nella valutazione del rischio e aggiornato periodicamente, in modo da adattare le strategie preventive alle condizioni della struttura in quel momento.

Accanto alla sorveglianza microbiologica, riveste un ruolo importante anche il controllo dei parametri fisici e chimici dell'acqua, in particolare temperatura e disinfettanti residui, che influenzano direttamente la proliferazione del batterio (76).

3.4.2 Interventi di controllo immediati

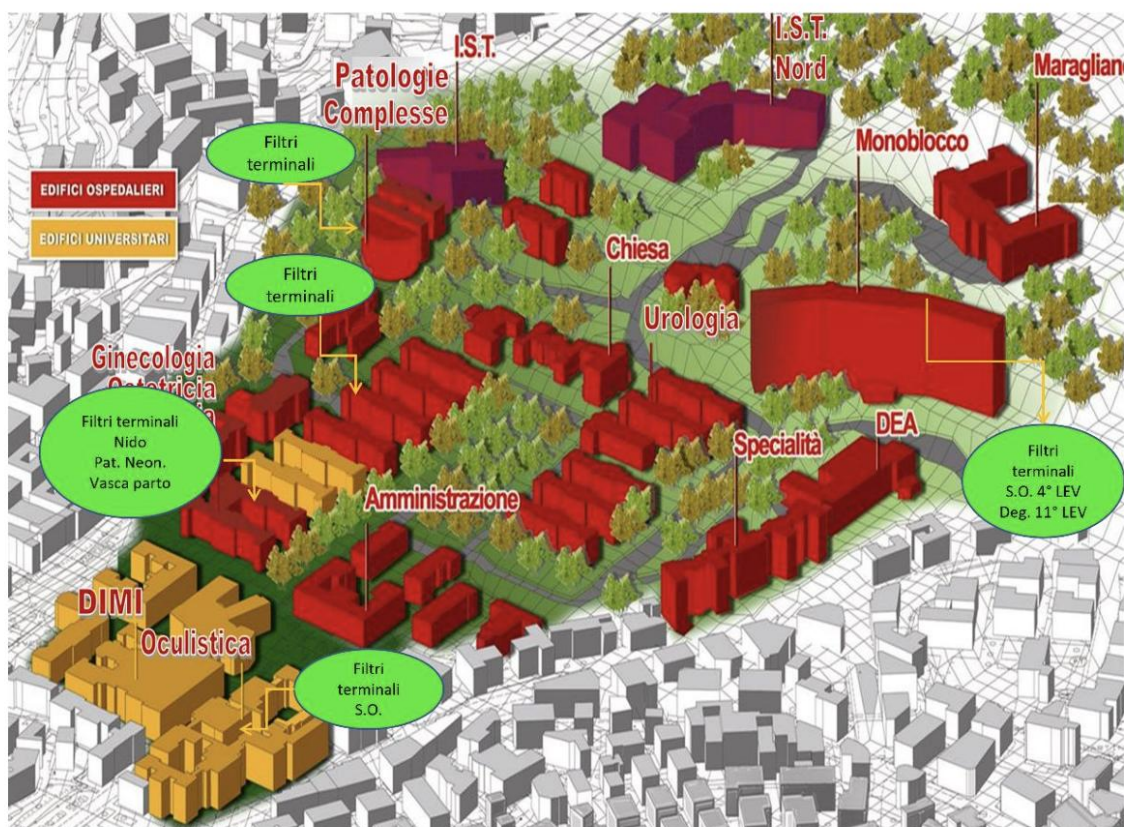
Gli interventi di controllo immediati vengono adottati in presenza di contaminazione significativa degli impianti o di casi di legionellosi, con l'obiettivo di ridurre rapidamente la carica batterica e limitare il rischio di esposizione.

Tra le principali strategie rientra la disinfezione termica, che consiste nell'innalzamento e mantenimento costante della temperatura dell'acqua a valori uguali o maggiori a 50°C nella rete di distribuzione, tali da inattivare il microrganismo.

Tuttavia, questo approccio presenta un'efficacia limitata nel tempo, poiché non impedisce la ricolonizzazione a partire dal biofilm (74).

Un'altra metodica ampiamente utilizzata è l'iperclorazione, che prevede l'impiego di elevate concentrazioni di cloro per la disinfezione degli impianti. Anche in questo caso, l'efficacia può essere ridotta dalla difficoltà del cloro di penetrare nei biofilm e nelle zone distali del sistema idrico, oltre ai possibili effetti corrosivi sulle tubature (13) (77).

Gli interventi immediati comprendono inoltre misure di contenimento dell'esposizione, come la sospensione dell'utilizzo di docce o rubinetti contaminati, l'impiego di acqua sterile per le procedure assistenziali e l'installazione di filtri terminali nei reparti ad alto rischio (78).



Queste strategie, sebbene efficaci nel breve periodo, devono essere integrate con interventi strutturali per garantire un controllo duraturo. I studi evidenziano che, senza un mantenimento costante delle temperature a regime, lo shock termico fallisce nel lungo periodo a causa della ricolonizzazione rapida a partire dal biofilm (74).

3.4.3 Strategie di prevenzione a lungo termine

Le strategie a lungo termine mirano a garantire un controllo stabile della contaminazione, intervenendo sulle cause strutturali che favoriscono la proliferazione della Legionella. A differenza del monitoraggio ambientale, queste strategie non si limitano alla rilevazione della contaminazione, ma mirano a prevenirla attraverso interventi strutturali e gestionali.

La revisione degli impianti idrici è la strategia primaria. La progettazione e la manutenzione devono evitare ristagni d'acqua, rami a fondo cieco e condizioni favorevoli alla formazione di biofilm, in quanto la stagnazione costituisce il principale fattore di crescita batterica. I sistemi idrici devono dunque essere progettati e gestiti in modo da garantire un flusso continuo. Nei punti poco utilizzati, è necessario effettuare flussaggi periodici per prevenire la crescita batterica, ovvero la pulizia di tubazioni tramite il passaggio di acqua. (79)

È inoltre cruciale monitorare i punti di ingresso dell'acqua: fluttuazioni di pressione nella

Figura 11. Applicazione di filtri al punto d'uso presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova

rete comunale possono causare il distacco di biofilm esterno e l'immissione di nuove cariche batteriche nell'edificio. (19) (79) (66)

La pulizia e la manutenzione degli impianti, come anticipato, sono altrettanto fondamentali. La rimozione di incrostazioni, depositi e biofilm contribuisce a ridurre i siti di proliferazione del batterio e a migliorare l'efficacia dei trattamenti disinfettanti. (74)

Il controllo della temperatura è uno dei parametri più rilevanti: l'acqua calda deve essere mantenuta a temperature superiori ai 50-55 °C, mentre l'acqua fredda deve essere mantenuta al di sotto dei 20 °C, al fine di limitare la crescita batterica. (76)

Tra le strategie più efficaci rientrano i sistemi di disinfezione dell'acqua, tra cui la clorazione, l'iperclorazione, l'utilizzo di biossido di cloro, la monocloramina o ionizzazione rame-argento, la disinfezione termica e l'impiego di sistemi a raggi ultravioletti. Questi permettono di mantenere un controllo microbiologico costante nel tempo. La scelta del metodo dipende dalle caratteristiche dell'impianto e dal livello di contaminazione. (19) (77) (74) (13)

Come già discusso, è possibile l'impiego di filtri terminali, in particolare nei reparti ad alto rischio, come le unità di terapia intensiva o i reparti di ematologia. Questi dispositivi permettono di ridurre l'esposizione dei pazienti a eventuali contaminazioni presenti nell'acqua. (78)

Un ruolo centrale è svolto dall'implementazione dei Piani di Sicurezza dell'Acqua (Water Safety Plan, WSP), che prevedono un approccio sistematico basato sulla valutazione del rischio, sul monitoraggio continuo e sull'adozione di misure preventive integrate. (75) (19)

La manutenzione programmata degli impianti rappresenta un elemento essenziale. Essa include la pulizia periodica, la sostituzione delle componenti usurate e il controllo dei parametri critici. (75)

Infine, accanto agli interventi tecnici, la formazione del personale sanitario è fondamentale per garantire una corretta applicazione delle procedure e la gestione tempestiva delle criticità. Il personale deve essere consapevole dei rischi associati alla *Legionella* e delle modalità di prevenzione. (75)

Le epidemie di legionellosi possono presentare sfide uniche per i laboratori di sanità pubblica. In contesti di questo tipo, il rischio di infezioni nosocomiali da *Legionella* risulta particolarmente rilevante, sia per la suscettibilità dei pazienti sia per la difficoltà di gestione di sistemi idrici complessi. Per questo motivo, l'adozione di un approccio sistematico alla gestione del rischio rappresenta un elemento fondamentale.

statali e locali. Durante un'indagine su un'epidemia di legionellosi, i laboratori potrebbero trovarsi improvvisamente a dover analizzare centinaia di campioni. Il personale di laboratorio può migliorare la propria preparazione elaborando un piano di risposta per le epidemie di legionellosi. (42)

3.5 Applicazione in un contesto ospedaliero complesso: il caso dell'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova

L'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova rappresenta una struttura sanitaria ad alta complessità assistenziale, caratterizzata da una vasta rete impiantistica e dalla presenza di reparti ad elevata vulnerabilità, quali terapie intensive, ematologie e unità di trapianto.

A partire dal 2017, presso l'IRCCS San Martino è stato implementato un Water Safety Plan (WSP), basato su una valutazione del rischio differenziata per edificio e per tipologia di pazienti assistiti. Questo approccio consente di pianificare gli interventi di controllo in maniera mirata, adattandoli alle specifiche criticità della struttura. (75)

L'attività di sorveglianza ambientale rappresenta uno degli elementi cardine del sistema. Tra il 2020 e il 2023 sono stati effettuati complessivamente 481 campionamenti d'acqua, con un tasso medio di positività per Legionella pari a circa il 10%. È stata osservata una variazione nel tempo della percentuale di campioni positivi, con un valore del 7,6% nel 2020, un picco del 17,6% nel 2021 e una successiva riduzione al 5,9% nel 2022, fino all'8,6% nel 2023.

I dati clinici evidenziano un buon controllo del rischio: infatti nell'intervallo di tempo considerato si sono registrati 54 casi di legionellosi, ma solamente in 2 episodi non è stato possibile escludere con certezza l'origine nosocomiale. Questo dato suggerisce come l'integrazione tra monitoraggio, prevenzione e interventi correttivi sia efficace nel limitare la trasmissione dell'infezione.

L'impiego di filtri terminali nei reparti ad alto rischio ha permesso di ridurre l'esposizione dei pazienti più vulnerabili. In tali contesti, è stato osservato come la Legionella risulti non rilevabile nei punti di erogazione dotati di filtrazione, confermando l'efficacia di questa misura come protezione immediata.

Dal punto di vista microbiologico, il sierotipo più frequentemente isolato è risultato il sierogruppo 3, seguito dal sierogruppo 1. I casi clinici hanno riguardato prevalentemente pazienti di sesso maschile, con età media di circa 66 anni e frequente presenza di comorbidità. Oltre agli interventi tecnici, un elemento fondamentale del sistema di prevenzione è rappresentato dall'organizzazione e dalla formazione del personale. La sorveglianza è infatti estesa anche agli operatori sanitari, attraverso protocolli di prevenzione primaria e controlli ambientali nei luoghi di lavoro, in collaborazione tra l'Unità Operativa di Igiene ed i servizi di Medicina del Lavoro.

Nel complesso, l'esperienza dell'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino evidenzia come sia possibile mantenere un buon controllo del rischio clinico anche in presenza di colonizzazione ambientale, attraverso l'applicazione integrata di strategie di prevenzione, monitoraggio continuo e interventi mirati.

Questo modello rappresenta oggi un riferimento per la gestione del rischio Legionella in ambito sanitario, dimostrando l'importanza di un approccio sistematico e multidisciplinare nella tutela della salute dei pazienti e degli operatori.

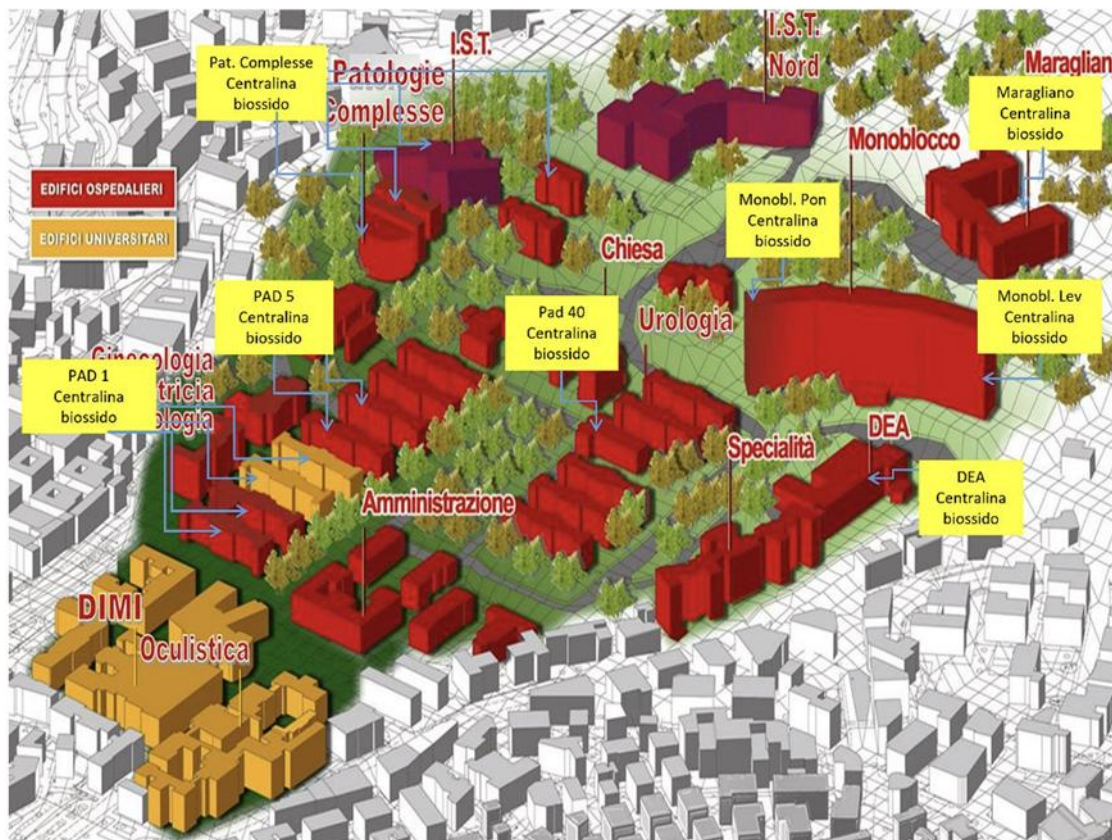


Figura 12. Localizzazione di dispositivi per la prevenzione della contaminazione della rete idrica attivi presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova

CAPITOLO 4

STUDIO SPERIMENTALE

4.1 Introduzione e obiettivi dello studio

La legionellosi rappresenta una problematica di rilevante interesse per la sanità pubblica e assume un significato particolarmente importante in ambito ospedaliero, dove la presenza di pazienti fragili e la complessità degli impianti idrico-sanitari possono aumentare il rischio di esposizione. Pur non essendo la forma più frequente di polmonite correlata all'assistenza, l'infezione da *Legionella* può determinare quadri clinici severi, soprattutto in soggetti anziani, immunocompromessi, affetti da patologie croniche o ricoverati in reparti ad alta intensità assistenziale.

Negli ambienti sanitari, il rischio di legionellosi non dipende esclusivamente dalla presenza del microrganismo nella rete idrica, ma deriva dall'interazione tra molteplici fattori. Tra questi rientrano le caratteristiche strutturali degli edifici, la complessità e l'estensione degli impianti, la presenza di biofilm o ristagni d'acqua, la temperatura dell'acqua, la frequenza di utilizzo dei terminali, la tipologia delle attività assistenziali svolte ed il grado di vulnerabilità dei pazienti esposti. Per questo motivo, la valutazione del rischio richiede un approccio integrato, che non si limiti al singolo risultato microbiologico, ma consideri il contesto strutturale e clinico-assistenziale in cui la contaminazione viene rilevata.

L'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova rappresenta un contesto particolarmente significativo per lo studio della contaminazione da *Legionella* in ambito sanitario. Si tratta infatti di una struttura ospedaliera complessa, articolata in numerosi padiglioni e edifici, con aree assistenziali, chirurgiche, diagnostiche, ambulatoriali e amministrative. La presenza di reparti ad alta complessità, aree onco-ematologiche, terapie intensive, sale operatorie, reparti medici e chirurgici e servizi dedicati a pazienti immunocompromessi rende necessaria una sorveglianza ambientale continua e differenziata in base al profilo di rischio delle diverse aree.

Il presente studio ha l'obiettivo di valutare l'andamento della sorveglianza della legionellosi presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova, attraverso l'analisi dei dati ambientali e clinico-epidemiologici raccolti nel periodo compreso tra gennaio 2021 e dicembre 2025.

In particolare, lo studio prende in esame i campionamenti idrici effettuati all'interno della struttura ospedaliera, considerando la frequenza delle positività microbiologiche, i

sierogruppi identificati, le concentrazioni rilevate e la distribuzione delle contaminazioni nei diversi edifici e aree del Policlinico. Parallelamente, vengono analizzati i casi clinici di legionellosi notificati nello stesso periodo, con attenzione alla loro distribuzione temporale, alle principali caratteristiche clinico-demografiche disponibili e alla classificazione epidemiologica dell'infezione.

La lettura congiunta dei dati ambientali e clinico-epidemiologici consente di interpretare i risultati della sorveglianza microbiologica nel più ampio contesto assistenziale della struttura, fornendo una base per la successiva valutazione del rischio di legionellosi in ambito ospedaliero.

4.2 Materiali e metodi

Il presente studio è stato condotto mediante un'analisi osservazionale retrospettiva dei dati relativi alla sorveglianza ambientale e clinico-epidemiologica della legionellosi presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova. Il periodo di osservazione considerato comprende i dati raccolti tra gennaio 2021 e dicembre 2025.

Per la raccolta e l'organizzazione dei dati è stato predisposto un database mediante foglio di calcolo Microsoft Excel, nel quale sono stati inseriti dati provenienti dai campionamenti ambientali o dal laboratorio tramite l'apposito programma ospedaliero.

Per quanto riguarda la componente ambientale, sono stati registrati nel database i referti dei campionamenti ambientali effettuati presso le strutture ospedaliere, con i relativi risultati microbiologici riguardo la ricerca di *Legionella* spp, specificando padiglione del prelievo, unità operativa, piano, locale, punto prelievo, numero ID, filtro, data prelievo, stagione, data referto, numero referto, risultati (CFU/L), risultati (negativo o positivo per quale sierogruppo di *Legionella*), prelievo ordinario o controllo.

Per la componente clinico-epidemiologica, sono state registrate le notifiche di malattia infettiva ricevute nel periodo in esame con i relativi referti microbiologici riguardanti le analisi molecolari e sierologiche per *Legionella*, ottenuti mediante PCR e test sierologici; in particolare sono stati raccolti dati riguardanti dati anagrafici dei pazienti, età al ricovero, reparto di ricovero attuale, data di ingresso, stagione di ingresso, centro di costo del reparto, data di dimissione, durata del ricovero, data di decesso durante il ricovero, se decesso avvenuto durante il ricovero, eventuali trasferimenti, prelievo, mese e anno positività, stagione del prelievo, referto, notifica, origine comunitaria o ospedaliera.

L'impostazione metodologica è stata organizzata distinguendo il setting dello studio, la classificazione del rischio e le misure di prevenzione adottate, le procedure di campionamento e analisi microbiologica e, infine, le modalità di elaborazione dei dati ambientali e clinico-epidemiologici.

4.2.1 Setting dello studio: IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino

Lo studio è stato condotto presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino di Genova, struttura ospedaliera universitaria ad elevata complessità assistenziale, caratterizzata dalla presenza di numerose aree cliniche, chirurgiche, diagnostiche, ambulatoriali e di supporto. Il Policlinico rappresenta un contesto particolarmente rilevante per la valutazione del rischio di legionellosi in ambito sanitario, sia per le dimensioni della struttura sia per l'articolazione della rete idrico-sanitaria.

L'Ospedale dispone di circa 1200 posti letto distribuiti in 22 edifici e padiglioni separati, ciascuno servito da serbatoi idrici autonomi. L'assetto attuale deriva da uno sviluppo architettonico progressivo, iniziato nei primi decenni del Novecento: i primi padiglioni furono completati nel 1911 e l'inaugurazione ufficiale avvenne nel 1923. Nel corso degli anni la struttura è stata interessata da numerosi ampliamenti e riorganizzazioni, tra cui la realizzazione del pronto soccorso negli anni Sessanta, dotato di elisuperficie e accesso indipendente, l'inaugurazione del Monoblocco nel 1971, la successiva ristrutturazione di quest'ultimo all'inizio del XXI secolo, l'apertura del padiglione delle Patologie Complesse nel 2000 e, più recentemente, il completamento dei nuovi padiglioni retrostanti il Monoblocco, destinati ai laboratori centralizzati e al nuovo blocco operatorio.

Questa organizzazione a padiglioni determina una notevole complessità strutturale, organizzativa e impiantistica. La distribuzione delle attività assistenziali in edifici differenti, la presenza di reti idriche articolate, serbatoi autonomi e numerosi punti terminali di erogazione dell'acqua rappresentano elementi centrali nella valutazione del rischio di contaminazione da *Legionella spp.* Gli impianti idrico-sanitari ospedalieri, soprattutto quando estesi e stratificati nel tempo, possono infatti presentare condizioni favorevoli alla persistenza del microrganismo, quali ristagno dell'acqua, tratti terminali scarsamente utilizzati, variazioni di temperatura, presenza di biofilm, incrostazioni e difficoltà di manutenzione uniforme. Per questo motivo, la sorveglianza ambientale deve essere interpretata tenendo conto non solo del risultato microbiologico, ma anche delle caratteristiche strutturali dell'edificio del contesto assistenziale in cui il campione viene prelevato.

Tra gli edifici principali del Policlinico riveste particolare importanza il Monoblocco, struttura di grandi dimensioni, alta circa 50 metri, lunga 180 metri e articolata su 14 piani, con una superficie di circa 3000 m². L'edificio ospita numerose degenze cliniche e chirurgiche, l'Unità di Dialisi e Trapianto, l'Emodinamica, sale operatorie, rianimazioni,

laboratori, Radiologia e Radiologia interventistica. La struttura è servita da 6 ascensori centrali che conducono a una sala di accoglienza dalla quale si diramano due ali, ponente e levante, contenenti diverse unità operative ambulatoriali e di degenza.

La complessità funzionale del Monoblocco è ulteriormente evidenziata dalla presenza di numerosi collegamenti verticali. Gli emipiani dispongono di ascensori dedicati, quattro a levante e quattro a ponente, utilizzati prevalentemente per il trasporto dei degenti e per il trasporto del materiale necessario alle attività delle unità operative. Ogni emilato è inoltre dotato di due montacarichi destinati al trasporto del materiale sporco, come rifiuti e biancheria. Alle estremità laterali di ogni piano sono collocati ulteriori ascensori, uno a levante e uno a ponente, in corrispondenza delle scale antincendio. Questa articolazione interna riflette l'elevata complessità assistenziale e logistica dell'edificio, rendendolo una delle aree di maggiore interesse per il monitoraggio del rischio idrico.

L'Ospedale Policlinico San Martino si può descrivere come una realtà a composizione mista, con padiglioni destinati a differenti aree funzionali e assistenziali.

L'area materno-fetale comprende i padiglioni 1 e 2, nei quali sono presenti la Clinica di Ostetricia e Ginecologia, la Neonatologia, la Patologia neonatale, il centro FRU per la diagnosi prenatale e la medicina perinatale e il Centro Nascite Alternativo.

L'area amministrativa comprende IST Nord, i padiglioni 3 e 9, il padiglione B, l'Ex Microbiologia, l'Amministrazione, la Centrale termica, l'Istituto Santa Caterina, il Pad. Cotella, il Castello Simon Boccanegra (centro congressi), Officine, Mensa e residenze religiose.

L'area dedicata alla diagnostica di laboratorio comprende il padiglione 64, sede dei nuovi laboratori, ex IST Sud (pad. 15) e il Monoblocco.

L'area medica include la Geriatria presso il padiglione 5, la Diabetologia presso il padiglione 7, le Cure intermedie presso il padiglione 10, l'Allergologia presso il padiglione 11, la Reumatologia (degenza), Endocrinologia (ambulatori, in passato anche la degenza), Immunologia clinica e Medicina interna presso il padiglione 12, l'Ambulatorio di podologia presso il padiglione 11 (in passato Pad. 13), oltre a reparti e servizi distribuiti nel Monoblocco, nel padiglione Specialità e nel padiglione Patologie Complesse.

Sono inoltre presenti l'Istituto di Medicina Legale, con obitorio e sale autoptiche, e l'area psichiatrica, comprendente il padiglione A, sede di SPDC e Clinica psichiatrica, e il padiglione 11.

L'area onco-ematologica comprende il padiglione 6, con day hospital, ambulatori e degenza ematologica; IST Sud, dove sono presenti day hospital onco-ematologico, degenza della Breast Unit senologica, degenza oncologica medica e pneumologica e ambulatori oncologici; l'Ex Isolamento, sede di ambulatori di Ematologia e della Farmacia ospedaliera; il Monoblocco, nel quale sono presenti attività di chirurgia oncologica; e il padiglione Patologie Complesse, che ospita la degenza di Ematologia.

L'area chirurgica è distribuita tra Monoblocco, ex IST Sud, padiglione 40 e padiglione Specialità. L'area emergenza-urgenza e trauma center comprende invece il DEA e il padiglione Specialità, edifici autonomi nei quali sono presenti il pronto soccorso, la traumatologia d'urgenza, la neurochirurgia, la neurologia e le rianimazioni.

La popolazione assistita all'interno del Policlinico è estremamente eterogenea per caratteristiche cliniche, livello di fragilità e tipologia di assistenza erogata. Di conseguenza, la presenza di Legionella nella rete idrica non assume lo stesso significato in tutti i contesti assistenziali: una positività rilevata in un'area amministrativa o ambulatoriale ha un impatto potenziale diverso rispetto a una positività riscontrata in un reparto ematologico, in una terapia intensiva o in un'area destinata a pazienti fragili.

Per tale motivo, nell'ambito della prevenzione della legionellosi, gli edifici del Policlinico vengono classificati in base al profilo di rischio, tenendo conto della tipologia di pazienti assistiti, delle attività sanitarie svolte e delle procedure potenzialmente associate a esposizione ad aerosol contaminati. Le aree a maggiore rischio comprendono i reparti nei quali sono presenti pazienti immunocompromessi o sottoposti a procedure invasive, mentre le aree a rischio inferiore includono prevalentemente strutture ambulatoriali, amministrative o di supporto.

Nel complesso, il Policlinico San Martino costituisce un setting particolarmente adatto per uno studio sulla sorveglianza ambientale di Legionella spp., poiché riunisce una rete idrica complessa, una distribuzione delle attività in più edifici, reparti con differenti livelli di rischio e una popolazione assistita molto eterogenea. In questo contesto, l'analisi dei campionamenti ambientali e dei casi clinici permette di valutare la distribuzione della contaminazione e di interpretarla alla luce delle caratteristiche strutturali e assistenziali della struttura ospedaliera.

4.2.2 Classificazione del rischio e misure di prevenzione

Nell'ambito della gestione e del controllo della legionellosi, gli edifici dell'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino vengono classificati in base al profilo di rischio della struttura. Tale classificazione tiene conto delle caratteristiche dei pazienti assistiti, della tipologia di attività sanitaria svolta e delle procedure potenzialmente associate ad esposizione ad aerosol contaminati, secondo quanto indicato dalle Linee guida nazionali per la prevenzione e il controllo della legionellosi del Ministero della Salute del 2015.

I reparti che assistono pazienti a rischio molto elevato, quali centri trapianto, oncologie, ematologie, terapie intensive e malattie infettive, vengono classificati come aree ad alto rischio. In questi contesti l'obiettivo della sorveglianza è garantire l'assenza di colonizzazione da *Legionella spp.* negli impianti, con un valore limite di riferimento pari a 0 UFC/L. La stessa indicazione viene applicata anche alle vasche parto, considerate un potenziale serbatoio del microrganismo. Questi reparti sono localizzati prevalentemente in alcuni edifici del complesso ospedaliero, tra cui il Padiglione 6, il Padiglione ex IST Sud, il Padiglione Ex-Isolamento e Patologie Complesse, il Monoblocco e il Padiglione Specialità. I reparti a rischio aumentato comprendono aree quali Medicina, Pneumologia, Geriatria, Chirurgia e reparti assimilabili. In queste strutture, l'obiettivo di prevenzione e controllo viene definito anche sulla base dei precedenti storici, come la presenza di casi di malattia di sospetta o accertata origine nosocomiale, e del livello di contaminazione rilevato. Per tali edifici il valore limite per la ricerca di *Legionella spp.* nei campioni d'acqua è pari a 100 UFC/L. Presso il Policlinico San Martino rientrano in questa categoria i padiglioni 1, 2, 4, 5, 10, 12 e Maragliano.

Le aree a rischio intermedio comprendono: Dipartimento di Emergenza e Accettazione (DEA), padiglioni 7, 11 e 13, Sommariva, padiglione A, Dermatologia sociale, Clinica Oculistica (pad. 18), ex Di.M.I. ed ex Clinica Neurologica. Si tratta prevalentemente di strutture caratterizzate da attività ambulatoriali o day hospital, nelle quali l'assenza di reparti di degenza ordinaria e la minore permanenza dei pazienti determinano un rischio più contenuto.

Le strutture a basso rischio comprendono: IST Nord, i padiglioni 3 e 9, l'Istituto di Medicina Legale e Obitorio, il padiglione B, Ex Microbiologia, Amministrazione, Centrale termica, Istituto Santa Caterina, il padiglione Cotella, Guido Rossa, Castello Simon Boccanegra, Officine, Mensa, residenze religiose e Nuovi Laboratori. In questi edifici non sono

generalmente presenti attività cliniche, procedure assistenziali invasive o pazienti ricoverati; pertanto, il rischio di contaminazione viene considerato più vicino a quello comunitario.

Tabella 1. Classificazione degli edifici ospedalieri in base al profilo di rischio.

Classe	Colore	Edifici/aree incluse	Criterio prevalente
Alto rischio	Rosso	Padiglione 6; IST Sud, comprensivo di Ex Isolamento e Patologie Complesse; Monoblocco; Specialità	Pazienti a rischio molto elevato: centri trapianto, oncologie, ematologie, terapie intensive, malattie infettive; obiettivo di assenza di colonizzazione (0 UFC/L).
Rischio aumentato	Giallo	Padiglioni 1, 2, 4, 5, 10, 12; Maragliano	Reparti medici e chirurgici, Medicina, Pneumologia, Geriatria, Chirurgia e reparti assimilabili; valore limite 100 UFC/L.
Rischio intermedio	Verde	DEA; padiglioni 7, 11 e 13; Sommariva; padiglione A; Dermatologia sociale; Clinica Oculistica; ex DIMI; ex Clinica Neurologica	Prevalente attività ambulatoriale o di day hospital, assenza di degenze ordinarie e minore permanenza dei pazienti.
Basso rischio	Azzurro	IST Nord; padiglioni 3 e 9; Istituto di Medicina Legale e Obitorio; padiglione B; Ex Microbiologia; Amministrazione; Centrale termica; Santa Caterina; Cotella; Guido Rossa; Castello; Officine; Mensa; residenze religiose; Nuovi Laboratori	Aree amministrative, tecniche o di supporto, senza attività clinica rilevante o pazienti ricoverati.

Il piano di prevenzione del rischio idrico del Policlinico prevede l'adozione di diverse misure di controllo. Tra queste rientra l'installazione di filtri assoluti nelle aree a maggiore vulnerabilità, come Neonatologia, Ematologia e Ortopedia. È inoltre previsto l'utilizzo di sistemi di trattamento dell'acqua con biossido di cloro nei padiglioni 1, 2, 5 e 6, nel Monoblocco, nel padiglione Patologie Complesse, nel DEA e nel padiglione Maragliano. A queste misure si associano l'attivazione di un sistema di sorveglianza alert e l'esecuzione di interventi straordinari di disinfezione, quali iperclorazione o shock termico, in caso di concentrazioni di *Legionella* spp. superiori ai limiti previsti dalla normativa.

Nel 2017 è stato introdotto presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino *un Water Safety Plan* per il controllo della legionellosi all'interno delle reti idriche ospedaliere. La sua applicazione è affidata all'Unità Operativa di Igiene, situata presso il Palazzo dell'Amministrazione e dotata di laboratorio presso il padiglione 64. Le attività sono coordinate da medici e infermieri specializzati nel controllo delle infezioni, in collaborazione con biologi e tecnici di laboratorio.

I campionamenti ambientali vengono programmati con frequenza diversa in base al profilo di rischio delle strutture: semestralmente nei reparti ad alto rischio e annualmente negli altri edifici, con possibilità di campionamenti straordinari in caso di necessità.

La manutenzione ordinaria è affidata a una ditta esterna appaltatrice che, ogni sei mesi, provvede alla pulizia e disinfezione dei rompigetti. In caso di risultati microbiologici positivi, viene applicato il protocollo previsto, che comprende smontaggio dei rompigetti, trattamento con anticalcare per 20 minuti, immersione in ipoclorito di sodio al 10%, accurato risciacquo e sanificazione di lavandini e superfici con la stessa soluzione disinfettante.

4.2.3 Campionamento ambientale e analisi microbiologiche

I campionamenti ambientali vengono effettuati dal personale dell'U.O. Igiene secondo le procedure indicate a livello nazionale. La scelta dei punti di campionamento tiene conto del profilo di rischio della struttura, della distribuzione della rete idrica, della presenza di pazienti vulnerabili e dell'eventuale riscontro precedente di contaminazioni ambientali.

Per ogni punto viene inizialmente raccolto un campione di acqua calda senza precedente disinfezione del rubinetto di sbocco, al fine di ottenere un campione istantaneo rappresentativo di una possibile esposizione in condizioni di utilizzo quotidiano. Successivamente, per l'analisi dell'impianto, l'acqua viene lasciata scorrere per almeno un minuto e viene prelevato 1 litro di acqua calda in flaconi sterili contenenti tiosolfato di sodio allo 0,01%, utilizzato per neutralizzare eventuali residui di cloro.

I campioni vengono quindi trasportati ai laboratori dell'U.O. Igiene, mantenendo separati quelli di acqua calda da quelli di acqua fredda, a temperatura ambiente e protetti dalla luce, per essere analizzati entro 24 ore. Qualora l'esame non possa essere eseguito entro tale termine, i campioni vengono conservati a una temperatura compresa tra $+5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e trasportati in contenitori idonei a garantire tale condizione, assicurando comunque l'esecuzione dell'analisi entro il quarto giorno dal prelievo.

Per la ricerca e quantificazione di *Legionella spp.* viene applicato il metodo previsto dalle norme ISO 11731:1998, "Water quality - Detection and enumeration of Legionella", e ISO 11731-2:2004, relative alla qualità delle acque. L'acqua raccolta viene filtrata attraverso membrane sterili in policarbonato, nylon o esteri misti di cellulosa, con diametro di 47 mm e porosità compresa tra 0,22 e 0,45 μm , utilizzando una pompa a vuoto. In presenza di

campioni fortemente contaminate o di volumi superiori a un litro, può essere impiegata più di una membrana in serie o può essere utilizzata la centrifugazione.

Terminata la filtrazione, la membrana viene trasferita con pinzette sterili in contenitori o provette sterili contenenti 10 mL di diluente, come soluzione di Ringer o Page, o acqua del campione stesso. I microrganismi trattenuti vengono distaccati mediante pipettaggio ripetuto, sfregamento con pipetta o frammentazione della membrana con forbici sterili, seguiti da agitazione vigorosa. Le provette vengono quindi mantenute per 30 minuti a 50 °C in bagno termostatico.

Dopo tale passaggio, 0,1 mL di sospensione viene seminato su piastra, collocata in contenitore ermetico con una garza umidificata e incubata a 37 °C per 10 giorni. A partire dal quarto giorno è possibile riscontrare l'eventuale crescita di colonie compatibili con *Legionella spp.* Le colonie sospette vengono quindi identificate mediante test di agglutinazione, al fine di determinare il sierogruppo.

Il risultato dell'analisi viene espresso in UFC/L, cioè unità formanti colonia per litro, consentendo di quantificare la carica batterica rilevata nel campione. L'identificazione del sierogruppo permette inoltre di distinguere *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, sierogruppo 3, sierogruppo 6 e altri sierogruppi non-1 eventualmente riportati nei referti.

L'U.O. Igiene provvede all'elaborazione dei referti dei campionamenti ambientali effettuati presso le strutture ospedaliere e alla raccolta delle notifiche relative ai casi di legionellosi rilevati all'interno dell'Ospedale. Quando viene segnalato un caso sospetto o confermato, l'U.O. Igiene avvia le procedure di controllo previste, comprendenti la temporanea interdizione della stanza di degenza fino all'esecuzione dei prelievi ambientali. Vengono inoltre verificati lo stato del sistema di trattamento con biossido di cloro, controllato mensilmente, e i precedenti risultati microbiologici dell'edificio, predisponendo se necessario un programma straordinario di sorveglianza clinico-ambientale.

L'analisi dei dati è stata condotta con finalità descrittiva a partire dal database predisposto mediante foglio di calcolo Microsoft Excel. Nell'ambito di questa analisi sono stati considerati sia i campionamenti ambientali di routine sia quelli straordinari, programmati in risposta al riscontro di contaminazioni ambientali o alla segnalazione di casi clinici sospetti o confermati.

Per ciascun campionamento ambientale sono stati registrati, la data del prelievo, l'anno di riferimento, l'edificio o padiglione di provenienza, il reparto o l'area interessata, il punto di prelievo, la tipologia di campionamento, l'esito microbiologico, il sierogruppo identificato

e la concentrazione rilevata, espressa in UFC/L. Sono state inoltre considerate informazioni relative alla classe di rischio attribuita all'edificio e alla presenza di misure di controllo, come filtri al punto d'uso o sistemi di trattamento dell'acqua.

Per ciascun anno sono stati calcolati il numero totale di campionamenti effettuati, il numero di campioni risultati positivi alla ricerca di *Legionella* spp., la percentuale di positività e il numero di campioni con concentrazioni superiori a 1.000 UFC/L. Successivamente, è stata descritta la distribuzione degli isolati in base al sierogruppo, considerando in particolare *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, sierogruppo 3, sierogruppo 6 e gli altri sierogruppi non-1 riportati nei referti come gruppo 2–14.

I risultati microbiologici sono stati inoltre suddivisi in classi di concentrazione, espresse in UFC/L, corrispondenti agli intervalli 1–1.000 UFC/L, 1.001–10.000 UFC/L e valori superiori a 10.000 UFC/L. Questa classificazione consente di distinguere contaminazioni di bassa entità da condizioni potenzialmente più rilevanti dal punto di vista preventivo, soprattutto quando rilevate in reparti che ospitano pazienti fragili o in edifici classificati a rischio elevato.

È stata poi analizzata la distribuzione dei campioni positivi in relazione ai diversi punti di prelievo e alla loro collocazione all'interno del Policlinico. In particolare, le positività sono state valutate in rapporto al reparto, all'edificio di provenienza e alla classe di rischio attribuita alla struttura, sia su base annuale sia nel complesso del periodo studiato. Infine, il numero assoluto di isolati rilevati in ciascun edificio è stato messo in relazione con il livello di rischio assegnato alla struttura.

Parallelamente all'analisi ambientale, sono stati considerati i casi di legionellosi notificati presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino nello stesso periodo di osservazione, distinguendo i casi di origine comunitaria, quelli nosocomiali e di possibile origine nosocomiale. I casi clinici sono stati valutati in base all'anno di diagnosi e alla classificazione epidemiologica dell'infezione. Quando disponibili, sono state considerate anche le principali informazioni relative ai pazienti, tra cui sesso, età, condizioni predisponenti e modalità diagnostica utilizzata.

Nei casi in cui l'origine nosocomiale non potesse essere esclusa, i dati clinici sono stati valutati anche in relazione alla sede di degenza e agli eventuali campionamenti ambientali eseguiti nel reparto o nell'edificio interessato. Questa valutazione consente di descrivere eventuali elementi di coerenza epidemiologica tra positività ambientali e segnalazioni cliniche, mantenendo l'analisi su un piano descrittivo.

4.3 Risultati

I risultati dello studio sono stati organizzati distinguendo inizialmente i dati relativi alla sorveglianza ambientale della rete idrica ospedaliera e, successivamente, i dati clinico-epidemiologici relativi ai casi di legionellosi notificati presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino nel periodo di osservazione.

La prima parte dell'analisi riguarda i campionamenti ambientali effettuati nei diversi edifici del Policlinico, con valutazione del numero complessivo di prelievi eseguiti, della frequenza di positività per *Legionella* spp., dell'andamento annuale della contaminazione e della quota di campioni con concentrazioni superiori alle soglie considerate rilevanti. Successivamente, i campioni positivi vengono analizzati in base al sierogruppo identificato, alla concentrazione espressa in UFC/L e alla sede di provenienza, con particolare attenzione alla distribuzione delle positività nei diversi edifici e nelle classi di rischio.

La seconda parte dei risultati è dedicata ai casi clinici di legionellosi notificati nello stesso periodo. L'analisi prende in considerazione il numero complessivo di casi, la loro distribuzione temporale, le principali caratteristiche clinico-epidemiologiche disponibili e la classificazione dell'origine dell'infezione, distinguendo, ove possibile, i casi comunitari da quelli nosocomiali o di origine non definibile con certezza.

Questa organizzazione consente di mantenere separati, sul piano descrittivo, i risultati ambientali e quelli clinici, pur permettendo una successiva lettura integrata dei dati.

4.3.1 Risultati complessivi della sorveglianza ambientale

Nel periodo compreso tra gennaio 2021 e dicembre 2025 sono stati eseguiti complessivamente 568 campionamenti idrici presso le diverse strutture dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova. Di questi, 66 campioni sono risultati positivi alla ricerca di *Legionella* spp., con una percentuale complessiva di positività pari all'11,62%.

La distribuzione annuale mostra 13 campioni positivi nel 2021, 8 nel 2022, 8 nel 2023, 14 nel 2024 e 23 nel 2025.

La distribuzione annuale dei campionamenti mostra 67 prelievi nel 2021, 128 nel 2022, 117 nel 2023, 106 nel 2024 e 150 nel 2025. Nello specifico, la percentuale di positività è risultata pari al 19,40% nel 2021, al 6,25% nel 2022, al 6,84% nel 2023, al 13,21% nel 2024 e al 15,33% nel 2025 (*tabella 2*).

Tabella 2. Campionamenti idrici, positività e sierogruppi identificati, gennaio 2021-dicembre 2025.

Anno	Campionamenti	Positivi	% positività	>1.000 UFC/L	Sierogruppi identificati
2021	67	13	19,40%	1	Ser. 1 = 4; Ser. 3 = 2; Ser. 2-14 = 7
2022	128	8	6,25%	3	Ser. 1 = 4; Ser. 3 = 2; Ser. 6 = 2
2023	117	8	6,84%	3	Ser. 1 = 3; Ser. 3 = 5
2024	106	14	13,21%	6	Ser. 1 = 1; Ser. 3 = 13
2025	150	23	15,33%	11	Ser. 1 = 4; Ser. 3 = 15; Ser. 6 = 3; Ser. 2-14 = 1
Totale	568	66	11,62%	24	Ser. 1 = 16; Ser. 3 = 37; Ser. 6 = 5; Ser. 2-14 = 8

La percentuale di positività ambientale per anno più elevata è stata osservata nel 2021, con il 19,40% dei campioni positivi, seguita dal 2025 con il 15,33% e dal 2024 con il 13,21%. Nel biennio 2022-2023 si osservano invece valori inferiori, rispettivamente pari al 6,25% e al 6,84% (*figura 13*)

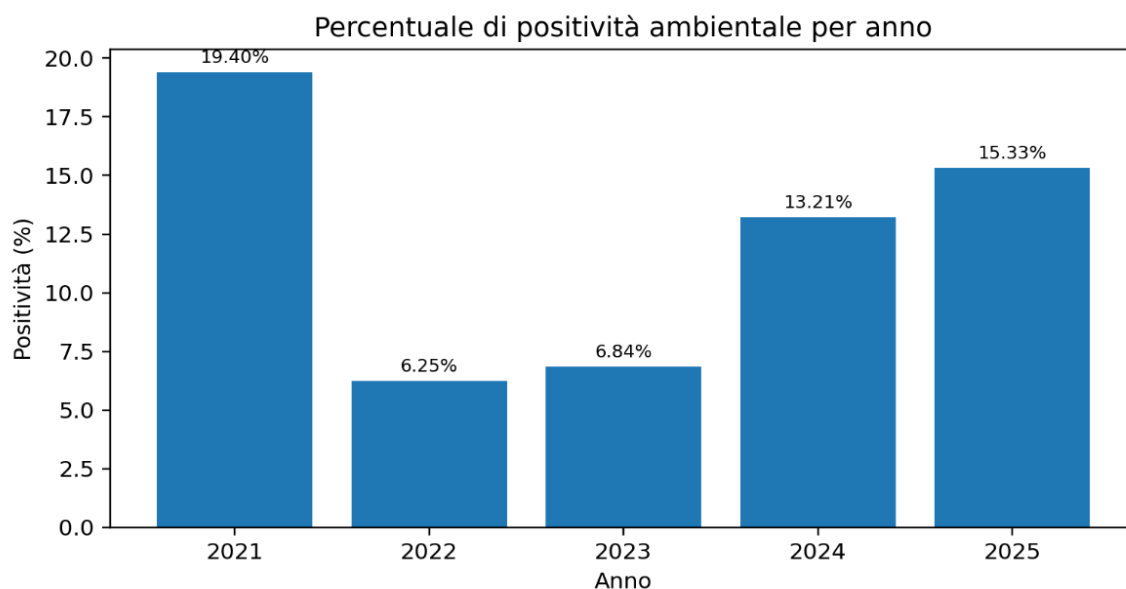


Figura 13. Percentuale di positività ambientale per anno nei campionamenti idrici, gennaio 2021-dicembre 2025.

La quota di campioni con concentrazione superiore a 1.000 UFC/L, calcolata sul totale dei campionamenti annuali, è stata pari all'1,49% nel 2021, al 2,34% nel 2022, al 2,56% nel 2023, al 5,66% nel 2024 e al 7,33% nel 2025.

Nel complesso, 24 campioni hanno mostrato concentrazioni superiori a 1.000 UFC/L, pari al 36,36% dei 66 campioni positivi. Il numero più elevato di campioni oltre tale soglia è stato registrato nel 2025, con 11 positività (figura 14).

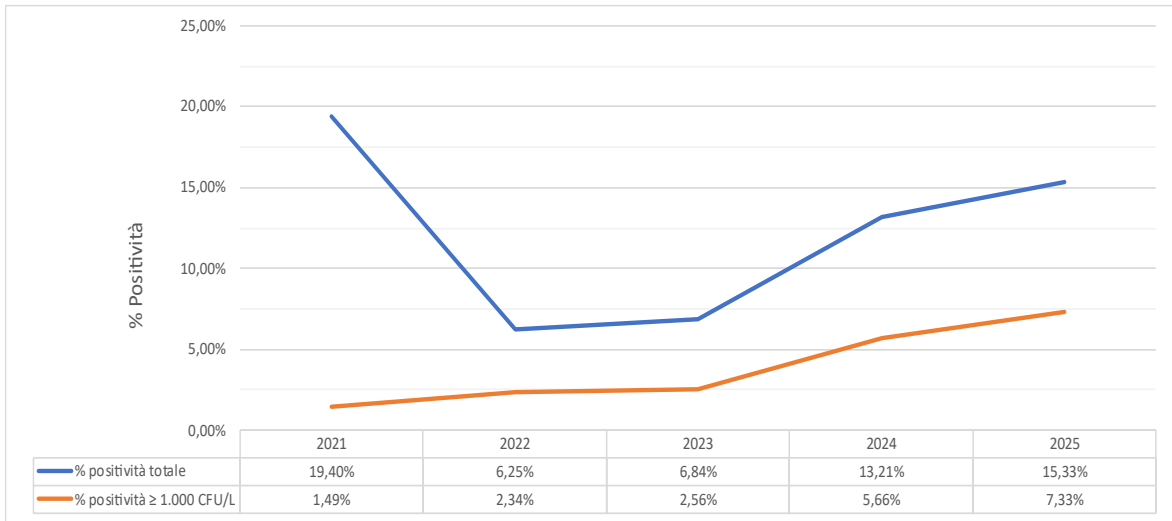


Figura 14. Distribuzione temporale della positività microbiologica per *Legionella* nei campioni ambientali analizzati dal 2021 al 2025. La linea blu rappresenta la percentuale di positività totale, mentre la linea arancione indica la percentuale di campioni con concentrazione superiore a 1.000 UFC/L

4.3.2 Distribuzione per sierogruppo, concentrazione e edificio

L'analisi dei campioni positivi è stata approfondita considerando la distribuzione dei sierogruppi identificati, le concentrazioni rilevate e la sede di provenienza dei campionamenti.

Nel periodo compreso tra gennaio 2021 e dicembre 2025, tra i 66 campioni risultati positivi, il sierogruppo più frequentemente identificato è stato *Legionella pneumophila* sierogruppo 3, rilevato in 37 campioni, pari al 56,06% delle positività complessive. Il sierogruppo 1 è stato identificato in 16 campioni (24,24%), il sierogruppo 6 in 5 campioni (7,58%) e il gruppo 2-14 in 8 campioni (12,12%) (tabella 3).

Tabella 3. Distribuzione complessiva dei sierogruppi identificati nei campioni positivi, gennaio 2021-dicembre 2025.

Sierogruppo	Numero di campioni positivi	Percentuale
Sierogruppo 1	16	24,24%
Sierogruppo 3	37	56,06%
Sierogruppo 6	5	7,58%
Sierogruppo 2-14	8	12,12%
Totale	66	100%

La distribuzione complessiva evidenzia una prevalenza del sierogruppo 3 nei campioni ambientali analizzati: nel 2024 il sierogruppo 3 è stato identificato in 13 su 14 campioni positivi, mentre nel 2025 è stato rilevato in 15 su 23 campioni positivi.

L'analisi delle concentrazioni ha permesso di suddividere i campioni positivi in tre classi quantitative: valori compresi tra 1 e 1.000 UFC/L, valori compresi tra 1.001 e 10.000 UFC/L e valori superiori a 10.000 UFC/L (*tabella 4*).

Tabella 4. Distribuzione annuale delle concentrazioni nei campioni positivi nel periodo gennaio 2021-dicembre 2025.

Anno	1-1.000 UFC/L	1.001-10.000 UFC/L	>10.000 UFC/L	Totale positivi	>1.000 UFC/L	% positività annua
2021	12	1	0	13	1	19,40%
2022	5	3	0	8	3	6,25%
2023	5	3	0	8	3	6,84%
2024	8	6	0	14	6	13,21%
2025	12	9	2	23	11	15,33%
Totale	42	22	2	66	24	11,62%

Nel periodo studiato, 42 campioni positivi rientrano nella classe 1-1.000 UFC/L, 22 nella classe 1.001-10.000 UFC/L, e 2 nella classe superiore a 10.000 UFC/L.

Nel biennio 2022-2023 il numero complessivo di campioni positivi si riduce rispetto al 2021. Nel 2024 e nel 2025 si osserva invece un nuovo incremento delle positività, con 6 campioni oltre 1.000 UFC/L nel 2024 e 11 nel 2025.

Nel complesso del periodo 2021-2025, le strutture a rischio molto alto hanno registrato 44 positività su 366 campionamenti (con positività rispetto al totale pari al 66,7%), le strutture a rischio alto 9 positività su 77 campionamenti (con positività attestata al 13,6%), quelle a rischio intermedio 10 positività su 84 campionamenti (con positività del 15,2%), e quelle a basso rischio 3 positività su 41 campionamenti (positività del 45,5%) (tabella 5).

Tabella 5. Distribuzione annuale dei campioni positivi per classe di rischio, gennaio 2021-dicembre 2025, e relativa proporzione rispetto al totale dello stesso anno ed al totale generale.

Classe di rischio	2021	2022	2023	2024	2025	Totale Positivi
Molto alto	11	2	6	9	16	44
	84,6%	25,0%	75,0%	64,3%	69,6%	66,7%
Alto	0	3	0	0	6	9
		37,5%			26,1%	13,6%
Intermedio	2	2	1	5	0	10
	15,4%	25,0%	12,5%	35,7%		15,2%
Basso	0	1	1	0	1	3
		12,5%	12,5%		43,5%	45,5%
Totale	13	8	8	14	23	66

Le percentuali complessive di positività rispetto al numero di campionamenti totali risultano quindi pari al 12,02% nelle strutture a rischio molto alto, all'11,69% nelle strutture a rischio alto, all'11,90% nelle strutture a rischio intermedio e al 7,32% nelle strutture a basso rischio.

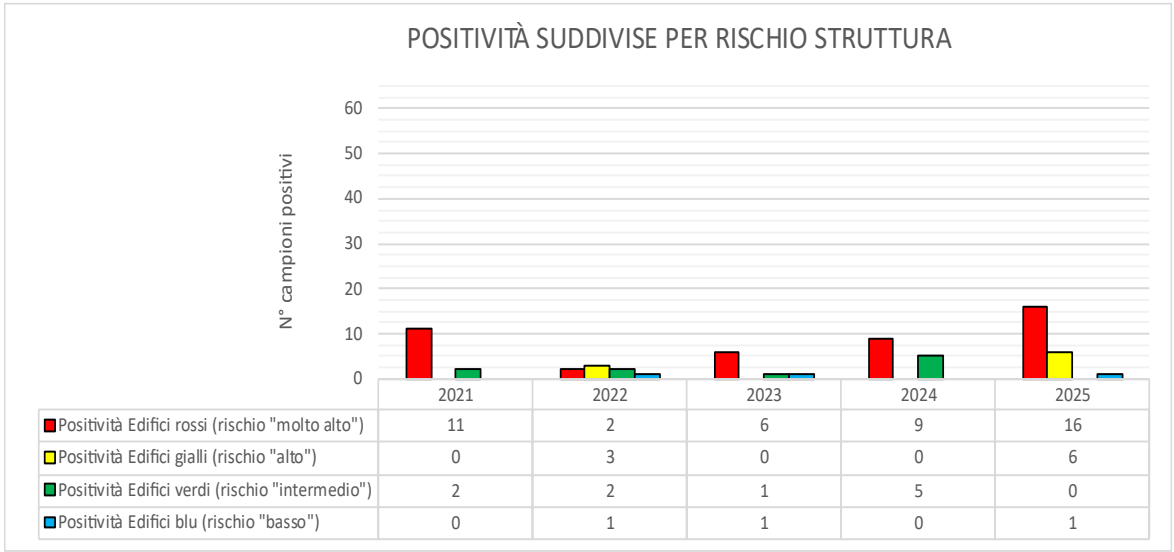


Figura 15: Andamento annuale delle positività ambientali per Legionella suddivise in base alla classe di rischio degli edifici campionati, nel periodo 2021-2025. La maggiore quota di positività si osserva complessivamente negli edifici classificati a rischio molto alto, con un incremento nel 2025

Nel 2025, in particolare, sono state osservate 16 positività nelle strutture a rischio molto alto, 6 in quelle a rischio alto, nessuna nelle strutture a rischio intermedio e 1 nelle strutture a basso rischio.

4.3.3 Casi clinici di legionellosi notificati nel periodo di studio

Accanto ai dati di sorveglianza ambientale, sono stati analizzati i casi di legionellosi notificati presso l'IRCCS AOM Ospedale Policlinico San Martino nel periodo di osservazione.

Nel periodo gennaio 2021-dicembre 2025 sono stati notificati presso il Policlinico 159 casi di legionellosi. Di questi, 141 sono stati classificati come comunitari, 11 come nosocomiali e 7 come casi dubbi o a origine non definita con certezza (*tabella 6*).

Tabella 6. Casi di legionellosi notificati presso il Policlinico, con distribuzione annuale per origine.

Anno	Casi totali	Casi comunitari	Casi nosocomiali	Casi dubbi / origine non definita
2021	20	18	0	2
2022	9	8	1	0
2023	20	20	0	0
2024	72	65	6	1
2025	38	30	4	4
Totale	159	141	11	7

La distribuzione annuale mostra 20 casi nel 2021, 9 nel 2022, 20 nel 2023, 72 nel 2024 e 38 nel 2025. Nel 2021 sono stati registrati 18 casi comunitari, nessun caso nosocomiale e 2 casi dubbi o non definiti. Nel 2022 sono stati registrati 8 casi comunitari, 1 nosocomiale e nessun caso dubbio. Nel 2023 tutti i 20 casi notificati sono stati classificati come comunitari. Nel 2024 sono stati notificati 65 casi comunitari, 6 nosocomiali e 1 dubbio o non definito. Nel 2025 sono stati registrati 30 casi comunitari, 4 nosocomiali e 4 dubbi o non definiti (*tabella 6 e figura 16*).

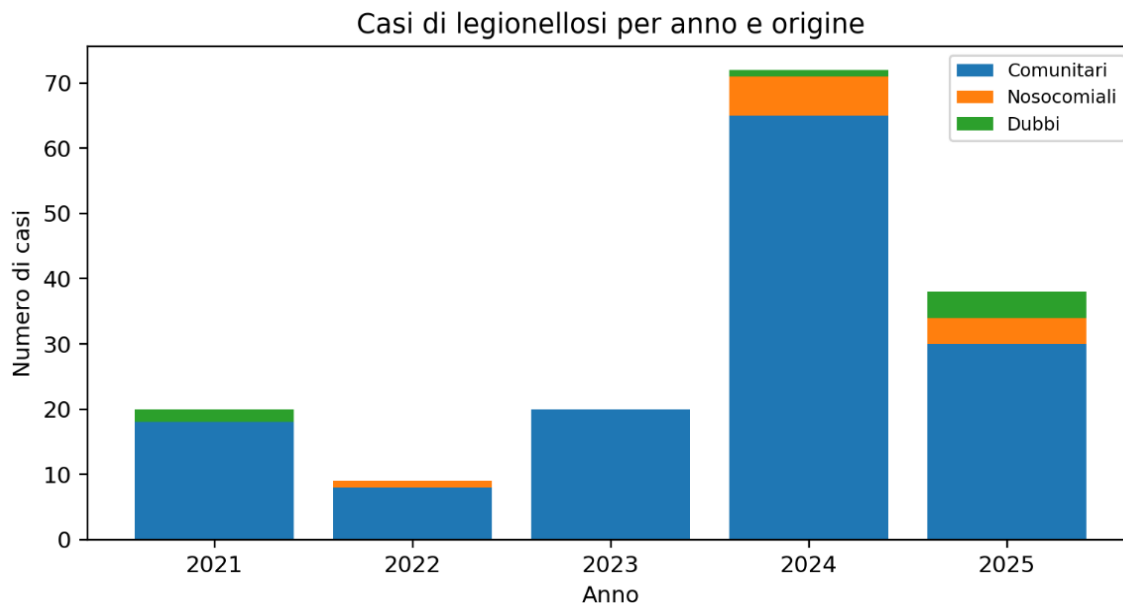


Figura 16. Casi di legionellosi per anno e origine epidemiologica, nel periodo gennaio 2021-dicembre 2025

Per gli anni 2022-2025 erano disponibili ulteriori informazioni descrittive relative al sesso, all'età e all'esito durante la degenza. Nel 2021 tali variabili non risultano disponibili nel database utilizzato; pertanto, l'analisi clinico-demografica più dettagliata è stata condotta sul sottoperiodo 2022-2025. In questo intervallo, i casi riguardavano complessivamente 86 soggetti di sesso maschile e 53 soggetti di sesso femminile (*tabella 7*).

Nel 2022 sono stati registrati 8 casi in soggetti maschi e 1 in soggetti femmine; nel 2023, 12 maschi e 8 femmine; nel 2024, 43 maschi e 29 femmine; nel 2025, 23 maschi e 15 femmine (*figura 17 e tabella 7*).

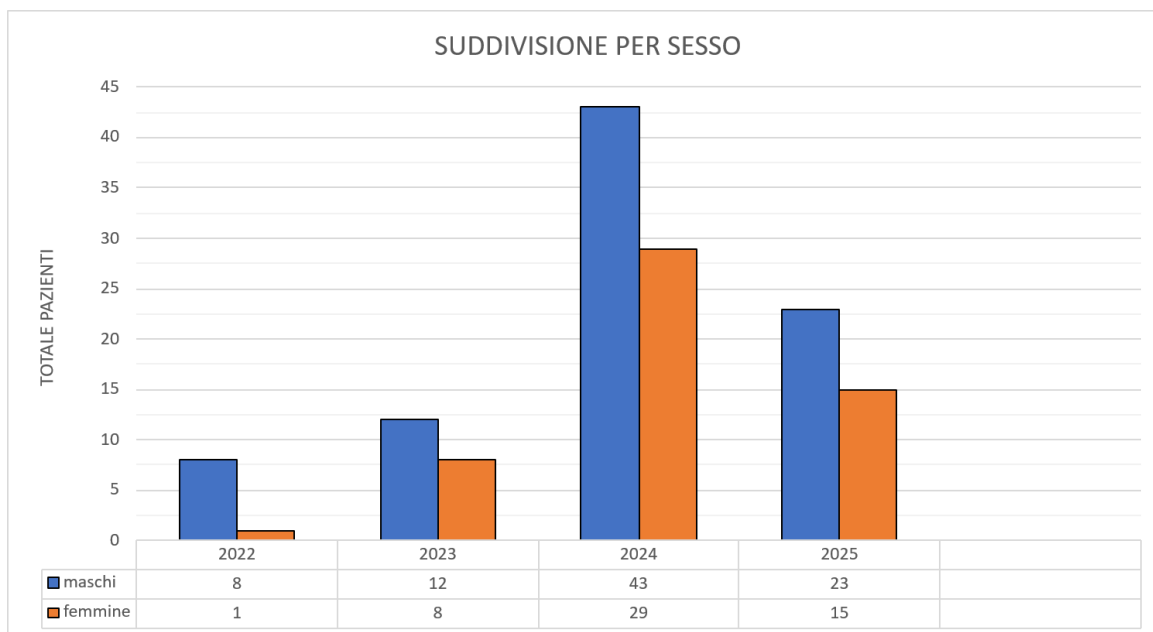


Figura 17. Andamento annuale dei casi clinici di legionellosi suddivisi per sesso, nel periodo 2022-2025. In tutti gli anni analizzati si osserva una prevalenza del sesso maschile rispetto a quello femminile, con il maggior numero complessivo di casi registrato nel 2024.

L'età media è risultata pari a 70 anni nel 2022, 72 anni nel 2023, 77 anni nel 2024 e 77 anni nel 2025; l'età mediana è stata rispettivamente di 68, 74, 79 e 78 anni (tabella 7).

Nel periodo 2022-2025, la durata media del ricovero è risultata pari a 21 giorni nel 2022, 19 giorni nel 2023, 20 giorni nel 2024 e 21 giorni nel 2025 (figura 18).

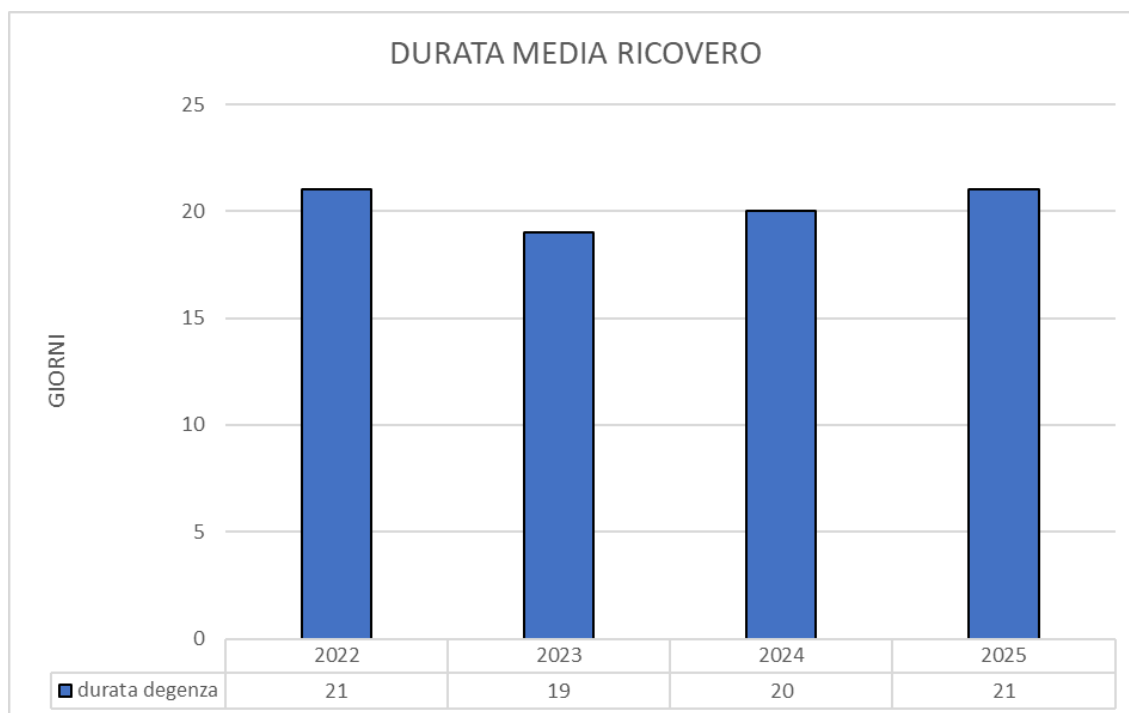


Figura 18. Durata media della degenza ospedaliera nei pazienti con diagnosi di legionellosi, nel periodo 2022-2025.

Infine, sono stati registrati 1 decesso nel 2022, 1 nel 2023, 13 nel 2024 e 13 nel 2025. La percentuale di decessi durante il ricovero è risultata pari all'11,11% nel 2022, al 5,00% nel 2023, al 18,06% nel 2024 e al 34,21% nel 2025 (*tabella 7 e figura 19*)

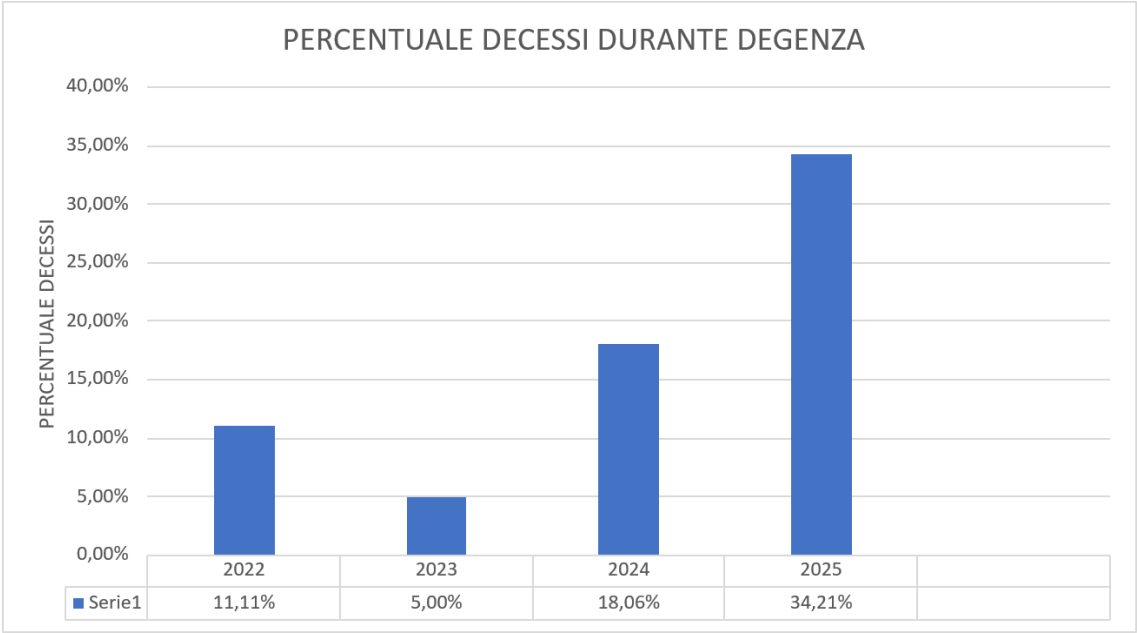


Figura 19. Percentuale annuale di decessi durante la degenza nei pazienti con diagnosi di legionellosi, nel periodo 2022-2025. Il dato indica l’esito durante il ricovero e non implica necessariamente attribuzione causale diretta alla legionellosi.

Tabella 7. Caratteristiche descrittive dei casi di legionellosi notificati, anni 2022-2025.
n.d. = dato non disponibile

Anno	Maschi	Femmine	Età media	Età mediana	Decessi durante degenza
2021	n.d	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2022	8	1	70	68	1
2023	12	8	72	74	1
2024	43	29	77	79	13
2025	23	15	77	78	13

È stata inoltre considerata la distribuzione stagionale dei casi clinici di legionellosi nel periodo 2022-2025. Nel 2022 sono stati registrati 3 casi in inverno, 0 in primavera, 6 in estate e 0 in autunno. Nel 2023 sono stati registrati 1 caso in inverno, 3 in primavera, 13 in estate e 3 in autunno. Nel 2024 sono stati registrati 28 casi in inverno, 22 in primavera, 12 in estate e 10 in autunno. Nel 2025 sono stati registrati 2 casi in inverno, 16 in primavera, 12 in estate e 8 in autunno. Nel complesso del periodo analizzato, sono stati registrati 34 casi in inverno, 41 in primavera, 43 in estate e 21 in autunno (*figura 20*).

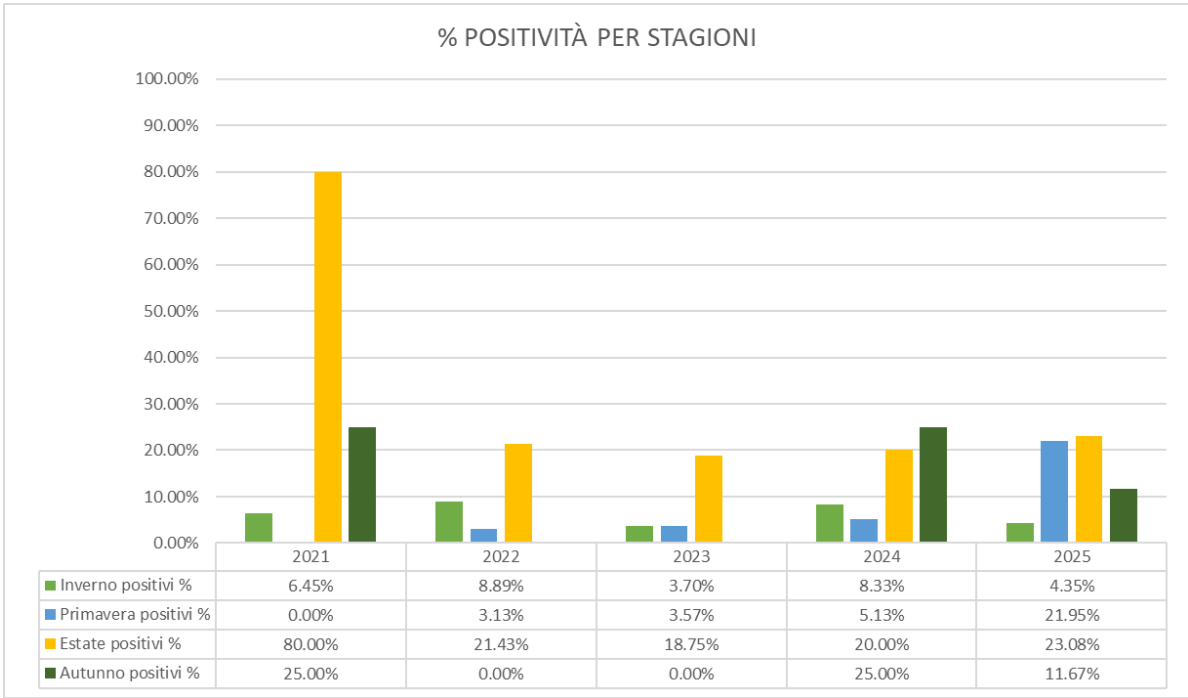


Figura 20. Distribuzione stagionale dei casi clinici di legionellosi notificati nel periodo 2022-2025

CAPITOLO 5

DISCUSSIONE

L'analisi condotta presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova ha permesso di descrivere l'andamento della sorveglianza ambientale per *Legionella* spp. nella rete idrica ospedaliera e di integrarlo con l'osservazione dei casi clinici di legionellosi notificati nel periodo di studio. Il lavoro ha preso in considerazione i dati microbiologici ambientali relativi al periodo gennaio 2021-dicembre 2025 e, per la parte clinica, i casi registrati nel database disponibile nello stesso arco temporale, con approfondimenti descrittivi per il periodo 2022-2025.

Nel complesso sono stati eseguiti 568 campionamenti, con 66 positività (pari al 11,62% del totale). Tale dato indica la presenza saltuaria di una contaminazione ambientale da *Legionella* spp. all'interno della rete idrica ospedaliera, ma evidenzia al tempo stesso come la maggior parte dei campionamenti effettuati sia risultata negativa. In questo senso, il monitoraggio ambientale rappresenta uno strumento essenziale per individuare tempestivamente eventuali positività, mettere in atto precocemente interventi di sanificazione ed attuare programmi di controllo.

L'andamento annuale delle positività ha mostrato una certa variabilità nel corso del periodo analizzato. Dopo una percentuale più elevata nel 2021, pari al 19,40%, si è osservata una riduzione nel 2022 e nel 2023, seguita da un nuovo incremento nel 2024 e nel 2025 (15,33%). Questa oscillazione è coerente con la natura dinamica della colonizzazione da *Legionella* nei sistemi idrici complessi, nei quali temperatura, ristagno, biofilm, flussi irregolari, tratti distali e interventi di manutenzione possono determinare variazioni nel tempo e nello spazio. In letteratura, programmi di sorveglianza ambientale ospedaliera riportano tassi di positività molto eterogenei: nello studio quinquennale condotto in Campania su 3.365 campioni la positività è stata del 21%, (80) mentre in un grande ospedale di Palermo un programma quadriennale ha rilevato il 49% di campioni positivi (81). Rispetto a queste esperienze, la variabilità osservata nel Policlinico, con positività globale più bassa rispetto alle esperienze in letteratura, può riflettere differenze nell'architettura impiantistica, nell'intensità e nei punti di campionamento, nonché nelle strategie di disinfezione e manutenzione adottate; da sottolineare inoltre la necessità di mantenere una sorveglianza continuativa, poiché la contaminazione da *Legionella* può modificarsi nel tempo anche all'interno dello stesso contesto strutturale.

Un importante aspetto del presente studio è rappresentato dalla quota di positività a carica più elevata. Tra i 66 campioni positivi, 24 di essi, pari al 36,36%, hanno superato 1.000 UFC/L e 2 hanno presentato valori superiori a 10.000 UFC/L; inoltre, nel 2025 si è osservato il numero più elevato di campioni con concentrazione superiore a 1.000 UFC/L. Questo risultato non deve essere letto come una misura direttamente collegata al rischio clinico, poiché la probabilità di malattia dipende anche dalla suscettibilità dell'ospite, dalla modalità di esposizione, dal potenziale di aerosolizzazione e dalle caratteristiche del ceppo batterico. Tuttavia, in un ospedale a elevata complessità assistenziale, la presenza di una quota non trascurabile di campioni sopra soglia richiede una strategia preventiva importante, soprattutto quando interessa punti d'uso vicini a pazienti fragili o aree assistenziali ad alta vulnerabilità. La survey italiana di Montagna et al. ha mostrato come il superamento di 1.000 UFC/L rappresenti una criticità frequentemente riscontrata nelle strutture ospedaliere, e come le strategie correttive più utilizzate includano shock termico, iperclorazione e biossido di cloro (82). Nel contesto del Policlinico, questo dato rafforza la necessità di mantenere un monitoraggio ravvicinato dei punti positivi, soprattutto in caso di positività ripetute o di incremento delle concentrazioni.

Dal punto di vista microbiologico, l'elemento più caratterizzante è la distribuzione dei sierogruppi: su 66 positività ambientali, *L. pneumophila* sierogruppo 3 corrisponde a 37 campioni, pari al 56,06%, seguita dal sierogruppo 1, rilevato in 16 isolati, pari al 24,24%, dal sierogruppo 6 e dal gruppo 2-14. Questo risultato è coerente con quanto osservato in diverse sorveglianze ospedaliere italiane, nelle quali i sierogruppi non-1 risultano spesso predominanti negli isolamenti ambientali (83) (84). La predominanza del sierogruppo 3 ha una rilevanza non solo descrittiva, ma anche clinico-diagnostica: l'affidamento esclusivo al test antigenico urinario, che nella pratica corrente identifica prevalentemente *L. pneumophila* sierogruppo 1, può infatti determinare una sottodiagnosi delle infezioni sostenute da sierogruppi non-1. Per questo motivo, in presenza di polmonite sospetta, soprattutto nei pazienti ricoverati, immunocompromessi o con possibile esposizione ospedaliera, la negatività dell'antigene urinario non dovrebbe escludere la diagnosi di legionellosi. Questi aspetti confermano l'importanza di integrare il monitoraggio ambientale con metodiche diagnostiche e microbiologiche in grado di rilevare e caratterizzare anche sierogruppi diversi dal sierogruppo 1. Nei casi nosocomiali certi o di origine dubbia, la sola evidenza di una positività ambientale non è sufficiente per attribuire l'infezione alla rete idrica ospedaliera; è invece necessario disporre, quando possibile, di campioni respiratori

per coltura e/o PCR e di strumenti di tipizzazione molecolare. In questo senso, il sequence based typing (SBT) mantiene un ruolo rilevante nella caratterizzazione epidemiologica degli isolati di *Legionella*, poiché consente il confronto tra ceppi clinici e ambientali e può supportare l'attribuzione della fonte nei casi sospetti (85). Questo passaggio è particolarmente importante nel presente studio, in cui la presenza ambientale prevalente del sierogruppo 3 rende essenziale un iter diagnostico non limitato al solo antigene urinario.

L'analisi per classe di rischio degli edifici mostra che il maggior numero assoluto di positività ricade nelle strutture classificate a rischio molto alto. Questo risultato è in parte atteso, poiché tali aree sono sottoposte a un monitoraggio più intenso in ragione della maggiore vulnerabilità dei pazienti assistiti. Tuttavia, le percentuali complessive di positività risultano relativamente simili tra edifici a rischio molto alto, alto e intermedio, mentre appaiono inferiori negli edifici a basso rischio. Questo dato suggerisce come, in una rete idrica ospedaliera articolata, la colonizzazione da *Legionella* non rimanga necessariamente confinata ai soli reparti a maggiore rischio clinico, ma possa interessare porzioni diverse della rete. Analisi spazio-temporali condotte su lungo periodo nel Nord Est italiano hanno mostrato come *Legionella* possa organizzarsi in cluster e persistere nel tempo, rendendo utile una lettura non soltanto per edificio, ma anche per rete idrica, rami dell'impianto e punti distali (86). Inoltre, le prospettive più recenti sulla gestione di *Legionella* negli ambienti idrici ingegnerizzati sottolineano il ruolo dei microambienti, del biofilm e della stagnazione nel favorire oscillazioni e ricrescita della contaminazione (87). Ne deriva che la classificazione del rischio degli edifici resta fondamentale, ma deve essere affiancata da una lettura impiantistica dettagliata, nell'ambito della sorveglianza, soprattutto in presenza di positività persistenti o di campioni con concentrazioni superiori a 1.000 UFC/L.

La distribuzione per concentrazione e sierogruppo aggiunge un ulteriore elemento interpretativo. Il sierogruppo 3 non è solo il più rappresentato in termini assoluti, ma contribuisce in modo rilevante alla colonizzazione ambientale osservata anche nei campioni con cariche più significative. Il sierogruppo 1, pur meno frequente nei dati ambientali del Policlinico, mantiene comunque un rilievo clinico-epidemiologico per la sua maggiore associazione storica con i casi di malattia nell'uomo e per la maggiore probabilità di identificazione mediante test antigenico urinario. La coesistenza di più sierogruppi nella rete idrica conferma l'utilità di una sorveglianza ambientale non limitata alla semplice distinzione tra campione positivo e negativo, ma orientata anche alla caratterizzazione microbiologica degli isolati e alla valutazione del loro potenziale significato clinico.

Sul versante clinico, nel periodo 2021-2025 sono stati notificati 159 casi di legionellosi, di cui 141 comunitari, 11 nosocomiali e 7 dubbi o non definibili con certezza. La netta prevalenza dei casi comunitari suggerisce che la presenza di contaminazione ambientale nella rete idrica ospedaliera non si traduca necessariamente in malattia clinica né implichi automaticamente una trasmissione nosocomiale. Questo aspetto è coerente con la natura multifattoriale del rischio di legionellosi, che dipende dall'interazione tra caratteristiche del ceppo, intensità, modalità di esposizione e suscettibilità dell'ospite. In uno studio condotto nel Nord Italia su isolati provenienti da sistemi idrici ospedalieri e casi associati all'assistenza sanitaria, specifici marcatori di virulenza sono risultati associati ai casi clinici, suggerendo che non tutte le colonizzazioni ambientali abbiano lo stesso significato epidemiologico (88). Di conseguenza, l'integrazione tra sorveglianza ambientale, dati clinici e caratterizzazione dei ceppi può contribuire a distinguere le situazioni di maggiore rilievo da quelle a verosimile minore impatto clinico.

L'aumento dei casi osservato nel 2024, prevalentemente comunitari, non implica di per sé un incremento della trasmissione ospedaliera. Questo punto è importante perché aumenti di incidenza e cluster di legionellosi possono originare anche da fonti esterne alla singola struttura sanitaria, comprese reti idriche urbane, torri evaporative o edifici multipli. In Italia è stato descritto un ampio outbreak comunitario verificatosi nel 2018, nel quale l'indagine epidemiologica e microbiologica ha permesso di chiarire una dinamica prevalentemente extra-ospedaliera (89). Analogamente, in Finlandia un outbreak associato all'acqua di rubinetto ha coinvolto più edifici residenziali e un ospedale; in tale contesto, l'impiego di metodiche genomiche è risultato determinante per correlare ceppi clinici e ambientali e ricostruire la catena di trasmissione (90). Questi modelli sono utili per interpretare il dato del Policlinico: la maggior prevalenza di casi comunitari rende meno immediata l'attribuzione dell'aumento di diagnosi a una sorgente ospedaliera e impone una sorveglianza prudente, fondata sulla classificazione epidemiologica dei casi e sulla disponibilità di dati microbiologici comparabili. La presenza di casi nosocomiali e dubbi mantiene tuttavia un rilievo specifico in termini di prevenzione. Anche un numero limitato di casi potenzialmente correlati all'assistenza richiede infatti un sistema di indagine strutturato, capace di integrare tempestivamente dati clinici, epidemiologici e ambientali. In questa prospettiva, la sorveglianza ambientale non dovrebbe essere considerata un'attività isolata, ma parte di un percorso finalizzato a confermare o escludere una possibile origine nosocomiale dei singoli episodi. L'assenza di una correlazione molecolare sistematica tra

isolati clinici e ambientali rappresenta quindi un limite importante, perché riduce la possibilità di distinguere con certezza una semplice co-occorrenza temporale da una reale relazione di trasmissione. Anche la valutazione stagionale ha evidenziato una distribuzione non uniforme dei casi. Nel 2024 si è osservata una maggiore concentrazione di notifiche soprattutto in inverno e primavera, mentre nel 2025 i casi sono risultati distribuiti prevalentemente tra primavera, estate e autunno, con minore numerosità nel periodo invernale. Sebbene la legionellosi presenti spesso una maggiore frequenza nei mesi più caldi o tardo-estivi, l'andamento stagionale può variare in relazione a condizioni climatiche, esposizioni ambientali, caratteristiche della popolazione esposta, accesso alla diagnosi e probabilità di notifica. Nel contesto analizzato, la distribuzione dei casi in più periodi dell'anno supporta quindi la necessità di mantenere una sorveglianza clinico-epidemiologica continuativa, senza limitarla ai soli mesi tradizionalmente considerati a maggiore rischio.

Le caratteristiche clinico-demografiche disponibili per il periodo 2022-2025 mostrano una prevalenza del sesso maschile, un'età media elevata e una durata media di ricovero compresa tra circa 19 e 21 giorni. Questi elementi risultano coerenti con l'epidemiologia nota della legionellosi e con il fatto che un ospedale ad alta complessità intercetti frequentemente pazienti fragili o clinicamente complessi. Anche la quota di decessi durante la degenza, più elevata negli anni recenti, deve essere interpretata con cautela, poiché rappresenta un esito intraospedaliero e non consente, da sola, di attribuire il decesso direttamente alla legionellosi. Tuttavia, la potenziale severità clinica nei pazienti ricoverati rafforza la necessità di ottimizzare la diagnosi eziologica, riducendo il rischio di mancato riconoscimento dei sierogruppi non-1 e mantenendo una capacità di risposta rapida nei reparti ad alta vulnerabilità.

In relazione alle misure di prevenzione e controllo, il Policlinico adotta un Water Safety Plan che include sistemi di disinfezione, filtri in aree selezionate e interventi straordinari, quali iperclorazione o shock termico, al superamento di specifiche soglie di contaminazione.

I risultati del presente studio suggeriscono che tale approccio debba continuare a essere applicato in modo dinamico, modulando frequenza dei controlli e interventi correttivi sulla base della classe di rischio dell'edificio, della sede del punto positivo, della concentrazione rilevata, del sierogruppo identificato e dell'eventuale presenza di legionellosi in pazienti di tale reparto. Esperienze italiane di lungo periodo indicano che strategie strutturate di Water Safety Plan, disinfezione continua e campionamento ambientale esteso possono contribuire al controllo della contaminazione e alla prevenzione dei casi nosocomiali (91). Nel contesto

del Policlinico, questo dato supporta l'importanza di un monitoraggio non solo reattivo, ma continuativo, orientato anche ai punti distali e alle aree in cui si osservano positività ripetute o cariche più elevate.

Il presente studio offre una descrizione utile dell'andamento della contaminazione da *Legionella* spp. in un grande ospedale ad alta complessità. In particolare, emergono la persistenza di una positività ambientale variabile nel tempo, la presenza di una quota non trascurabile di campioni con concentrazione superiore a 1.000 UFC/L, la predominanza del sierogruppo 3, la distribuzione delle positività in edifici con diversa classe di rischio e la netta prevalenza di casi clinici comunitari rispetto ai casi nosocomiali. Il valore principale dello studio risiede quindi nell'integrazione tra dati ambientali, classificazione del rischio e casistica clinica, che consente di individuare criticità e priorità operative per la prevenzione della legionellosi in ambito ospedaliero.

CONCLUSIONI

Il presente studio ha documentato la presenza di contaminazione da *Legionella* spp. nella rete idrica dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova nel periodo 2021-2025. La positività complessiva è risultata pari all'11,62%, con un andamento variabile nel tempo: dopo una riduzione nel biennio 2022-2023, si è osservato un nuovo incremento nel 2024 e nel 2025. La maggior parte dei campioni analizzati è risultata negativa, ma la presenza di campioni positivi, in particolare di campioni con concentrazione superiore a 1.000 UFC/L, conferma la necessità di mantenere un monitoraggio ambientale continuativo e strutturato. Il dato microbiologico più rilevante è rappresentato dalla predominanza di *L. pneumophila* sierogruppo 3, che costituisce oltre la metà delle positività ambientali rilevate. Questo elemento assume particolare importanza in ambito ospedaliero, poiché richiama l'attenzione sulla possibilità che infezioni sostenute da sierogruppi diversi dal sierogruppo 1 possano non essere riconosciute se la diagnosi clinica si basa esclusivamente sul test antigenico urinario. Per questo motivo, nei casi sospetti, soprattutto se nosocomiali o di origine dubbia, risulta fondamentale integrare l'antigene urinario con metodiche diagnostiche su campioni respiratori e, quando possibile, con coltura, PCR e tipizzazione degli isolati. La distribuzione delle positività per classe di rischio mostra che il maggior numero assoluto di campioni positivi riguarda gli edifici a rischio molto alto, ma la presenza di percentuali di positività simili anche in edifici ad alto e intermedio rischio indica che la colonizzazione può interessare aree diverse della rete idrica ospedaliera. La classificazione del rischio degli edifici deve quindi essere mantenuta come criterio centrale di prevenzione, ma deve essere continuamente integrata con i risultati microbiologici, l'andamento temporale delle positività, le concentrazioni rilevate e la vulnerabilità dei pazienti esposti. Dal punto di vista clinico, la maggior parte dei casi notificati nel periodo di studio è risultata di origine comunitaria. La presenza di casi nosocomiali e dubbi, pur numericamente inferiore, conferma tuttavia l'importanza di un sistema di sorveglianza capace di correlare rapidamente i dati clinici con quelli ambientali. La sola positività della rete idrica non consente di attribuire automaticamente un caso alla struttura ospedaliera, ma rappresenta un elemento che deve essere interpretato insieme alla storia di ricovero, alle esposizioni del paziente, ai risultati microbiologici e, quando disponibili, ai dati di tipizzazione. In conclusione, i risultati ottenuti confermano che la prevenzione della legionellosi in un ospedale ad alta complessità richiede un approccio integrato, continuo e multidisciplinare. Il

monitoraggio ambientale, la caratterizzazione dei sierogruppi, il controllo delle concentrazioni, l'applicazione del Water Safety Plan, l'attenzione ai punti distali della rete e la sorveglianza clinico-epidemiologica rappresentano strumenti complementari per individuare precocemente eventuali criticità e ridurre il rischio per i pazienti più vulnerabili. L'esperienza del Policlinico San Martino evidenzia quindi l'importanza di una gestione del rischio non episodica, ma fondata sull'integrazione costante tra dati ambientali, dati clinici e interventi di prevenzione mirati.

BIBLIOGRAFIA

1. *Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia.* D W Fraser, T R Tsai, W Orenstein, W E Parkin, H J Beecham, R G Sharrar, J Harris, G F Mallison, S M Martin, J E McDade, C C Shepard, P S Brachman. 1977, New England Journal of Medicine, Vol. 297, p. 1189-1197.
2. S. Barbuti, G.M Fara, G. Giammanco. *Igiene- Medicina preventiva* .
3. *The molecular ecology of Legionella pneumophila.* BS, Fields. 7, s.l. : Trends in Microbiology, 1996, Vol. 4, p. 286-290.
4. *Ministero della Salute.* [Online] <https://www.salute.gov.it/new/it/pubblicazione/linee-guida-la-prevenzione-ed-il-controllo-della-legionellosi/>.
5. *The natural alternative: protozoa as cellular models for Legionella infection.* Hoffmann C, Harrison CF, Hilbi H. 1, 2014, Vol. 16, p. 15-26.
6. *Legionella Spp. and Legionnaires' Disease.* Diederer, B.M.W. s.l. : The Journal of Infection, 2008, Vol. 56.
7. *Legionella and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation.* Fields, Barry S., Benson, Robert F. e Besser, Richard E. 15, s.l. : Clinical Microbiology Reviews, Vol. 2002.
8. *Legionella Pneumophila: The Paradox of a Highly Sensitive Opportunistic Waterborne Pathogen Able to Persist in the Environment.* Berjeaud, Jean-Marc e al., et. 486, s.l. : Frontiers in Microbiology, 2016, Vol. 7.
9. *Hospital Water Point-of-Use Filtration: A Complementary Strategy to Reduce the Risk of Nosocomial Infection.* Ortolano, Girolamo A. e al., et. S1–S19 , s.l. : American Journal of Infection Control, 2005, Vol. 33.
10. *The challenges were legion.* Fraser, David W. 237-241, s.l. : The Lancet Infectious Diseases, 2005, Vol. 5.
11. *Legionnaires' Disease.* Cunha, Burke A., Burillo, Almudena e Bouza, Emilio. 10016 , s.l. : The Lancet (British edition), 2016, Vol. 387, p. 376–385.
12. *Legionella pneumophila—Virulence Factors and the Possibility of Infection in Dental Practice.* Talapko, Jasminka, et al. s.l. : Microorganisms, 2022, Vol. 10.
13. *Detection of viable but non-culturable Legionella in hospital water network following monochloramine disinfection.* Casini, B., et al. 1, s.l. : The Journal of Hospital Infection, 2018, Vol. 98, p. 46-52.
14. Moroni, Mauro, Esposito, Roberto e De Lalla, Fausto. *Malattie infettive.* 2008.
15. *Biology and Pathogenesis of Legionella.* Newton, Hayley J., Hartland, Elizabeth L. e Machner, Matthias P. 39, s.l. : Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2013, Vol. 3.
16. *Molecular pathogenesis of infections caused by Legionella pneumophila.* Newton, H. J., et al. 2, s.l. : Clinical Microbiology Reviews, 2010, Vol. 23, p. 274-298.
17. Prevention, Centers for Disease Control and. *How Legionella Spreads. Centers for Disease Control and Prevention.* [Online] 09 giugno 2025 .

18. *The hospital water supply as a source of nosocomial infections: a plea for action.* EJ, Anaissie, SR, Penzak e MC, Dignani. 13, s.l. : Archives of Internal Medicine, 2002, Vol. 162, p. 1483-1492.
19. Salute, Ministero della. Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi. *Salute.gov.it*. [Online] 7 maggio 2015.
20. *Probable person-to-person transmission of Legionnaires' disease.* Correia, A. M., et al. 5, s.l. : New England Journal of Medicine, 2016, Vol. 374, p. 497-498.
21. *Growth, respiration and survival of Legionella pneumophila at high temperatures.* Kusnetsov, J. M., Ottoila, E. e Martikainen, P. J. 4, s.l. : Journal of Applied Bacteriology, 1996, Vol. 81, p. 341-347.
22. *Required water temperature in hotel plumbing to control Legionella growth.* M, Rasheduzzaman, et al. s.l. : Water Research, 2020, Vol. 169, p. 115219.
23. Centers for Disease Control and Prevention. Controlling Legionella in Potable Water Systems. *CDC.gov*. [Online] cdc.gov.
24. Signorelli, Carlo. *Igiene e Sanità Pubblica*. roma : SEU, 2021.
25. *Legionella Pneumophila Pneumonia in a Newborn after Water Birth: A New Mode of Transmission.* Franzin, L., et al. 9, s.l. : Clinical Infectious Diseases, 2001, Vol. 33, p. 103-104.
26. *Effect of monochloramine on controlling Legionella in public water systems.* Kool, J. L., Carpenter, J. C. e Fields, B. S. 1, s.l. : Archives of Environmental Health, 1999, Vol. 54, p. 15-22.
27. *Icm/dot-dependent upregulation of phagocytosis by Legionella pneumophila.* Hilbi, Hubert, Segovia, J. J. e Shuman, H. A. 3, s.l. : Molecular Microbiology, 2001, Vol. 42, p. 603-617.
28. *Legionella pneumophila.* Gonçalves, Inês G., Simões, Lúcia C. e Simões, Manuel. 9, s.l. : Trends in Microbiology, 2021, Vol. 29, p. 860-861.
29. *Community-acquired pneumonia among smokers.* Almirall, Jordi, Blanquer, Jordi e Bello, Salvador. 6, s.l. : Archivos de Bronconeumología, 2014, Vol. 50, p. 250-254.
30. *Risk factors for domestic acquisition of Legionnaires' disease.* Straus, W. L., et al. 11, s.l. : American Journal of Epidemiology, 1996, Vol. 144, p. 1089-1099.
31. Prevention, Centers for Disease Control and. About Pontiac Fever. *CDC.gov*. [Online] 09 giugno 2025. cdc.gov.
32. *Pneumonia severity index in the immunocompromised.* Sanders, K. M., Marras, T. K. e Chan, C. K. 2, s.l. : Canadian Respiratory Journal, 2006, Vol. 13, p. 89-93.
33. *Legionella community-acquired pneumonia (CAP) presenting with spontaneous bilateral pneumothoraces.* Burke A Cunha 1, Francisco Miled Pherez, Yelda Nouri. 3, 2008, Heart & Lung, Vol. 37, p. 189-191.
34. *Lethal Legionella infection in an immunocompromised child: first reported case in the Middle East.* Sami A Taha 1, Tareq M Al-Ayed, Sami A Al-Haider, Husn H Frayha. 4, s.l. : Annals of Saudi Medicine, 2012, Vol. 32, p. 430-432.

35. *Clinical features of Legionnaires' disease*. BA, Cunha. 5, s.l. : Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine, 2008, Vol. 29, p. 482-495.
36. *Epidemiology and Clinical Management of Legionnaires' Disease*. Phin, Nick, et al. 10, s.l. : The Lancet Infectious Diseases, 2014, Vol. 14, p. 1011-1021.
37. *The radiologic manifestations of Legionnaire's disease*. MJ, Tan, et al. 2, s.l. : Chest, 2000, Vol. 117, p. 398-403.
38. *Severe Legionnaires' disease*. Rello J, Allam C, Ruiz-Spinelli A, Jarraud S. 1, s.l. : Ann Intensive Care., 2024, Vol. 14, p. 51.
39. Prevention, Centers for Disease Control and. Clinical Guidance for Legionella Infections. *CDC.gov*. [Online] 2025. *cdc.gov*.
40. CDC. Clinical Overview of Legionnaires' Disease. [Online] 2025. *cdc.gov*.
41. Centers for Disease Control and Prevention. Methods for Legionella Testing and Specimen Collection. *CDC*. [Online] 15 maggio 2026. <https://www.cdc.gov/investigate-legionella/php/public-health-strategy/legionella-testing.html>.
42. CDC. Methods for Legionella Testing and Specimen Collection. [Online] 15 maggio 2026. <https://www.cdc.gov/investigate-legionella/php/public-health-strategy/legionella-testing.html>.
43. Manuali MSD. Legionella Infections. *msdmanuals.com*. [Online] 2024. *msdmanuals.com*.
44. Laboratory Testing for Legionella. *CDC.gov*. [Online] 2025. <https://www.cdc.gov/legionella/php/laboratories/index.html>.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory Testing for Legionella. *CDC*. [Online] 13 maggio 2026. <https://www.cdc.gov/legionella/php/laboratories/index.html>.
46. *Prospective evaluation of RT-PCR on sputum versus culture, urinary antigens and serology for Legionnaire's disease diagnosis*. Botelho-Nevers, E., et al. 2, s.l. : The Journal of Infection, 2016, Vol. 73, p. 123-128.
47. *Diagnostic Accuracy of PCR Alone and Compared to Urinary Antigen Testing for Detection of Legionella spp.: a Systematic Review*. Avni, T., et al. 2, s.l. : Journal of Clinical Microbiology, 2016, Vol. 54, p. 401-411.
48. Bush, Larry M. e Schmidt, Charles E. Legionella Infections. *Manuali MSD*. [Online] 2024. *msdmanuals.com*.
49. *Community-acquired legionnaires disease: implications for underdiagnosis and laboratory testing*. Yu VL, Stout JE. 9, s.l. : Clin Infect Dis, 2008, Vol. 46, p. 1365-1367.
50. *Legionnaires' disease: clinical differentiation from typical and other atypical pneumonias*. BA, Cunha. 1, s.l. : Infectious Disease Clinics of North America, 2010, Vol. 24, p. 73-105.
51. *Meta-analysis of fluoroquinolones versus macrolides for treatment of legionella pneumonia*. Kato H, Hagihara M, Asai N, Shibata Y, Koizumi Y, Yamagishi Y, Mikamo H. 3, s.l. : BMC Infectious Diseases, 2021, Vol. 27, p. 424-433.
52. *treatment strategies for Legionella infection*. Pedro-Botet ML, Yu VL. 7, s.l. : Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2009, Vol. 10, p. 1109-1121.

53. *Are fluoroquinolones or macrolides better for treating Legionella pneumonia? A systematic review and meta-analysis.* AS, Jasper, et al. 11, s.l. : Clinical Infectious Diseases, 2021, Vol. 72, p. 1979-1989.
54. *Global Perspective of Legionella Infection in Community-Acquired Pneumonia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies.* Graham, F. F., et al. 3, s.l. : International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, Vol. 19, p. 1907.
55. *Deciphering the Progress in the Development of a Vaccine against Legionella pneumophila: A Review.* Jaiswal, S. R., et al. 3, s.l. : Vaccines, 2023, Vol. 11, p. 673.
56. European Centre for Disease Prevention and Control. European Surveillance of Legionnaires' Disease . [Online] 2023. europa.eu.
57. *Travel-associated Legionnaires' disease in Europe, 2010.* B, de Jong, et al. 23, s.l. : Eurosurveillance, 2013, Vol. 18, p. 20498.
58. *I risultati del sistema di sorveglianza della legionellosi nel 2021.* Rota, M. C., et al. 1, s.l. : BEN - Bollettino Epidemiologico Nazionale, 2023, Vol. 4, p. 25-32.
59. *Epidemiology of Legionnaires' Disease in Italy, 2004–2019: A Summary of Available Evidence.* Riccò M, Peruzzi S, Ranzieri S, Giuri PG. 11, s.l. : Microorganisms, 2021, Vol. 9, p. 2180.
60. *Legionnaires' disease in Italy: results of the epidemiological surveillance from 2000 to 2011.* Rota, Maria Cristina, et al. 23, 2013, Eurosurveillance, Vol. 18, p. 20497.
61. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Legionnaires' disease – Annual epidemiological report 2021. ECDC. [Online] 2023.
<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/legionnaires-disease-annual-epidemiological-report-2021>.
62. *I risultati del sistema di sorveglianza nazionale della legionellosi coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, anno 2023.* Iera, J., et al. 3, s.l. : BEN - Bollettino Epidemiologico Nazionale, 2024, Vol. 5, p. 29-38.
63. Istituto Superiore di Sanità (ISS) - Epicentro. La sorveglianza della legionellosi in Italia: dati 2022. *Epicentro - Il portale dell'epidemiologia per la sanità pubblica.* [Online] marzo 2023.
<https://www.epicentro.iss.it/ben/2023/1/sorveglianza-legionellosi-2022>.
64. Italia. Decreto Legislativo 19 luglio 2025, n. 102 – Disposizioni integrative e correttive del D.Lgs. 18/2023. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* . [Online] 19 luglio 2025.
<https://www.normattiva.it>.
65. *Legionnaires' disease in Europe, 2011 to 2015.* Beauté, Julien. 27, s.l. : Eurosurveillance., 2017, Vol. 22, p. 30566.
66. *Legionella and the prevention of legionellosis.* Bartram, J., et al. ginevra : World Health Organization, 2007.
67. *Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations.* Mercante, J. W. e Winchell, J. M. 1, s.l. : Clinical Microbiology Reviews, 2015, Vol. 28, p. 95-133.
68. *Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections.* Magill, S. S., et al. 13, s.l. : New England Journal of Medicine, 2014, Vol. 370, p. 1198–1208.

69. *Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis.* Allegranzi, B., et al. 9761, s.l. : The Lancet, 2011, Vol. 377, p. 228–241.
70. *Burden of six healthcare-associated infections on European population health: estimating incidence-based disability-adjusted life years.* Cassini, A., et al. 10, s.l. : PLoS Medicine, 2016, Vol. 13, p. e1002150.
71. World Health Organization. Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide. [Online] WHO Press, 2011. who.int.
72. *Probable person-to-person transmission of Legionnaires' disease.* Correia, A. M., et al. 6, s.l. : New England Journal of Medicine, 2016, Vol. 374, p. 497-508.
73. World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum.* ginevra : WHO Press, 2017. 978-92-4-154995-0.
74. *Biofilms: the environmental playground of Legionella pneumophila.* Declerck, P. 3, s.l. : Environmental Microbiology, 2010, Vol. 12, p. 557-566.
75. *The water safety plan for the control and prevention of waterborne diseases in a hospital of Southern Italy.* Spagnuolo, Vincenzo, et al. Suppl, 2023, Population Medicine, Vol. 5, p. A940.
76. *Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital.* I, Marchesi, et al. 1, 2011, Journal of Hospital Infection, Vol. 77, p. 47-51.
77. *Control of Legionella contamination in a hospital water distribution system by monochloramine.* I, Marchesi, et al. 3, 2012, American Journal of Infection Control, Vol. 40, p. 279-281.
78. *Point-of-use water filtration reduces healthcare-associated infections in bone marrow transplant recipients.* JS, Cervia, et al. 3, 2010, Transplant Infectious Disease, Vol. 12, p. 238-241.
79. *Incorporation of natural uncultivable Legionella pneumophila into potable water biofilms provides a protective niche against chlorination stress.* MS, Gião, et al. 4, 2009, Biofouling, Vol. 25, p. 335-341.
80. *Environmental Monitoring of Legionella in Hospitals in the Campania Region: A 5-Year Study.* Lombardi, A., et al. 8, s.l. : MDPI, 2023, International Journal of Environmental Research and Public Health, Vol. 20, p. 5526.
81. *Four-Year Environmental Surveillance Program of Legionella spp. in One of Palermo's Largest Hospitals.* Arrigo I, Galia E, Fasciana T, Diquattro O, Tricoli MR, Serra N, Palermo M, Giammanco A. 4, s.l. : MDPI, 1 aprile 2022, Microorganisms, Vol. 10, p. 764.
82. *Control and prevention measures for legionellosis in hospitals: A cross-sectional survey in Italy.* Montagna MT, De Giglio O, Napoli C, Diella G, Rutigliano S, Agodi A, Auxilia F, Baldovin T, Bisetto F, Arnoldo L, et al. s.l. : Elsevier, 2018, Environmental Research, Vol. 166, p. 55-60.
83. —. Montagna MT, De Giglio O, Napoli C, Diella G, Rutigliano S, Agodi A, Auxilia F, Baldovin T, Bisetto F, Arnoldo L, et al. s.l. : Elsevier, 2018, Environmental Research, Vol. 166.

84. *Current and Emerging Legionella Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations*. Mercante JW, Winchell JM. 1, s.l. : American Society for Microbiology, 2015, Clinical Microbiology Reviews, Vol. 28.
85. *Fatal Case of Nosocomial Legionella pneumophila Pneumonia, Spain, 2018*. Vicente D, Marimón JM, Lanzeta I, Martin T, Cilla G. 11, s.l. : Centers for Disease Control and Prevention, 2019, Emerging Infectious Diseases, Vol. 25, p. 2097-2099.
86. *Environmental surveillance and spatio-temporal analysis of Legionella spp. in a region of northeastern Italy (2002–2017)*. Felice A, Franchi M, De Martin S, Vitacolonna N, Iacumin L, Civilini M. 7, s.l. : Public Library of Science, 2019, PLoS One, Vol. 14.
87. *Foresight 2035: a perspective on the next decade of research on the management of Legionella spp. in engineered aquatic environments*. Hammes F, Gabrielli M, Cavallaro A, Eichelberg A, Barigelli S, Bigler M, et al. s.l. : Oxford University Press, 2025, FEMS Microbiology Reviews, Vol. 49, p. fuaf022.
88. *Virulence of Legionella pneumophila strains isolated from hospital water system and healthcare-associated Legionnaires' disease in Northern Italy between 2004 and 2009*. Ditommaso S, Giacomuzzi M, Rivera SR, Raso R, Ferrero P, Zotti CM. s.l. : BioMed Central / Springer Nature, 2014, BMC Infectious Diseases, Vol. 14, p. 483.
89. *Large community-acquired Legionnaires' disease outbreak caused by Legionella pneumophila serogroup 1, Italy, July to August 2018*. Faccini M, Russo AG, Bonini M, Tunesi S, Murtas R, Sandrini M, Senatore S, Lamberti A, Ciconali G, Cammarata S, et al. 20, s.l. : European Centre for Disease Prevention and Control, 2020, Eurosurveillance, Vol. 25, p. 1900523.
90. *Tap water as the source of a Legionnaires' disease outbreak spread to several residential buildings and one hospital, Finland, 2020 to 2021*. Mentula S, Kääriäinen S, Jaakola S, Niittynen M, Airaksinen P, Koivula I, Lehtola M, Mauranen E, Mononen I, Savolainen R, et al. 11, s.l. : European Centre for Disease Prevention and Control, 2023, Eurosurveillance, Vol. 28.
91. *Water Safety Plan, Monochloramine Disinfection and Extensive Environmental Sampling Effectively Control Legionella and Other Waterborne Pathogens in Nosocomial Settings: The Ten-Year Experience of an Italian Hospital*. Farina C, Cacciabue E, Averara F, Ferri N, Vailati F, Del Castillo G, Serafini A, Fermi B, Doniselli N, Pezzoli F. 7, s.l. : MDPI, 2023, Microorganisms., Vol. 11, p. 1794.
92. *The Flagellar Regulon of Legionella—A Review*. S, Appelt e K, Heuner. 2017, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, Vol. 7, p. 454.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il Professor Andrea Orsi per la possibilità datami di realizzare questo progetto di tesi. Ringrazio inoltre la Dott.ssa Elena Lagorio e la Dott.ssa Matilde Ogliastro per la disponibilità, supporto e pazienza durante ogni fase di stesura di questo elaborato.