



Università di Genova

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

TESI DI LAUREA

Dipartimento di Scienze della salute

**“ Monitoraggio ambientale ed epidemiologico di *Legionella pneumophila* in
ambito ospedaliero: analisi nel periodo 2020-2026 presso l' IRCCS AOM
Ospedale Policlinico San Martino di Genova “**

RELATORE :

Prof. Giancarlo Icardi

CANDIDATO :

Antonio Luigi Gabutti

CORRELATORE :

Dott. Vincenzo Paolozzi

Anno accademico 2025/2026

A mia nonna Maria

INDICE

1) La Legionella e Legionellosi

- 1.1 Storia e scoperta
- 1.2 Descrizione microbiologica
- 1.3 Modalità di trasmissione
- 1.4 Patogenesi e Fattori di rischio
- 1.5 Manifestazioni cliniche
- 1.6 Diagnosi e Diagnosi differenziale
- 1.7 Terapia

2) Epidemiologia e Sorveglianza sanitaria

- 2.1 Epidemiologia della *Legionella pneumophila*
 - 2.1.1 A livello Globale
 - 2.1.2 A livello Europeo
 - 2.1.3 A livello Italiano
- 2.2 Sorveglianza sanitaria
- 2.3 Definizione di caso
- 2.4 Notifica e gestione dei casi

3) Valutazione della Legionellosi in ambito Nosocomiale e delle infezioni correlate all'assistenza (ICA)

- 3.1 Analisi del rischio in ambito Nosocomiale e nelle strutture sanitarie
- 3.2 Infezioni correlate all'assistenza
- 3.3 Strategie e misure di controllo e prevenzione
- 3.4 Monitoraggio ambientale ed epidemiologico
- 3.5 Valutazione specifica presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova

4) Studio Sperimentale

4.1 Obiettivi dello studio

4.2 Materiali e metodi

4.2.1 Disegno dello studio e setting

4.2.2 Classificazione del rischio degli edifici e misure di prevenzione

4.2.3 Campionamento ambientale e analisi microbiologica

4.2.4 Sorveglianza clinico-epidemiologica

4.2.5 Analisi statistica

4.3 Risultati

4.3.1 Sorveglianza ambientale, 2017-2026

4.3.2 Distribuzione e andamento temporale dei sierogruppi

4.3.3 Distribuzione per classe di rischio degli edifici

4.3.4 Casi clinici di legionellosi, 2020-2026

4.3.5 Caratteristiche clinico-demografiche e mortalità

5) Discussione

5.1 Andamento della contaminazione ambientale

5.2 Sierogruppi ed indicazioni diagnostiche

5.3 Cariche microbiche

5.4 Distribuzione per classe di rischio

5.5 Casi Clinici

6) Conclusioni

7) Bibliografia

8) Ringraziamenti

1) LA LEGIONELLA E LEGIONELLOSI

1.1 Storia e scoperta

La storia della Legionella inizia dall'epidemia di polmonite che colpì Philadelphia nel luglio 1976, dove vi parteciparono circa 4.000 legionari in occasione della 58ª convention annuale dell'American Legion, avvenuto presso il Bellevue-Stratford Hotel. (1)

Nelle settimane successive si registrarono 182 casi di polmonite grave, di cui 29 mortali, con un tasso di letalità che colpì profondamente l'opinione pubblica e la comunità scientifica statunitense.

Le indagini epidemiologiche iniziali furono estremamente complesse, infatti l'agente causale non fu identificato fino al gennaio 1977, la causa di questo fu che la malattia mimava altre patologie ed inoltre non era possibile coltivare il microrganismo con metodi di laboratorio standard di quel periodo. (1)

Fu il microbiologo del CDC Joseph McDade a trovare il patogeno responsabile. Questi dopo aver inizialmente sospettato un'eziologia virale, siccome i tentativi di coltura batterica standard risultavano negativi, ripeté i tentativi di isolamento su uova embrionate, questa volta eliminando dalla coltura gli antibiotici normalmente utilizzati per prevenire le contaminazioni batteriche nell'isolamento delle rickettsie; fu proprio l'assenza di antibiotici a permettere finalmente la crescita del microrganismo. (2)

Il CDC annunciò la scoperta in una conferenza stampa il 18 gennaio 1977, e il batterio fu in seguito denominato *Legionella pneumophila*, dal greco *pneumon* (polmone) e *philos* (amante di), in riferimento al tropismo polmonare, mentre il nome del genere richiama i "legionari" colpiti dall'epidemia. (3)

I due lavori che descrissero rispettivamente l'epidemia e l'isolamento del batterio furono pubblicati il 1° dicembre 1977 sul New England Journal of Medicine, a firma di Fraser e McDade. (2)

L'epidemia di Philadelphia non fu il primo episodio dovuto a Legionella, ma semplicemente il primo ad essere correttamente identificato; infatti ulteriori indagini retrospettive del CDC dimostrarono che epidemie di malattia respiratoria causate da *L. pneumophila* risalivano già ad anni precedenti. (4)(5)(6)

In particolare:

- Un ceppo batterico isolato nel 1947 dal sangue di un militare, allora classificato come agente "rickettsia-like", fu in seguito riconosciuto nel 1979 come appartenente alla stessa specie e allo stesso sierogruppo del batterio di Philadelphia , rappresentando quindi il più antico isolato noto di *Legionella*. (4)(6)
- Nel luglio 1968 si verificò a Pontiac, Michigan, un'epidemia di malattia febbrile acuta autolimitante tra il personale di un dipartimento sanitario, successivamente ricondotta a *Legionella* e utilizzata per definire la forma clinica non polmonare nota come **febbre di Pontiac**. (5)(6)

Dopo la scoperta iniziale, la ricerca si è progressivamente ampliata; infatti, dalla singola specie identificata nel 1977 si è arrivati oggi a un genere comprendente, a seconda delle fonti e degli aggiornamenti tassonomici, tra le 39 e le 60 specie con distinti tipi antigenici, alcune fonti più recenti riportano almeno 59 specie, 3 sottospecie e oltre 70 sierogruppi. (7)

1.2 Descrizione microbiologica

La *Legionella pneumophila* è un bacillo Gram-negativo aerobio, pleomorfo, flagellato, non sporigeno, con dimensioni variabili, da una lunghezza compresa tra 2 e 20 µm (a seconda delle condizioni di crescita) ad una larghezza di circa 0,3–0,9 µm. (8)(9)

In terreni poveri di nutrienti il batterio tende ad assumere forme allungate e filamentose , mentre nei tessuti infetti si presenta più tipicamente in forma coccobacillare. (10)

Di seguito alcune caratteristiche fenotipiche e biochimiche distintive:

- È dotato solitamente di un singolo flagello polare, che ne conferisce motilità (anche se non tutte le specie sono mobili). (10)
- È debolmente ossidasi-positivo, non riduce i nitrati, è ureasi-negativo e liquefa la gelatina. (9)(10)
- Ha esigenze nutrizionali complesse, utilizzando aminoacidi piuttosto che carboidrati come principale fonte energetica, e richiede in particolare L-cisteina cloridrato e sali di ferro per la crescita in laboratorio, motivo per cui non cresce sui comuni terreni colturali di uso ospedaliero, ma richiede terreni selettivi dedicati (tipicamente terreno BCYE, buffered charcoal yeast extract, con L-cisteina). (9)

- La parete cellulare è caratterizzata da un contenuto insolitamente elevato di acidi grassi ramificati, e possiede un lipopolisaccaride (LPS) di membrana esterna che rappresenta il principale antigene di superficie e svolge un ruolo importante nella patogenicità e nell'adesione alla cellula ospite. Proprio a causa della particolare composizione dell'LPS, *L. pneumophila* si colora scarsamente con la colorazione di Gram tradizionale, risultando invece positiva con la colorazione argintica. (9)
- Alcune specie mostrano autofluorescenza blu-bianca e producono un pigmento bruno diffusibile su terreni contenenti tirosina. (9)

Una caratteristica molto importante per comprendere la biologia del microrganismo è il suo **ciclo vitale bifasico**, infatti la *Legionella* alterna una fase replicativa non infettiva a una fase trasmissiva infettiva, con variazioni morfologiche associate a ciascuna fase. Nella fase replicativa, che si verifica in condizioni ricche di nutrienti (ad esempio all'interno delle cellule ospiti), il batterio va incontro a replicazione esponenziale producendo forme non mobili e a bassa patogenicità, mentre nella fase trasmissiva il batterio assume caratteristiche di virulenza e motilità.(9)(10)

La *Legionella* è inoltre un microrganismo ubiquitario nell'ambiente, presente nel suolo umido e nelle acque naturali e artificiali, incluse le reti idriche calde. Il suo habitat naturale privilegiato è rappresentato dagli ambienti acquatici, dove si comporta da parassita intracellulare di protozoi: la capacità di invadere e replicarsi all'interno di amebe (oltre che nei macrofagi dei mammiferi) e di formare biofilm rappresenta uno degli aspetti più rilevanti della sua biologia in quanto le amebe fungono da vero e proprio "serbatoio" e "incubatore" naturale del batterio, favorendone la sopravvivenza in condizioni ambientali avverse e conferendo maggiore resistenza anche ai trattamenti di disinfezione; questo aspetto sarà di grande rilevanza nelle valutazioni di trasmissibilità e controllo ambientale.(8)(9)(10)

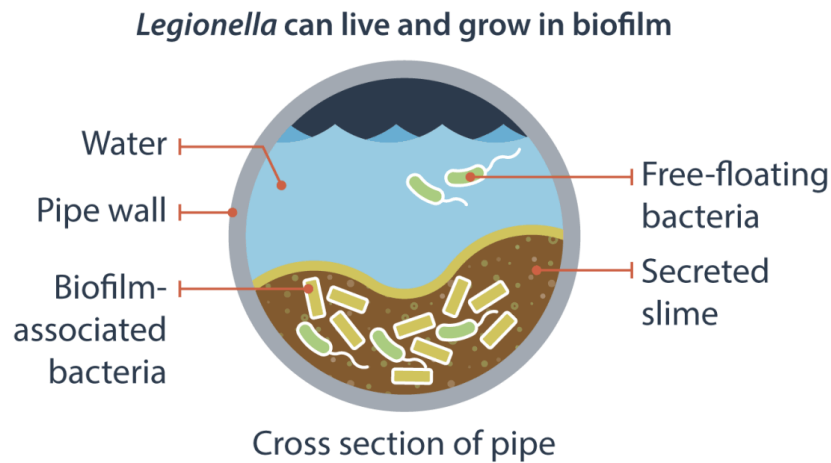


Figura 1. Capacità di creare biofilm e vivere in forma libera in ambiente acquatico (fonte: CDC)

1.3 Modalità di trasmissione

La *Legionella* non si trasmette per contagio interumano, se non in rarissime eccezioni, ma segue un percorso ambientale, ovvero dal serbatoio idrico all'ospite umano per via inalatoria.(11)(12)

La via principale è l'inalazione di aerosol contaminati, generati da soffioni doccia, nebulizzatori, fontane decorative, vasche idromassaggio o torri di raffreddamento. (13)

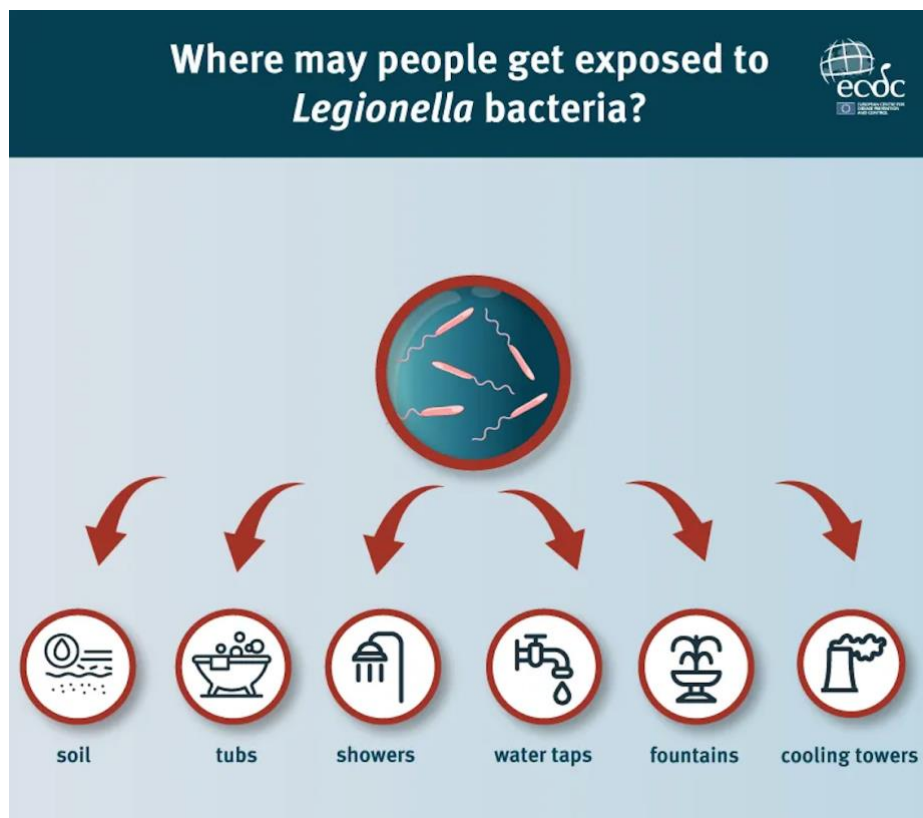


Figura 2. Principali fonti di proliferazione e contagio (fonte: ECDC)

Una via secondaria, più rara ma rilevante nei pazienti con disturbi della deglutizione, è l'aspirazione di acqua potabile contaminata verso le basse vie respiratorie. A livello globale, *L. pneumophila* di origine idrica è responsabile della maggior parte dei casi, mentre *L. longbeachae* è tipicamente associata a terricci da vaso e compost.(14) In condizioni ordinarie l'uomo non trasmette la malattia ad altri individui, per cui non sono richieste misure di isolamento del paziente. (12)(13)

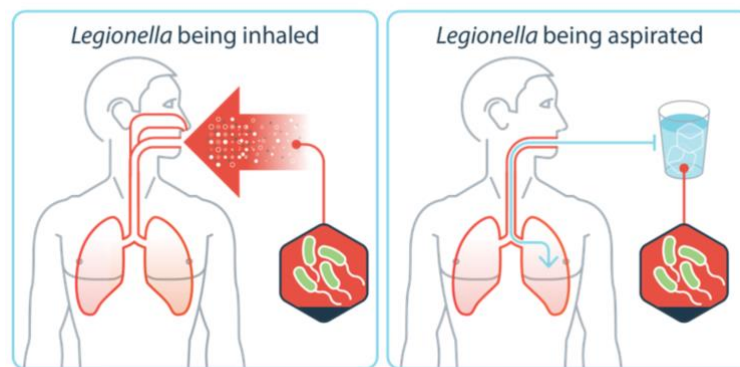


Figura 3. Possibilità di infettarsi mediante inalazione ed aspirazione (fonte: ECDC)

Tuttavia è stato riportato un caso di trasmissione interumano; infatti durante il focolaio epidemico di Vila Franca de Xira (Portogallo, 2014), una donna positiva per *L. pneumophila* ha verosimilmente trasmesso l'infezione al proprio figlio, assistito in una stanza piccola e poco ventilata, sviluppando quest'ultimo il medesimo genotipo batterico pur non avendo mai frequentato l'area del focolaio.(15) Resta un evento eccezionale, che non modifica l'impostazione generale della prevenzione, basata sul controllo ambientale delle fonti idriche.

Legionella si comporta da parassita intracellulare di amebe e protozoi a vita libera in acqua dolce, sopravvivendo anche in forma planctonica o all'interno di biofilm; solo dopo aerosolizzazione raggiunge il polmone umano.(16) Le amebe fungono da serbatoio naturale, favorendo la penetrazione del batterio negli impianti idrici, mentre i biofilm sulle pareti delle tubature offrono protezione dai disinfettanti e ne favoriscono la persistenza a lungo termine. (16)

La temperatura è il principale fattore che regola crescita e sopravvivenza di *Legionella*. La temperatura ottimale di replicazione è circa 37°C, mentre oltre i 44-45°C la moltiplicazione cellulare si riduce marcatamente, arrestandosi tra 48,4°C e 50,0°C, sebbene l'attività metabolica residua persista fino a 51,6°C. (17)

L'intervallo 25-40°C è considerato la "zona di rischio" per la proliferazione (17)(18)(19); sotto i 20°C il batterio sopravvive senza moltiplicarsi attivamente, mentre sopra i 60°C si osserva un rapido effetto battericida, principio su cui si fonda lo shock termico, misura di bonifica che verrà trattata nei prossimi capitoli.(19)

A livello internazionale il quadro normativo è eterogeneo: gli Stati Uniti non dispongono di una legge federale organica sul controllo di *Legionella* nei sistemi idrici (20), mentre diversi Paesi europei (Paesi Bassi, Germania, Inghilterra, Francia) hanno adottato regolamenti più stringenti basati su piani di gestione del rischio, controllo della temperatura e monitoraggio con soglie in UFC/L.(20) Il CDC ha inoltre sviluppato un toolkit dedicato al controllo di *Legionella* nelle strutture sanitarie. (21)

1.4 Patogenesi e fattori di rischio

L. pneumophila è un patogeno intracellulare facoltativo, il cui genere (*Legionella*) comprende oltre 50 specie, di cui almeno 24 associate a infezione umana, ma *L. pneumophila* resta l'agente meglio caratterizzato e la principale causa della malattia dei legionari, una forma severa di polmonite acuta.(12) Una volta raggiunto l'alveolo per via inalatoria, il batterio viene fagocitato dai macrofagi alveolari residenti, ma anziché essere degradato secondo la normale via fago-lisosomiale, evita la fusione fago-lisosomiale e replica all'interno di un vacuolo.(10)(12)

Questo comportamento non è casuale, ma il frutto di un lungo adattamento evolutivo maturato in un ambiente del tutto diverso da quello umano. *Legionella* è infatti, in natura, un parassita intracellulare di protozoi e amebe di acqua dolce: il macrofago alveolare umano rappresenta, dal punto di vista molecolare, un "sostituto accidentale" dell'ameba, tanto che i meccanismi di ingresso e sopravvivenza intracellulare usati contro l'uomo sono in gran parte gli stessi selezionati nel corso dell'evoluzione per l'infezione dei protozoi ambientali. Per questo *Legionella* è spesso definita in letteratura un "patogeno accidentale" (*accidental pathogen*) dell'uomo.(10)(16)(22)

Il fattore molecolare principale della virulenza di *L. pneumophila* è rappresentato dal sistema di secrezione di tipo IV **Dot/Icm** (*Defect in Organelle Trafficking / Intracellular Multiplication*), attraverso il quale il batterio inietta nella cellula ospite oltre 300 proteine effettrici.(10)

Molti di questi fattori interferiscono con le vie di trasporto e di segnalazione tipiche delle

cellule eucariotiche, agendo come mimetismi funzionali, e in alcuni casi anche strutturali, di proteine eucariotiche stesse.(10) Il risultato netto di questa azione coordinata è la formazione del cosiddetto **vacuolo contenente Legionella** (LCV), una nicchia replicativa protetta che consente al batterio di moltiplicarsi indisturbato sia nei macrofagi alveolari sia nelle cellule epiteliali polmonari, sottraendosi al contempo alla risposta immunitaria dell'ospite.(10)

È importante sottolineare come la capacità patogena di *Legionella* nei confronti dell'uomo non sia altro che un sottoprodotto del suo adattamento a un ospite naturale differente. Il batterio persiste nell'ambiente come componente dei biofilm acquatici, dove trova protezione all'interno dei protozoi che lo ospitano: questi ultimi non solo lo nutrono, ma lo proteggono anche da fattori ambientali dannosi, permettendogli inoltre di entrare in uno stato vitale ma non coltivabile (*viable but non-culturable*, VBNC), che ne favorisce la sopravvivenza in condizioni sfavorevoli e ne complica la rilevazione con le tecniche colturali standard. (10)(16) Questa capacità di "allenamento" della virulenza all'interno delle amebe ambientali spiega perché ceppi isolati da fonti ambientali diverse possano mostrare gradi di patogenicità significativamente differenti quando vengono a contatto con l'ospite umano.(16)

Fattori di rischio dell'ospite

Sul versante dell'ospite, la malattia dei legionari colpisce in maniera nettamente più severa i soggetti predisposti per età, condizioni debilitanti di base o immunosoppressione, mentre la maggior parte delle persone sane esposte al batterio non sviluppa un quadro clinico rilevante.(12).

I principali fattori di rischio individuale, ampiamente concordi tra le fonti cliniche di riferimento, comprendono (9)(11)(12):

- **Età avanzata** (convenzionalmente sopra i 50 anni)
- **Sesso maschile**, storicamente più rappresentato nelle casistiche
- **Fumo di sigaretta**, attivo o pregresso, che altera la clearance mucociliare e la funzionalità dei macrofagi alveolari
- **Patologie polmonari croniche** (BPCO, enfisema)
- **Diabete mellito**
- **Insufficienza renale o epatica cronica**

- **Immunosoppressione**, sia da patologia (neoplasie, infezione da HIV) sia iatrogena (terapia corticosteroidica cronica, chemioterapia, farmaci antirigetto nei trapiantati d'organo)
- **Alcolismo cronico**

A questi fattori individuali si aggiungono condizioni di rischio specifiche per la trasmissione nosocomiale, quali procedure di manipolazione delle vie respiratorie, ventilazione meccanica, presenza di sondino nasogastrico e utilizzo di apparecchiature per terapia respiratoria, aspetti che saranno ripresi nel dettaglio nel capitolo 3 dedicato al rischio in ambito ospedaliero.

Un ambito di esposizione meno noto ma di crescente interesse per la medicina preventiva è rappresentato dagli studi odontoiatrici; infatti le linee idriche dei riuniti dentistici (*dental unit waterlines*) rappresentano un ambiente favorevole alla colonizzazione da *Legionella*, e l'infezione in questo contesto si realizza pressoché esclusivamente per inalazione di aerosol contaminati generati dagli strumenti rotanti e dagli spray ad acqua utilizzati durante le procedure odontoiatriche, con potenziale esposizione sia per i pazienti sia per il personale sanitario. Sebbene i casi documentati siano numericamente limitati, questo scenario sottolinea come il rischio da *Legionella* non si esaurisca negli ambiti classicamente considerati (ospedali, alberghi, impianti di climatizzazione), ma richieda attenzione anche in contesti sanitari apparentemente a basso rischio. (23)

1.5 Manifestazioni cliniche

La legionellosi è un'infezione ubiquitaria, come dimostrato dagli studi di sieroprevalenza condotti nella popolazione generale, che documentano una diffusa esposizione anche in soggetti non sintomatici.(24).

Con il termine "legionellosi" si indicano tutte le forme morbose causate da batteri Gram-negativi aerobi del genere *Legionella*, che possono manifestarsi sotto forma di polmonite (con tasso di letalità variabile, indicativamente tra il 10 e il 15%), forma febbrile extrapolmonare o come infezione del tutto subclinica.(11)

I due quadri clinici principali sono la **febbre di Pontiac** e la **malattia dei legionari**.

Febbre di Pontiac

Rappresenta una forma lieve della malattia, priva di interessamento polmonare. Dopo un periodo di incubazione breve, generalmente compreso tra 24 e 48 ore, si manifesta come

sindrome acuta simil-influenzale, con malessere generale, mialgie e cefalea seguiti da febbre, talvolta accompagnata da tosse non produttiva e faringodinia.(25)(26) Possono comparire sintomi gastrointestinali (nausea, diarrea) e lievi manifestazioni neurologiche, quali vertigini, fotofobia o difficoltà di concentrazione. Il decorso è autolimitante, con risoluzione spontanea entro 2-5 giorni e senza necessità di terapia antibiotica.(25)(26)

Malattia dei legionari

Costituisce la forma clinicamente rilevante della legionellosi, configurandosi come polmonite acuta a esordio variabile, con un periodo di incubazione più lungo, generalmente compreso tra 2 e 10 giorni. L'esordio può essere insidioso, con febbre lieve, malessere e artromialgie, oppure brusco, con febbre elevata, dolore toracico, dispnea, cianosi e tosse produttiva, associati al riscontro semeiologico di consolidamento polmonare.(11) La sindrome risultante non presenta caratteri di specificità clinica o radiologica rispetto ad altre forme di polmonite comunitaria, nosocomiale o dell'immunocompromesso, (e ciò rende necessario mantenere un elevato indice di sospetto clinico in presenza di quadri polmonari compatibili. Per la classificazione dei casi più gravi è utile il *Pneumonia Severity Index* (PSI), la cui applicazione tuttavia richiede cautela nei pazienti immunocompromessi, nei quali lo score tende a sottostimare il rischio di mortalità rispetto ai soggetti immunocompetenti.(27)

Un reperto peculiare, seppur non specifico, è la **bradicardia relativa**, ovvero una frequenza cardiaca inferiore a quella attesa per il grado di febbre, verosimilmente riconducibile ad alterazioni del bilancio simpatico-vagale indotte dalla risposta infiammatoria sistemica. (11)

Oltre ai principali quadri clinici con la classica sintomatologia associata possono manifestarsi anche sintomi extrapolmonari. Questi non sono rari e possono orientare il sospetto diagnostico, comprendendo: sintomi gastrointestinali (diarrea, nausea, dolore addominale), sintomi neurologici (cefalea, confusione, alterazioni dello stato mentale), alterazioni epatiche con incremento delle transaminasi, e disturbi elettrolitici, in particolare iponatriemia, reperto relativamente caratteristico anche se non specifico.(11)(12)

Il Centers for Disease Control and Prevention (CDC) conferma tale spettro clinico, includendo tra i sintomi principali dispnea, mialgia, cefalea, dolore toracico, nausea, diarrea o dolore addominale e alterazioni dello stato mentale. (29)

Inoltre si osservano comunemente incremento degli indici di flogosi, leucocitosi, aumento della creatinichinasi e alterazioni elettrolitiche. La radiografia e la TC del torace possono documentare addensamenti alveolari focali o multifocali, monolaterali o disseminati, con possibile evoluzione escavativa nei pazienti immunocompromessi, oppure quadri inizialmente a impegno interstiziale; tali reperti restano tuttavia aspecifici.(26)(29)

Nei casi più severi la malattia può evolvere verso insufficienza respiratoria acuta (talora con necessità di ventilazione meccanica), shock settico, insufficienza renale acuta, coagulazione intravascolare disseminata, ascesso polmonare, empiema e porpora trombocitopenica. La mortalità, secondo i dati del CDC, si attesta mediamente intorno al 10% nella popolazione generale, ma può salire fino al 25% circa nelle infezioni correlate all'assistenza sanitaria (dato di particolare rilevanza per la trattazione del rischio nosocomiale nel capitolo 3). (29)

Proprio per l'assenza di caratteri clinico-radiologici distintivi, le linee guida della American Thoracic Society raccomandano l'impiego di una copertura antibiotica attiva su *Legionella* anche nelle polmoniti comunitarie di grado lieve, e prevedono che l'eziologia da *Legionella* venga presa in considerazione in tutte le forme nosocomiali fino a quando non venga esclusa dalle indagini di laboratorio. (30)

1.6 Diagnosi e Diagnosi differenziale

La diagnosi di legionella è difficile, questo è anche dovuto al fatto che non produce un quadro polmonare riconoscibile a colpo d'occhio; infatti né la clinica né l'imaging permettono di separarla dalle altre polmoniti batteriche.(31) Questo significa che il medico deve affidarsi in larga parte a un ragionamento probabilistico costruito sul contesto (età del paziente, stagione dell'anno, storia recente di viaggi con pernottamento, ricoveri o esposizioni ad ambienti a rischio, comorbidità immunitarie) prima ancora di ricevere un risultato di laboratorio.(32) Il CDC ha reso operativo questo ragionamento in una lista di condizioni che, se presenti, giustificano da sole l'avvio del testing specifico, tra questi:

- mancata risposta a un primo ciclo antibiotico empirico
- quadro respiratorio severo o tale da richiedere terapia intensiva
- stato di immunodepressione
- viaggio recente, ricovero ospedaliero nel periodo di incubazione, o un nesso epidemiologico con un ambiente dove sia già stato isolato il batterio (32)

In pratica, l'indicazione al test nasce più spesso da un pattern di rischio che da un sintomo specifico.

Nessuna singola metodica riesce a coprire da sola l'intero spettro di *Legionella* con adeguata sicurezza, ed è per questo che le linee guida statunitensi non parlano di un test "migliore" in assoluto, ma di una combinazione minima da eseguire sempre insieme che comprende: un campione delle basse vie respiratorie (espettorato o lavaggio broncoalveolare) da analizzare con coltura o metodi molecolari, affiancato dal test antigenico urinario per il sierogruppo 1 di *L. pneumophila*.(32)(33) La logica è complementare e per questo motivo il prelievo respiratorio va eseguito prima di iniziare l'antibiotico, senza però che questo ritardi mai l'inizio della terapia.(32)

La coltura resta il riferimento diagnostico definitivo, nonostante i tempi di coltura siano lunghi; infatti *Legionella* cresce solo su terreni dedicati (il BCYE, arricchito con carbone e cisteina) a circa 35°C, con colonie visibili non prima di 4-10 giorni. Il materiale di elezione è polmonare (lavaggio broncoalveolare, tracheoaspirato, liquido pleurico) anche se in letteratura sono descritti isolamenti da sedi extrapolmonari come fegato, milza o ascessi cutanei.(34)

Il vero valore aggiunto della coltura non è tanto la conferma diagnostica quanto la possibilità di tipizzare il ceppo e confrontarlo con eventuali isolati ambientali: è così che si ricostruisce la fonte di un'epidemia o si conferma un'origine nosocomiale.(35)

Per questo va sempre tentata nei casi gravi, negli immunocompromessi, nei focolai nosocomiali e ogni volta che si sospetti una specie diversa dal sierogruppo 1.(32)(35)

Fondamentale è quindi la sierologia, che avviene mediante la ricerca di anticorpi specifici. Il suo campo d'applicazione resta quindi soprattutto retrospettivo (studi epidemiologici, ricostruzione di focolai) più che la gestione clinica del singolo caso.

Altro elemento importante è la ricerca dell'antigene urinario, il quale è lo strumento più usato in corsia, per rapidità e buona resa diagnostica già nelle fasi iniziali: si positivizza tra il primo e il terzo giorno di malattia, con un picco tra la quinta e la decima giornata, e può restare rilevabile per settimane o mesi anche dopo la guarigione.(36)

La criticità è la copertura ristretta al solo sierogruppo 1 di *L. pneumophila*: usato da solo, lascia scoperte tutte le infezioni sostenute da altri sierogruppi o da altre specie del genere, ed è proprio questa lacuna a giustificare l'abbinamento sistematico con un test respiratorio raccomandato dal CDC.(32)(36)

Infine per avere una certezza diagnostica si può ricorrere alla biologia molecolare (PCR) che individua il DNA batterico con una sensibilità che in molte casistiche eguaglia o supera quella colturale, e a differenza dell'antigene urinario non è limitata a un solo sierogruppo. Uno studio francese che ha confrontato prospetticamente RT-PCR su espettorato, coltura, antigene urinario e sierologia ne ha confermato l'utilità come esame complementare, sottolineando in particolare come la PCR mantenga una buona resa diagnostica anche quando l'antibiotico è già stato avviato (condizione in cui la coltura, al contrario, perde sensibilità perché il batterio non è più vitale).(36)

Valutando invece la diagnosi differenziale, il principale nodo riguarda le polmoniti comunitarie "atipiche" quali: *Mycoplasma pneumoniae*, forme virali, psittacosi, febbre Q, tularemia, e negli immunocompromessi anche le infezioni opportunistiche (micosi polmonari, nocardiosi, *Pneumocystis jirovecii*).(37) Rispetto al *Mycoplasma*, che tende a un decorso più subdolo con maggiore coinvolgimento delle vie aeree superiori, la legionellosi si distingue per febbre più alta, compromissione sistemica evidente e comparsa di sintomi extrapolmonari. Il confronto più insidioso resta però quello con la polmonite pneumococcica, la forma batterica "tipica" per eccellenza; qui a orientare la diagnosi non è tanto un singolo segno, quanto la combinazione di coinvolgimento extrapolmonare, alterazioni laboratoristiche suggestive (iponatriemia, transaminasi elevate) e, soprattutto la mancata risposta a un trattamento empirico con beta-lattamici, farmaci privi di attività su un patogeno a replicazione intracellulare come *Legionella*.(37)

Per psittacosi, febbre Q e tularemia il discriminare è quasi sempre anamnestico (contatto con animali, ambienti rurali, esposizioni professionali); per la legionellosi lo è altrettanto, ma con un'anamnesi diversa (viaggi, soggiorni alberghieri, esposizione a impianti idrici, possibile origine nosocomiale). In ultima analisi, nessun singolo dato clinico o laboratoristico è mai sufficiente da solo: la diagnosi nasce dall'incrocio tra anamnesi, quadro clinico, laboratorio, imaging e conferma microbiologica.(31)(37)

1.7 Terapia

Legionella è un patogeno a replicazione intracellulare, e questo vincola in modo decisivo la scelta terapeutica: gli antibiotici efficaci devono possedere una buona capacità di penetrazione e accumulo all'interno delle cellule ospiti, in particolare nei macrofagi alveolari, dove il batterio si replica al riparo dalla risposta immunitaria umorale.(34)

I beta-lattamici, pur ampiamente utilizzati nelle polmoniti comunitarie "tipiche", risultano per questo motivo strutturalmente inadatti al trattamento della legionellosi, indipendentemente dalla sensibilità *in vitro* del ceppo.(34)

Le classi realmente efficaci sono due: i **macrolidi** e i **fluorochinoloni**, entrambi raccomandati come prima linea dalle principali società scientifiche infettivologiche statunitensi.(30)

Tra i macrolidi, l'azitromicina è il farmaco di riferimento, soprattutto per il suo profilo di tollerabilità favorevole; tra i fluorochinoloni, levofloxacin e moxifloxacin rappresentano le opzioni più utilizzate.(34)(38) Un'ampia revisione sistematica con metanalisi, che ha messo a confronto le due classi su oltre 3.500 pazienti provenienti da 21 studi, non ha rilevato differenze significative in termini di mortalità tra i due tipi di trattamento (circa 6,9% con fluorochinoloni contro 7,4% con macrolidi), suggerendo che la scelta tra le due classi possa basarsi più su fattori legati al paziente (interazioni farmacologiche, comorbidità, tollerabilità) che su una superiorità intrinseca di una molecola rispetto all'altra.(39)

Ciò non toglie che, nella pratica clinica, esistano situazioni in cui una classe viene preferita all'altra: nei pazienti in terapia con farmaci substrato del citocromo CYP3A4 (ad esempio la ciclosporina nei trapiantati), i fluorochinoloni sono generalmente preferiti perché i macrolidi possono interferire con il loro metabolismo.(38)

Nei bambini, al contrario, l'azitromicina resta il farmaco di prima scelta, poiché i fluorochinoloni non sono approvati in età pediatrica per il rischio di artropatia.(38) La doxiciclina, infine, viene generalmente relegata a seconda linea, o riservata alle forme lievi in pazienti immunocompetenti, essendo meno efficace rispetto alle due classi principali.(38)(40)

Nei quadri severi che richiedono ospedalizzazione, il trattamento viene avviato per via endovenosa ed, una volta ottenuta una risposta clinica soddisfacente, (generalmente entro 3-5 giorni) è possibile il passaggio alla via orale, mantenendo la stessa molecola.(38)(40) La durata complessiva del ciclo dipende da gravità clinica, molecola scelta e stato immunitario del paziente; con azitromicina sono generalmente sufficienti 5-10 giorni, mentre con le altre molecole si tende a un ciclo più lungo, di 2-3 settimane; nei pazienti severamente immunocompromessi il trattamento può essere ulteriormente prolungato fino a circa 3 settimane.(38)(40) Un elemento su cui la letteratura concorda in modo pressoché unanime è l'importanza della tempestività: ritardare l'inizio della terapia appropriata aumenta in modo significativo il rischio di mortalità, ragion per cui nei quadri di polmonite

severa (comunitaria o nosocomiale) la copertura empirica anti-*Legionella* viene spesso inclusa a priori, prima ancora della conferma microbiologica.(10)(30)

Valutando le principali forme di manifestazione della legionella la febbre di Pontiac, essendo una forma autolimitante e priva di reale infezione polmonare invasiva, non richiede terapia antibiotica specifica; infatti il trattamento è puramente sintomatico, e la guarigione avviene spontaneamente entro pochi giorni indipendentemente dall'intervento terapeutico. Diversa è la situazione per la malattia dei legionari nelle sue forme più severe, dove può rendersi necessario un supporto intensivo (ossigenoterapia, ventilazione meccanica invasiva o non invasiva, gestione delle complicanze sistemiche quali insufficienza renale o coagulopatia) che si affianca, senza sostituirla, alla terapia antibiotica mirata.(38)(40)

Un ultimo aspetto rilevante, coerente con quanto discusso al paragrafo 1.2, è che i pazienti con malattia dei legionari non richiedono precauzioni da contatto o isolamento respiratorio, non essendo mai stata dimostrata trasmissione interumana significativa, sono quindi sufficienti le precauzioni standard.

2) EPIDEMIOLOGIA e SORVEGLIANZA

2.1 Epidemiologia della *Legionella pneumophila*

La legionellosi occupa una posizione peculiare nel panorama delle malattie infettive di origine ambientale e, a differenza della maggior parte delle infezioni respiratorie, per le quali la sorveglianza si concentra sulla catena di trasmissione interumana, l'epidemiologia della legionellosi deve necessariamente tenere conto della sua origine idrica e ambientale, integrando dati clinici, microbiologici e di monitoraggio degli impianti.(41)(42)



Figura 3. Principali edifici in cui può essere ritrovato il batterio (fonte: ECDC)

Questa specificità rende la sorveglianza epidemiologica uno strumento particolarmente complesso ma al tempo stesso imprescindibile, poiché è proprio attraverso l'analisi sistematica dei casi notificati che è possibile identificare precocemente cluster epidemici, ricostruire le fonti di esposizione e orientare le politiche di prevenzione.

Negli ultimi anni la notifica di nuovi casi è aumentata, questo sicuramente grazie ad un miglioramento delle capacità diagnostiche e di sorveglianza oltre che ad un reale aumento dell'incidenza. (42)

Un limite strutturale che accompagna l'intero impianto epidemiologico della malattia è rappresentato dalla sua natura clinicamente aspecifica: non essendo la legionellosi distinguibile da altre forme di polmonite sulla base della sola clinica o dell'imaging radiologico, ogni stima di incidenza dipende in modo diretto dall'accesso al test diagnostico corretto e dalla sensibilità del sistema di notifica, con la conseguenza che il reale carico globale della malattia è verosimilmente sottostimato in modo non uniforme tra le diverse aree geografiche.(43) Questo fenomeno di sottodiagnosi appare particolarmente marcato nei Paesi a basso e medio reddito, dove la carenza di studi epidemiologici sistematici rende difficile una stima approssimativa del fenomeno, mentre risulta più contenuto nei Paesi ad alto reddito dotati di sistemi di sorveglianza strutturati, come dimostrano gli studi di sieroprevalenza condotti nella popolazione generale, che documentano una circolazione del batterio ben più ampia di quanto indicherebbero i soli casi clinicamente manifesti e notificati.

Su queste basi, il presente capitolo analizza l'epidemiologia della legionellosi articolandola su tre scale progressive — globale, europea e italiana — per poi descrivere l'architettura del sistema di sorveglianza sanitaria, i criteri di definizione di caso attualmente in uso e le modalità di notifica e gestione dei casi.

2.1.1 A livello globale

La legionellosi rappresenta un problema di sanità pubblica riconosciuto a livello mondiale, sebbene la reale entità del fenomeno resti probabilmente sottostimata a causa dei limiti intrinseci dei sistemi diagnostici e di sorveglianza.(43) L'infezione è ubiquitaria, come dimostrato dagli studi di sieroprevalenza condotti nella popolazione generale in diverse aree geografiche.(44) Una recente revisione sistematica con metanalisi, basata su studi osservazionali relativi alla polmonite acquisita in comunità, ha stimato che *Legionella* sia responsabile mediamente del 4,6% dei casi di polmonite comunitaria a livello globale, con un tasso di incidenza medio calcolato di 2,8 casi per 100.000 abitanti; gli autori sottolineano tuttavia come i tassi più elevati siano stati osservati nei Paesi ad alto reddito e nelle regioni a clima temperato, mentre permane una carenza di dati provenienti da Paesi a basso e medio reddito, che rende difficile stimare con precisione il reale carico globale della malattia. (43)

Un'analisi più recente condotta nell'ambito del Global Burden of Disease Study, che ha ricostruito l'andamento delle patologie associate a *Legionella* nel periodo 1990-2021, ha stimato per il 2021 un tasso di anni di vita persi aggiustati per disabilità (DALYs) pari a 24,74 per 100.000 abitanti e un tasso di mortalità standardizzato per età di 0,86 per 100.000 abitanti, con i valori più elevati registrati nelle regioni caratterizzate da un basso indice socio-demografico (SDI).(45) Questo dato conferma un pattern già osservato in altri studi: il carico di malattia da *Legionella* non è distribuito in modo omogeneo a livello mondiale, ma tende a concentrarsi nelle aree con minore accesso a risorse diagnostiche e infrastrutture idriche adeguate, sebbene proprio in queste stesse aree la malattia sia verosimilmente più sottodiagnosticata.(44)

Dal punto di vista ecologico, va inoltre ricordato come la distribuzione di *Legionella* nell'ambiente idrico non sia uniforme neppure all'interno di uno stesso Paese: studi condotti in contesti sia urbani sia rurali hanno documentato differenze significative nella prevalenza e nella diversità delle specie di *Legionella* isolate dalle acque naturali e artificiali, un elemento che sottolinea come i fattori ambientali locali (qualità delle infrastrutture idriche, clima, densità abitativa) giochino un ruolo determinante nella circolazione del batterio.(46)(47) L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), già nel documento di riferimento sulla prevenzione della legionellosi, aveva identificato la contaminazione dei sistemi idrici degli edifici (in particolare negli ospedali, nelle strutture ricettive e nelle apparecchiature sanitari) come il principale fattore di rischio per la trasmissione all'uomo su scala globale. (48)

2.1.2 A livello europeo

A livello europeo la sorveglianza della legionellosi è coordinata dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) attraverso il sistema TESSy (The European Surveillance System). I dati degli ultimi anni documentano un trend in costante crescita: nel 2021 è stato registrato il tasso di notifica annuale più elevato mai osservato nell'EU/EEA fino a quel momento, pari a 2,4 casi per 100.000 abitanti, con oltre 10.700 casi notificati e 704 decessi accertati.(49) Il trend di crescita non si è arrestato negli anni successivi: nel 2022 il tasso è salito a 2,6 casi per 100.000 abitanti, per poi raggiungere 3,2 nel 2023 e 3,4 nel 2024, con un valore massimo registrato dalla Slovenia (9,6 casi per 100.000 abitanti nel 2024). (49)(50)

Un dato costante negli anni è la concentrazione dei casi in un numero ristretto di Paesi: Italia, Francia, Spagna e Germania hanno rappresentato, a seconda degli anni considerati,

tra il 71% e il 75% di tutti i casi notificati nell'intera area EU/EEA.(49)(50) La popolazione più colpita è costituita dagli uomini di età pari o superiore a 65 anni, con tassi di incidenza che nel 2021 raggiungevano 8,9 casi per 100.000 abitanti in questa fascia di età, saliti fino a 13,0 casi per 100.000 nel 2024 (34), a testimonianza di un progressivo invecchiamento della popolazione a rischio (l'età mediana dei casi è passata da 64 anni nel 2018 a 67 anni nel 2022). (50)

Un aspetto critico evidenziato dai report ECDC riguarda la qualità della conferma diagnostica: nel 2021, solo l'11% dei casi notificati è stato confermato mediante coltura, un dato che verosimilmente comporta una sottostima delle infezioni sostenute da specie o sierogruppi di *Legionella* diversi da *L. pneumophila* sierogruppo 1, non rilevabili con il solo test antigenico urinario.(49) Nello stesso anno sono stati segnalati 19 focolai epidemici confermati, per un totale di 137 casi correlati, e la sorveglianza specifica della legionellosi associata ai viaggi (Travel-Associated Legionnaires' Disease, TALD) ha registrato un incremento del 38% rispetto al 2020, verosimilmente in relazione alla ripresa dei viaggi internazionali dopo l'allentamento delle restrizioni legate alla pandemia da COVID-19. (49)

Figure 1. Legionnaires' disease cases per 100 000 population by country, EU/EEA, 2024

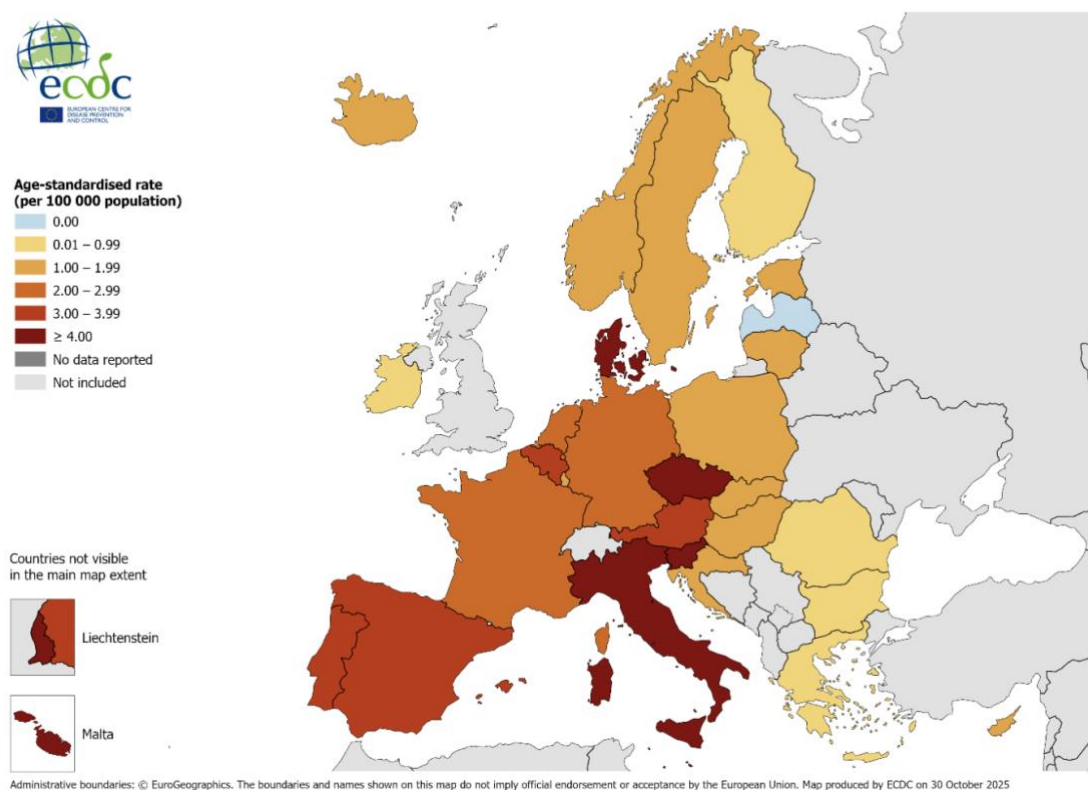


Figura 4. Casi di malattia dei legionari per 100 000 abitanti per paese, UE/SEE, 2024 (fonte: ECDC)

2.1.3 A livello italiano

In Italia, il sistema di sorveglianza nazionale della legionellosi, attivo dal 1983 e coordinato dal Dipartimento di Malattie Infettive dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), rappresenta una delle fonti di dati epidemiologici più solide e continuative a livello europeo.(41)(42)(43)

Secondo l'ultimo report disponibile relativo all'anno 2024, sono state inviate all'ISS 4.627 schede di sorveglianza, con un'incidenza complessiva pari a 78,5 casi per milione di abitanti con quindi un netto incremento rispetto gli anni precedenti, pari al 18% rispetto al 2023.(41)(42)(43)

Un elemento epidemiologico costante nel tempo è il marcato gradiente Nord-Sud: nel 2024 l'incidenza è stata pari a 110,6 casi per milione al Nord, contro 17,5 per milione al Sud, un divario che riflette verosimilmente sia differenze nella capacità diagnostica e nella sensibilità del sistema di notifica regionale, sia caratteristiche climatiche e infrastrutturali locali. Sei Regioni (Lombardia, Veneto, Emilia-Romagna, Toscana, Lazio e Piemonte) hanno notificato da sole quasi l'80% dei casi totali.(43)

Il profilo demografico dei pazienti si conferma sostanzialmente stabile: età media di 69,9 anni, il 75,4% dei casi con almeno 60 anni e netta prevalenza del sesso maschile (65,3% dei casi, rapporto maschi/femmine di 1,9:1).(42)(43)

Il 17,4% dei pazienti riportava un'esposizione a rischio nei 10 giorni precedenti l'esordio dei sintomi, mentre l'82,6% dei casi è stato classificato come di origine comunitaria, cioè privo di un'esposizione nota identificabile.(42)(43) Quasi il 75% dei pazienti presentava almeno una comorbidità, prevalentemente cronico-degenerativa. La letalità complessiva è stata del 13,6%.(43)

Nel 2024 sono stati notificati 158 casi nosocomiali (3,4% del totale), in aumento rispetto all'anno precedente, di cui il 90,5% con origine nosocomiale confermata mediante indagine ambientale.(43) Un evento di particolare rilievo epidemiologico, riportato per la prima volta in questo bollettino, riguarda un focolaio di infezione da *L. pneumophila* sierogruppo 1 attivo dall'aprile 2024 nei comuni di Corsico e Buccinasco (provincia di Milano), che ha coinvolto complessivamente 96 persone fino al dicembre 2025: le indagini ambientali e la tipizzazione genomica dei ceppi isolati dagli impianti idrici domestici hanno fatto sospettare un'origine dall'acquedotto municipale, con conseguente riduzione dei casi dopo l'intervento di clorazione dell'acqua.(43) Il bollettino segnala inoltre due ulteriori cluster legati alla contaminazione di impianti condominiali, sottolineando come questi edifici (pur

non rientrando tra le strutture "prioritarie" disciplinate dal D.Lgs. 18/2023) possano comunque costituire una fonte di infezione, con conseguente raccomandazione di verifiche periodiche anche in questo contesto.(42)(43)

Per quanto riguarda la sorveglianza di laboratorio, il test antigenico urinario resta il metodo diagnostico predominante (96% dei casi), sebbene il report raccomandi esplicitamente l'uso sistematico della Real Time PCR sulle secrezioni respiratorie (in grado di aumentare la capacità diagnostica del 18-30%) al punto che l'ISS ne annuncia la prossima inclusione tra i criteri di conferma diagnostica nella revisione della definizione di caso europea.(43)(51)

2.2 Sorveglianza sanitaria

La sorveglianza della legionellosi opera su più livelli territoriali tra loro integrati (locale, nazionale, europeo) ciascuno con un ruolo distinto ma complementare nell'individuazione precoce dei casi e nella prevenzione della diffusione epidemica.

A livello europeo, il sistema di riferimento è **TESSy** (The European Surveillance System), gestito dall'ECDC, che raccoglie i dati provenienti dai 27 Stati membri più Islanda, Liechtenstein e Norvegia attraverso due canali distinti: la raccolta retrospettiva annuale dei casi notificati dai singoli Paesi, e un sistema di segnalazione "quasi in tempo reale" dedicato specificamente ai casi di legionellosi associata ai viaggi, attraverso la rete **ELDSNet** (European Legionnaires' Disease Surveillance Network).(51) Quest'ultimo meccanismo risponde a un'esigenza epidemiologica specifica: i casi di legionellosi contratti durante un soggiorno turistico tendono a disperdersi geograficamente al rientro dei viaggiatori nei rispettivi Paesi di residenza, rendendo altrimenti impossibile, per la sola sorveglianza nazionale, riconoscere che più casi apparentemente indipendenti condividono in realtà la stessa fonte di esposizione. (50)(51)

A livello italiano, il sistema nazionale di sorveglianza (attivo dal 1983 e coordinato dal Dipartimento di Malattie Infettive dell'Istituto Superiore di Sanità) raccoglie in modo sistematico le informazioni cliniche, eziologiche ed espositive relative a ogni caso diagnosticato sul territorio, integrandole con i dati di sorveglianza microbiologica prodotti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle (LNR) dello stesso Dipartimento. (42)(43)(51) Quest'ultimo svolge una funzione che va ben oltre la semplice conferma diagnostica: riceve ceppi clinici e ambientali dai laboratori regionali, ne effettua la tipizzazione fenotipica (tramite anticorpi monoclonali) e genomica (tramite Sequence-

Based Typing, attuale gold standard per la caratterizzazione dei ceppi di *L. pneumophila*), e ne consente il confronto diretto. Proprio questo confronto tra ceppo clinico e ceppo ambientale rappresenta lo strumento più solido per stabilire, in caso di sospetto focolaio, se un'infezione abbia realmente origine da una specifica fonte idrica (impianto ospedaliero, torre di raffreddamento, rete idrica condominiale) oppure ne sia semplicemente coincidente nel tempo. Solo nel 2024 il LNR ha ricevuto e tipizzato oltre 500 ceppi di origine ambientale e più di 70 campioni clinici, un volume di attività che testimonia il ruolo via via crescente della sorveglianza molecolare nell'individuazione dei cluster. (51)

Un elemento di sorveglianza dinamica particolarmente rilevante, evidenziato nel bollettino ISS più recente, riguarda la capacità del sistema di rilevare focolai anche in assenza di una fonte comune apparente: l'indagine su un ampio cluster verificatosi in provincia di Milano a partire dall'aprile 2024, che ha coinvolto fino a oggi (dati aggiornati a dicembre 2025) 96 persone residenti in due comuni limitrofi, ha richiesto il ricorso alla tipizzazione genomica dei ceppi isolati sia da campioni clinici sia da campioni ambientali prelevati presso le abitazioni dei casi, permettendo di ipotizzare (pur senza individuare una fonte puntuale) una possibile origine comune dalla rete idrica municipale, successivamente supportata dalla riduzione dei casi osservata dopo l'intervento di clorazione dell'acqua.(51) Questo episodio dimostra come la sorveglianza integrata (epidemiologica, clinica e microbiologica) sia oggi in grado di orientare interventi di sanità pubblica anche in scenari epidemiologicamente complessi, in cui l'indagine ambientale tradizionale non individua da sola una fonte univoca. (52)

2.3 Definizione di caso

Poiché la legionellosi non presenta segni clinici o radiologici patognomonicici in grado di distinguerla da altre forme di polmonite, ogni definizione di caso ai fini della sorveglianza deve necessariamente fondarsi sull'integrazione tra criterio clinico e conferma di laboratorio.

A livello dell'Unione Europea, la definizione attualmente in vigore è stabilita dalla **Decisione di Esecuzione della Commissione Europea (UE) 2018/945** del 22 giugno 2018, che disciplina in modo armonizzato le definizioni di caso per tutte le malattie soggette a sorveglianza epidemiologica nella rete europea.(55)

Per la malattia dei legionari, il testo ufficiale della decisione stabilisce quanto segue (55):

- **Criterio clinico:** qualsiasi persona con polmonite.
- **Criteri di laboratorio per la conferma del caso** (almeno uno dei seguenti tre):
isolamento colturale di *Legionella* spp. da secrezioni respiratorie o da altro sito normalmente sterile; rilevazione dell'antigene di *L. pneumophila* nelle urine; incremento significativo del titolo anticorpale specifico verso *L. pneumophila* sierogruppo 1 in campioni di siero appaiati (fase acuta e convalescente).
- **Criteri di laboratorio per un caso probabile** (almeno uno dei seguenti quattro):
rilevazione dell'antigene di *L. pneumophila* in secrezioni respiratorie o tessuto polmonare (ad esempio mediante colorazione DFA con reagenti derivati da anticorpi monoclonali); rilevazione di acido nucleico di *Legionella* spp. in secrezioni respiratorie, tessuto polmonare o altro sito normalmente sterile; incremento significativo del titolo anticorpale verso *L. pneumophila* di sierogruppo diverso dal 1, o verso altre specie di *Legionella*; singolo titolo anticorpale elevato verso *L. pneumophila* sierogruppo 1.

Sulla base di questi criteri, un **caso confermato** è definito come qualsiasi persona che soddisfi contemporaneamente il criterio clinico e almeno un criterio di laboratorio per la conferma; un **caso probabile** è invece definito come qualsiasi persona che soddisfi il criterio clinico e almeno un criterio di laboratorio per un caso probabile.(55)
È interessante osservare che, a differenza di molte altre malattie soggette alla medesima decisione (ad esempio la brucellosi o la febbre tifoide), per la legionellosi la definizione europea non prevede un criterio epidemiologico autonomo (contatto con altro caso, esposizione a fonte comune) come via alternativa alla classificazione di caso probabile: la classificazione dipende sempre da un dato di laboratorio, sia pure con forza diagnostica variabile.(53)(54)

Un approccio concettualmente simile, ma con una terminologia più articolata, è quello adottato negli Stati Uniti dal **Council of State and Territorial Epidemiologists (CSTE)**, che ha aggiornato la definizione nazionale di caso nel 2020, distinguendo tra casi "confermati", "sospetti" (basati sul tipo di test di laboratorio e sulla presentazione clinica) e "probabili" (basati sul nesso epidemiologico e sulla presentazione clinica in assenza di conferma di laboratorio).(53)(54) Questa impostazione statunitense introduce inoltre categorie specifiche legate al contesto di esposizione (in particolare i casi "presuntivi" e "possibili" di origine nosocomiale) utili a classificare più finemente il ruolo dell'ambito

sanitario nella genesi dell'infezione (aspetto centrale per la trattazione che seguirà nel capitolo 3). (53)(54)

Anche il sistema italiano, coordinato dall'ISS, adotta la definizione di caso europea del 2018/945 come riferimento primario per la sorveglianza nazionale, integrandola (nello specifico dei casi nosocomiali probabili o confermati) con criteri aggiuntivi mutuati dalle linee guida nazionali per la prevenzione e il controllo della legionellosi. (43)

2.4 Notifica e gestione dei casi

In Italia la legionellosi è soggetta a **obbligo di notifica** sia a livello nazionale sia europeo. Il medico che formula la diagnosi è tenuto a compilare l'apposita scheda di sorveglianza e a trasmetterla, entro **48 ore** dalla diagnosi, sia all'Azienda Sanitaria Locale di competenza territoriale sia direttamente al Dipartimento di Malattie Infettive dell'ISS, che coordina il sistema di sorveglianza nazionale. (41) Questo doppio canale (locale e centrale) consente contemporaneamente la gestione sanitaria immediata del singolo caso sul territorio (attivazione delle eventuali indagini ambientali) e l'analisi epidemiologica aggregata a livello nazionale. (43)

Un nodo critico, che il sistema italiano affronta esplicitamente, è la **sottonotifica**: pur trattandosi di una malattia a notifica obbligatoria, l'ISS stesso riconosce come, in alcune Regioni, non si possa ancora escludere una quota di casi non segnalati al sistema centrale, un limite che verosimilmente concorre (insieme ai fattori di sensibilità diagnostica discussi al paragrafo 1.5) a una sottostima del reale carico epidemiologico della malattia in Italia.(43)(51)

Quando un caso viene identificato come potenzialmente associato al soggiorno in una struttura ricettiva (albergo, campeggio, nave da crociera), la notifica attiva automaticamente anche il circuito internazionale ELDSNet: il centro di coordinamento dell'ECDC verifica l'eventuale esistenza di altri casi collegati alla medesima struttura e, in caso affermativo, avvia la procedura di allerta verso i referenti del Paese in cui è avvenuta l'esposizione.(51) Se viene identificato un cluster (definito, secondo le linee guida operative ELDSNet, come due o più casi collegati alla stessa struttura ricettiva entro un periodo di due anni), le procedure europee prevedono l'invio all'ECDC di due relazioni formali a distanza di due e sei settimane dalla notifica, documentanti le misure di controllo ambientale intraprese dalla struttura. In assenza di tali relazioni, o qualora le misure risultino insoddisfacenti, l'ECDC pubblica il nome della struttura inadempiente sul proprio

sito web, quale strumento di trasparenza e deterrenza nei confronti degli operatori del settore ricettivo. (50)(51)

Un ultimo aspetto rilevante, particolarmente significativo per il capitolo successivo, riguarda la **gestione differenziata dei casi nosocomiali**: la tempestività della segnalazione interna alla struttura sanitaria, unita all'attivazione immediata dell'indagine ambientale sull'impianto idrico, risulta cruciale proprio in ragione della letalità nettamente più elevata osservata nei casi di origine nosocomiale rispetto a quelli comunitari. (50)(51) Tale specificità gestionale sarà approfondita nel dettaglio al capitolo 3, dedicato alla valutazione del rischio in ambito ospedaliero.

3) VALUTAZIONE DELLA LEGIONELLOSI IN AMBITO NOSOCOMIALE E DELLE INFEZIONI CORRELATE ALL'ASSISTENZA

3.1 Analisi del rischio in ambito nosocomiale e nelle strutture sanitarie

L'ambiente ospedaliero rappresenta, per ragioni sia strutturali sia legate alla popolazione che lo frequenta, un contesto a rischio di per sé più elevato rispetto alla maggior parte degli altri edifici per la proliferazione e la trasmissione di *Legionella*. Da un lato, gli impianti idrici delle strutture sanitarie sono tipicamente reti complesse ed estese, spesso datate nel tempo, caratterizzate da tratti di tubazione poco utilizzati, punti di ristagno e distanze considerevoli tra il punto di produzione dell'acqua calda e i punti di erogazione finale (condizioni che, come discusso al paragrafo 1.2, favoriscono la colonizzazione batterica e la formazione di biofilm). (17)(18)

Dall'altro lato, la popolazione ospedaliera concentra proprio i soggetti a maggior rischio di sviluppare la forma clinica grave della malattia: pazienti anziani, immunodepressi (per patologia oncologica, terapia corticosteroidica, trapianto d'organo), portatori di patologie respiratorie croniche o sottoposti a procedure invasive delle vie aeree.

Questa combinazione di fattori spiega il dato più rilevante emerso dall'ultima sorveglianza nazionale italiana: la letalità dei casi di legionellosi di origine nosocomiale è risultata pari al 15,1% nel 2023, contro l'11,2% dei casi comunitari, con un ulteriore peggioramento rispetto agli anni precedenti. (51) Un divario di questa entità non è casuale, ma riflette proprio la maggiore vulnerabilità clinica dell'ospite unita alla persistenza del rischio ambientale nella struttura.

A livello internazionale, l'approccio oggi prevalente per la gestione del rischio *Legionella* nelle strutture sanitarie non è la sola ricerca puntuale del batterio nell'acqua, ma l'adozione di un **Water Management Program** (WMP) (un programma sistematico di gestione del rischio idrico che precede e organizza qualunque attività di campionamento o disinfezione). Negli Stati Uniti, il CDC raccomanda esplicitamente alle strutture sanitarie di sviluppare e implementare un WMP completo, sottolineando che un programma ben strutturato produce benefici che vanno oltre il solo controllo di *Legionella*, estendendosi ad altri patogeni opportunisti delle reti idriche degli edifici.(55)

Il nucleo concettuale di un WMP, indipendentemente dal contesto normativo nazionale, prevede alcuni passaggi sequenziali imprescindibili (54)(55):

- 1- la costituzione di un gruppo di lavoro multidisciplinare (che nelle strutture sanitarie deve necessariamente includere la direzione sanitaria, il servizio di prevenzione e controllo delle infezioni e l'ufficio tecnico/impianti) e l'adeguata formazione del personale sanitario.
- 2- la mappatura completa di tutti i sistemi idrici dell'edificio, inclusi quelli non evidenti a un'ispezione superficiale (torri di raffreddamento, umidificatori, apparecchiature per emodialisi, riuniti odontoiatrici, fontane decorative);
- 3- l'identificazione dei punti critici di controllo sulla base di temperatura, ristagno e potenziale di aerosolizzazione assieme ad un monitoraggio microbiologico mediante campionamenti regolari di tali punti critici;
- 4- la definizione di soglie di intervento e di un piano di monitoraggio con frequenza commisurata al livello di rischio associata all'utilizzo di sostanze il cui trattamento risulti duraturo nel tempo ad esempio mediante diossido di cloro, ionizzazione rame-argento e monoclorammina;
- 5- la documentazione sistematica di ogni attività di verifica e delle eventuali azioni correttive intraprese;
- 6- l'implementazione stessa del Piano di Sicurezza dell'Acqua (PSA) ovvero, un'analisi puntuale di tutti i possibili rischi che esistono lungo l'intero sistema idrico mediante strategie di gestione e prevenzione volte al fine di assicurare la sicurezza della qualità dell'acqua destinata al consumo umano

In Italia, il tema della valutazione del rischio nelle strutture sanitarie ha ricevuto un impulso normativo decisivo con il già citato **Decreto Legislativo 23 febbraio 2023, n. 18**: per la prima volta, il monitoraggio di *Legionella* nell'acqua destinata al consumo umano è divenuto obbligatorio negli edifici classificati come "prioritari", categoria che include esplicitamente gli ospedali. (43) A supporto dell'attuazione pratica del decreto, l'Istituto Superiore di Sanità ha pubblicato specifici rapporti tecnici ISTISAN dedicati alla valutazione e gestione del rischio nei sistemi di distribuzione idrica interni degli edifici prioritari e non prioritari, e all'implementazione del sopracitato Piano di Sicurezza dell'Acqua (PSA). (43)

Tutto questo al fine di ridurre al minimo il rischio per la salute derivante da contaminazioni microbiologiche, chimiche o fisiche degli impianti idrici.

È importante segnalare, che la piena applicazione dei Piani di Sicurezza dell'Acqua negli ospedali italiani è attesa solo entro il **2029**, termine ultimo fissato dal decreto per l'attuazione completa della normativa. (43) Questo significa che, al momento della stesura del presente lavoro, il quadro di riferimento italiano si trova in una fase di transizione tra il precedente impianto normativo (le Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi del 2015, tuttora vigenti e in fase di aggiornamento) e il nuovo assetto basato sui PSA. (43)

Oltre ai fattori strutturali già menzionati, la valutazione del rischio in ambito ospedaliero deve tenere conto di alcune condizioni peculiari a questo contesto:

- **Reparti ad alta suscettibilità:** unità di terapia intensiva, reparti oncoematologici, centri trapianti e reparti di neonatologia concentrano pazienti con compromissione immunitaria severa, per i quali anche una contaminazione ambientale di basso livello può tradursi in un rischio clinico significativo, giustificando protocolli di sorveglianza ambientale più stringenti rispetto alle aree di degenza ordinaria.
- **Dispositivi medici a rischio specifico:** apparecchiature per terapia respiratoria, umidificatori, nebulizzatori e sistemi di raffreddamento per apparecchiature diagnostiche rappresentano vie di esposizione dirette e spesso meno immediatamente visibili rispetto alla rete idro-sanitaria principale.
- **Interruzioni e riattivazioni dell'impianto:** lavori di ristrutturazione, interruzioni programmate o accidentali dell'erogazione idrica, e la successiva riattivazione di tratti di impianto rimasti inutilizzati per periodi prolungati, rappresentano momenti di rischio particolarmente elevato, poiché il ristagno prolungato favorisce la proliferazione batterica; per questo motivo le linee guida internazionali raccomandano campionamenti mirati immediatamente dopo qualunque intervento di questo tipo. (57)
- **Fragilità delle reti idriche degli edifici ospedalieri più datati:** come emerge dalla letteratura ambientale italiana su strutture di lunga data, gli impianti idrici "storici" pongono sfide aggiuntive di gestione del rischio rispetto agli edifici di nuova costruzione, richiedendo strategie di controllo spesso più aggressive. (58)

3.2 Infezioni correlate all'assistenza

Le infezioni correlate all'assistenza (ICA) che vengono definite come infezioni che il paziente non aveva, né era in incubazione al momento del ricovero, e che si manifestano durante la degenza o in un periodo successivo ad essa compatibile con l'esposizione ospedaliera, rappresentano una delle principali criticità di sanità pubblica nei sistemi sanitari moderni, con importanti ricadute in termini di prolungamento della degenza, aumento dei costi assistenziali e utilizzo inappropriato di antimicrobici, quest'ultimo strettamente connesso allo sviluppo di resistenze batteriche. (55)(59)

In Italia, la sorveglianza delle ICA è coordinata a livello nazionale attraverso la partecipazione al **Point Prevalence Survey (PPS)** promosso ogni cinque anni dall'ECDC secondo un protocollo armonizzato a livello europeo. Su scala nazionale, applicando una metodologia aggiornata di stima del carico di malattia alle rilevazioni ECDC del 2022, è stato calcolato un tasso complessivo di circa 685 casi di ICA per 100.000 abitanti l'anno, con oltre 33 decessi attribuibili per 100.000 abitanti (60) (numeri che collocano le ICA tra le condizioni a maggiore impatto sanitario complessivo nel nostro Paese, sebbene la legionellosi nosocomiale ne rappresenti solo una quota minoritaria ma particolarmente severa).

A differenza della gran parte delle infezioni correlate all'assistenza (tipicamente sostenute da trasmissione crociata tra pazienti, contaminazione di dispositivi invasivi o flora endogena del paziente stesso) la *legionellosi* nosocomiale segue, come discusso al capitolo 1, un meccanismo di trasmissione diverso: la fonte non è mai un altro paziente o un operatore sanitario, ma l'ambiente idrico della struttura stessa. Questo la colloca in una categoria concettualmente distinta rispetto, ad esempio, alle infezioni da *Clostridioides difficile* o alle batteriemie da catetere venoso centrale, pur essendo classificata a tutti gli effetti come infezione correlata all'assistenza.

La definizione operativa di caso nosocomiale, già richiamata al paragrafo 2.3, distingue un caso "presuntivo" di legionellosi correlata all'assistenza, definito come caso di legionellosi laboratoristicamente confermata in un paziente con almeno 10 giorni di degenza continuativa in una struttura sanitaria nei 14 giorni precedenti l'esordio dei sintomi, da un caso "possibile", in cui il paziente ha trascorso solo una parte di quei 14 giorni in una o più strutture sanitarie senza soddisfare il criterio di degenza continuativa richiesto per il caso presuntivo.(61) Questa distinzione, sebbene sviluppata in ambito statunitense, riflette un principio di più ampia applicazione: la difficoltà di attribuire con certezza l'origine

dell'infezione quando il periodo di incubazione (2-10 giorni, come descritto al paragrafo 1.4) si sovrappone solo parzialmente al periodo di ricovero, un problema metodologico che complica sistematicamente la reale stima del peso della legionellosi nosocomiale rispetto alle altre ICA.(61)

La popolazione ricoverata, inoltre, concentra proprio i fattori di rischio individuale per le forme più severe di malattia dei legionari: età avanzata, immunosoppressione, patologie respiratorie croniche, necessità di procedure invasive sulle vie aeree.(11)(12) A ciò si aggiunge un elemento diagnostico rilevante: nel paziente ospedalizzato, soprattutto se già trattato con antibiotici ad ampio spettro per altre indicazioni, la polmonite da *Legionella* può presentarsi con un quadro clinico atipico, complicando ulteriormente il riconoscimento tempestivo rispetto alla forma comunitaria. (62) Questo aspetto rafforza l'indicazione, già discussa al paragrafo 1.5, a mantenere un elevato indice di sospetto per *Legionella* in ogni caso di polmonite ad esordio nosocomiale che non risponda alla terapia empirica standard, specialmente nei reparti ad alta concentrazione di pazienti immunocompromessi (oncoematologia, terapia intensiva, centri trapianto).(38)(40)

Il fatto che la fonte dell'infezione nosocomiale da *Legionella* sia sempre riconducibile all'impianto idrico della struttura ha una conseguenza pratica di grande rilievo, che distingue nettamente questa ICA dalle altre: mentre per molte infezioni correlate all'assistenza la prevenzione passa principalmente da misure comportamentali (igiene delle mani, gestione dei dispositivi invasivi, appropriatezza della terapia antibiotica), per la legionellosi la prevenzione richiede necessariamente un intervento sulla componente strutturale e impiantistica dell'edificio stesso. È questo il motivo per cui, come anticipato al paragrafo 3.1, la gestione del rischio *Legionella* in ambito ospedaliero si organizza attorno a un programma di gestione idrica dedicato, distinto dai protocolli generali di controllo delle infezioni, e per cui (nei casi nosocomiali confermati) l'indagine ambientale sull'impianto e il confronto tra ceppo clinico e ceppo ambientale (discusso al paragrafo 2.2) costituiscono un passaggio praticamente obbligato, e non solo opzionale, dell'indagine epidemiologica. Le strategie concrete attraverso cui questo controllo ambientale viene tradotto in pratica saranno oggetto del paragrafo 3.3.

3.3 Strategie e misure di controllo e prevenzione

Il controllo di *Legionella* negli impianti idrici ospedalieri non si esaurisce nell'applicazione di un singolo intervento disinfettante, ma richiede un approccio sistemico e continuativo, in cui la disinfezione rappresenta solo l'ultimo anello di una catena che comprende progettazione impiantistica, controllo della temperatura, monitoraggio periodico e verifica dell'efficacia nel tempo.(20)(21)(64)

Una revisione sistematica di riferimento, che ha valutato l'evidenza disponibile su ciascun metodo di disinfezione secondo un criterio graduato (dall'efficacia dimostrata in laboratorio fino alla conferma su più strutture ospedaliere nel lungo periodo) sottolinea come nessun metodo possa considerarsi validato senza superare tutti questi livelli di evidenza, e come l'efficacia di qualunque intervento debba essere sempre verificata con campionamenti post-trattamento e non semplicemente presunta. (32)(64)

A livello ospedaliero la lotta contro la legionellosi si basa sui punti già citati nella parte 3.1 in merito al WMP, riprendendoli brevemente :

- 1- formazione di un gruppo di lavoro multidisciplinare ed una adeguata formazione del personale sanitario di struttura;
- 2- mappatura completa del sistema idrico e delle possibili fonti di infezione oltre all'identificazione dei punti critici di controllo;
- 3- monitoraggio costante, mediante piani di sorveglianza microbiologica ed ambientale oltre ad interventi rapidi attraverso piani di programmazione di gestione del rischio;
- 4- programmi di disinfezione efficaci e duraturi nel tempo.

Quindi il contenimento della legionellosi in ambito ospedaliero non può fondarsi su un'unica misura correttiva, ma richiede l'azione coordinata di più livelli di intervento: un programma strutturato di gestione del rischio, un sistema di monitoraggio capace di generare risposte immediate, l'impiego di metodiche disinfettanti realmente sostenibili nel tempo, la correzione delle criticità impiantistiche e la formazione continuativa del personale sanitario e tecnico coinvolto nella gestione dell'acqua.(64)

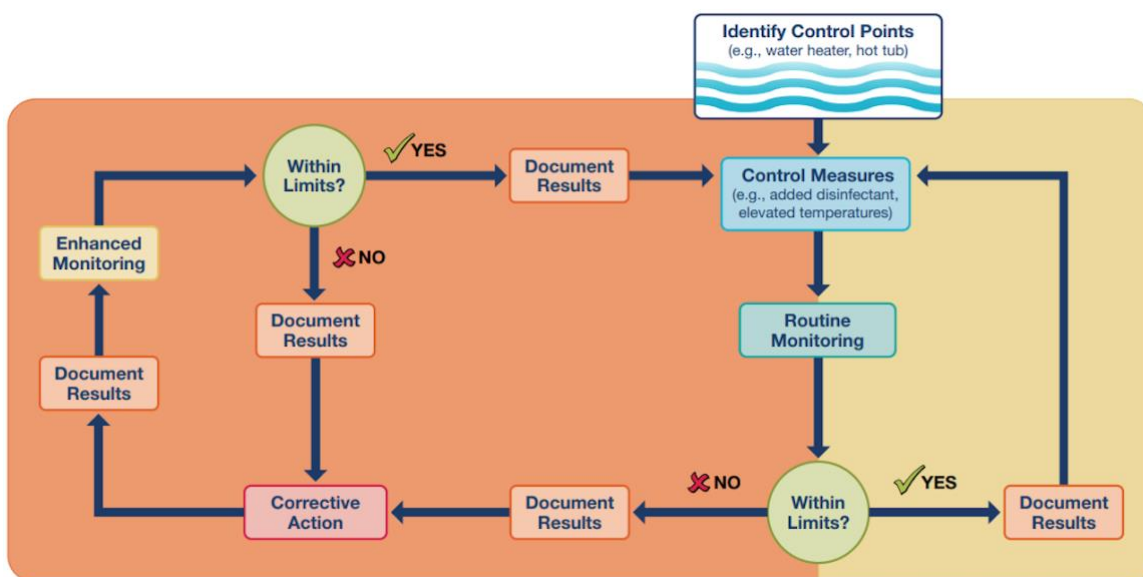


Figura 5. Schema per misure di controllo e azioni correttive (fonte: CDC)

Il presupposto organizzativo di questo approccio è il **Water Safety Plan (WSP)**, o programma di gestione del rischio idrico, la cui impostazione metodologica discende dai principi elaborati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità. Un WSP efficace richiede la costituzione di un gruppo di lavoro multidisciplinare incaricato di sorvegliare in modo sistematico l'intero ciclo dell'acqua ospedaliera, dalla produzione fino ai punti di erogazione finale.(32)(65) Tra le misure preventive di base più comunemente richieste rientrano la sostituzione periodica di soffioni e rubinetteria, il flussaggio regolare dei tratti di rete meno utilizzati, il mantenimento di temperature adeguate lungo l'intero circuito, la disinfezione mirata in presenza di criticità accertate e l'installazione di filtri terminali nei punti a maggior rischio. (65)

Monitoraggio ambientale e soglie di azione

Il cardine operativo del sistema italiano di controllo è rappresentato dal monitoraggio microbiologico periodico dell'acqua calda e fredda, con una frequenza campionaria che varia in funzione del livello di rischio proprio di ciascun reparto. I risultati di questi campionamenti, che vengono espressi come concentrazione di *Legionella* in UFC/L e come percentuale di punti di erogazione positivi, determinano in modo diretto il tipo di intervento da adottare, secondo una gradazione stabilita dalle Linee guida ministeriali del 2015 (63)(64):

- **Al di sotto di 100 UFC/L**, non è richiesto alcun intervento immediato.
- **Tra 101 e 1.000 UFC/L**, in assenza di casi clinici l'impianto va ricampionato dai punti già risultati positivi, verificando la corretta applicazione delle pratiche di controllo in essere; se la positività viene confermata, si procede a disinfezione e a una revisione della valutazione del rischio. In presenza anche di un solo caso clinico correlabile, la disinfezione e la revisione del rischio vanno invece attivate immediatamente, indipendentemente dal numero di campioni positivi.
- **Tra 1.001 e 10.000 UFC/L**, la soglia critica è rappresentata dalla quota di campioni positivi: al di sotto del 20% si procede a ricampionamento e revisione del rischio, mentre al di sopra si rende necessaria la disinfezione dell'impianto. In questa fascia, indipendentemente dal risultato, sono comunque raccomandate una sorveglianza clinica rafforzata sui pazienti a rischio e la sospensione dell'uso dell'acqua dell'impianto per docce o manovre che generino aerosol. La presenza anche di un solo caso clinico impone la disinfezione immediata.
- **Oltre 10.000 UFC/L**, la disinfezione dell'impianto, con sostituzione dei terminali risultati positivi, e la revisione della valutazione del rischio sono sempre richieste, indipendentemente dalla presenza o assenza di casi, seguite da un nuovo campionamento post-intervento. (63)(64)

Questo schema a soglie crescenti riflette un principio di proporzionalità della risposta: l'intensità dell'intervento cresce con il livello di contaminazione rilevata, ma un singolo caso clinico accertato annulla qualunque margine di attesa, imponendo l'azione immediata a prescindere dal dato ambientale.

Misure a breve termine: manutenzione ordinaria

Prima ancora della disinfezione vera e propria, la letteratura sottolinea come i trattamenti massivi risultino insufficienti in assenza di un'adeguata manutenzione strutturale di base. Questa comprende operazioni relativamente semplici ma sistematiche: la decalcificazione degli elementi meno soggetti a usura (tramite immersione in soluzione acida) seguita da disinfezione in acqua fredda clorata; e la sostituzione periodica dei componenti terminali quali ad esempio filtri dei rubinetti, soffioni, tubi flessibili delle docce, con una frequenza che dipende dalla durezza dell'acqua di rete, poiché una maggiore concentrazione di calcare accelera il deterioramento di questi elementi.(63)(64)

Trattamenti chimici a lungo termine

Monoclorammina. È generalmente considerata l'opzione più stabile per il trattamento continuativo delle reti idriche ospedaliere, grazie alla sua capacità di penetrare in profondità nel biofilm e di mantenere un'azione residua prolungata lungo l'intero circuito; risulta inoltre attiva non solo su *Legionella* ma anche su altri patogeni opportunisti come *Pseudomonas*. (67)(68) Il suo limite principale è rappresentato dalla necessità di monitorare costantemente i sottoprodotti di degradazione (nitriti e nitrati) e di disporre di un sistema di produzione controllata in loco. Un'esperienza italiana decennale ha documentato come l'impiego continuativo di monoclorammina, inserito all'interno di un più ampio Water Safety Plan, sia riuscito a mantenere la contaminazione ambientale sotto l'1% per un intero decennio, senza che si verificasse alcun caso di legionellosi nosocomiale nello stesso periodo.(65)(68) Un secondo studio, condotto su un anno di osservazione, ha confermato una riduzione della positività da *L. pneumophila* dal 97% al 13,3%, a fronte di risultati nettamente meno favorevoli (56-60% di positività residua) ottenuti con dispositivi a biossido di cloro nello stesso contesto.(67)(68)

Biossido di cloro. Agisce come potente ossidante anche in presenza di biofilm consolidato ed è efficace su un ampio spettro microbico, con il vantaggio di non generare trihalometani, a differenza del cloro tradizionale. Risulta però instabile e va prodotto direttamente in loco con impianti dedicati, con il rischio, se non adeguatamente controllato, di provocare fenomeni corrosivi e di generare sottoprodotti quali cloriti e clorati.(69) L'evidenza raccolta in strutture sanitarie italiane ne conferma l'efficacia se abbinato a filtrazione e sistemi di controllo remoto, e un ulteriore studio ha mostrato come il suo impiego continuativo, dopo un episodio di positività, sia in grado di eliminare completamente il patogeno riducendo drasticamente il biofilm presente.(63) Nel confronto diretto tra le diverse opzioni disponibili, il biossido di cloro si colloca comunque generalmente al secondo posto per efficacia, dietro alla monoclorammina. (66)

Ionizzazione rame-argento. Agisce tramite rilascio controllato di ioni metallici, con un'azione a lungo termine efficace anche su biofilm già consolidati, senza alterare temperatura o caratteristiche organolettiche dell'acqua (caratteristica che la rende particolarmente indicata per impianti complessi e datati). (70) La sua efficacia è però condizionata da pH e durezza dell'acqua, ha un'azione lenta (fino a 30 giorni) e richiede un controllo continuativo delle concentrazioni ioniche. È riconosciuta da OMS, EPA e CDC come una delle strategie più efficaci contro *Legionella*, in alcuni contesti persino superiore alla sola termodisinfezione (64), e uno studio comparativo condotto tra il 2000 e il 2018 ne

ha documentato risultati superiori sia rispetto allo shock termico sia rispetto all'iperclorazione. (70)(71)

Clorazione e iperclorazione. Il vantaggio principale della clorazione risiede nella sua ampia disponibilità, nella facilità di implementazione e nella consolidata esperienza d'uso; la sua efficacia è documentata da una riduzione della positività ambientale dal 30% all'1,5% dei punti di erogazione, con azzeramento dei casi clinici correlati nel periodo di osservazione.(71)

Resta tuttavia una tecnica ad efficacia limitata nel tempo, sostanzialmente inefficace sui biofilm già formati, e gravata dalla produzione di sottoprodotti potenzialmente tossici (trialometani, clorammine); per questo il suo impiego a lungo termine non è raccomandato, restando riservata prevalentemente alla gestione delle emergenze tramite shock clorazione.(64)

Si distinguono in proposito due modalità operative: l'**iperclorazione shock**, che prevede una singola immissione di disinfettante fino a raggiungere concentrazioni di cloro libero residuo di 20-50 mg/L in tutta la rete, previa disattivazione del riscaldamento del boiler e raffreddamento dell'impianto sotto i 30°C; e l'**iperclorazione continua**, che mantiene un residuo di cloro compreso tra 1 e 3 mg/L lungo l'intero circuito. Entrambe le varianti condividono un limite comune di forte azione corrosiva sui materiali dell'impianto, e l'iperclorazione continua, non essendo compatibile con gli standard di potabilità in vigore, richiede la sospensione dell'uso potabile dell'acqua per l'intera durata del trattamento. (72)

Ozonizzazione. Agisce come battericida efficace, danneggiando in modo irreversibile il materiale genetico del microrganismo, ma la sua brevissima emivita ne impedisce qualunque effetto residuo, rendendola inadatta come strategia sistemica; presenta inoltre un'azione limitata sul biofilm e, ad alte dosi, può risultare dannosa per le condutture. (64)

Disinfezione termica

Si articola in due modalità principali, entrambe gravate da un elevato consumo energetico. Lo **shock termico** consiste nell'innalzare la temperatura dell'acqua a 70-80°C per tre giorni consecutivi, garantendo il deflusso da ogni punto di erogazione per almeno 30 minuti al giorno e verificando che la temperatura raggiunga almeno 60°C anche nei punti più distali dell'impianto, condizione la cui mancata verifica può vanificare l'intero trattamento, rendendo necessaria la ripetizione dell'intero ciclo. La **disinfezione termica continua**, applicabile solo a impianti dotati di doppio sistema di regolazione (un termostato a 60°C per l'accumulo e un miscelatore per la distribuzione a 48-53°C), mantiene invece

stabilmente la temperatura di stoccaggio a un livello incompatibile con la proliferazione batterica, pur non impedendo la colonizzazione delle reti di distribuzione e ricircolo. (64) Entrambe le tecniche condividono lo svantaggio di un effetto temporaneo, con ricolonizzazione possibile nel giro di settimane o mesi qualora la temperatura scenda sotto i 50°C, oltre al rischio di ustioni per pazienti e operatori durante il trattamento. Su queste basi, le raccomandazioni internazionali convergono su due indicazioni operative: il mantenimento della temperatura dell'acqua calda sopra i 60°C, con un ritorno di ricircolo non inferiore a 51°C, e il ricorso allo shock termico a 71-79°C, seguito da flussaggio, come misura correttiva in caso di contaminazione accertata. (64)(73)

Misure complementari

La **filtrazione terminale**, tipicamente con filtri da 0,2 µm, offre una protezione immediata nei punti di erogazione a più alto rischio (terapia intensiva, oncologia), agendo come barriera fisica diretta contro *Legionella* e altri patogeni; resta però una soluzione costosa se estesa su larga scala, e va considerata una misura ponte più che una strategia definitiva.(64) I **raggi ultravioletti** (254 nm) inattivano il batterio danneggiandone il DNA, senza lasciare residui chimici né alterare le caratteristiche dell'acqua, ma, non possedendo alcun effetto residuo, risultano insufficienti come unica misura su un intero edificio, dato che *Legionella* può comunque persistere nei tratti stagnanti e nel biofilm non direttamente esposto al trattamento; il loro impiego è quindi razionale solo come intervento puntuale (ad esempio in ingresso rete) o in combinazione con altri sistemi. (64)(74)

Sintesi delle strategie e principio di combinazione

Le evidenze disponibili convergono nell'indicare monoclorammina, ionizzazione rame-argento e biossido di cloro (quest'ultimo a condizione di un impianto dedicato e di una manutenzione rigorosa) come le opzioni più solide per un controllo duraturo, mentre nessun singolo trattamento può considerarsi risolutivo in modo definitivo: la scelta dipende dalle caratteristiche specifiche dell'impianto, dal livello di contaminazione riscontrato e dal grado di vulnerabilità della popolazione assistita, e l'approccio combinato (ad esempio disinfezione chimica affiancata da filtrazione puntuale, entrambe inserite in un Water Safety Plan strutturato) si è dimostrato ripetutamente la strategia più efficace nel tempo. (64)(71)

Prevenzione legata a specifiche procedure assistenziali

Oltre al controllo generale dell'impianto, le linee guida individuano procedure cliniche specifiche che richiedono precauzioni dedicate, non limitate alle sole manovre sulle vie respiratorie ma estese anche al parto in acqua e alle pratiche odontoiatriche. (64)(75)

Per le **procedure sulle vie respiratorie**, è richiesta la sterilizzazione a vapore o una disinfezione di alto livello per i dispositivi semicritici non danneggiabili da calore e umidità, mentre per quelli termosensibili si ricorre a metodiche di sterilizzazione a bassa temperatura, sempre seguite da risciacquo, asciugatura e confezionamento accurati per evitare ricontaminazioni.(38) Nebulizzatori e apparecchiature per l'assistenza respiratoria vanno risciacquati con acqua sterile (in mancanza, con acqua filtrata a 0,2 µm seguita da alcool isopropilico e asciugatura forzata), mentre i serbatoi per umidificazione e nebulizzazione vanno riempiti esclusivamente con acqua sterile; gli umidificatori ambientali ad ampio volume in grado di generare aerosol (a ultrasuoni, tipo venturi o a disco rotante) vanno evitati salvo possibilità di disinfezione quotidiana di alto livello e riempimento con sola acqua sterile.

Per il **parto in acqua**, le vasche dedicate devono essere alimentate da un circuito privo di *Legionella*, e vanno pulite e disinfettate accuratamente dopo ogni utilizzo (tipicamente con prodotti a base di cloro); se sono trascorse più di 72 ore dall'ultimo trattamento disinfettante, è opportuno un intervento di pulizia aggiuntivo anche prima del parto. (75)

Per i **pazienti severamente immunocompromessi**, va considerato che dosi anche molto contenute di *Legionella* possono essere sufficienti a causare infezione, rendendo a rischio anche pratiche assistenziali apparentemente banali come l'igiene orale, la doccia, l'assunzione di acqua o ghiaccio di rete e la pulizia ambientale. (64) Nello specifico dei pazienti sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche, qualora venga rilevata *Legionella* nell'acqua potabile dell'unità di trapianto, le misure raccomandate fino alla negativizzazione dei controlli ambientali comprendono la sospensione della doccia nei pazienti in fase di grave immunocompromissione, l'utilizzo di acqua certamente non contaminata (filtrata o sterile) per la spugnatura, la fornitura di acqua sterile per l'igiene orale, l'idratazione e il lavaggio dei sondini nasogastrici, e l'esclusione totale dell'uso di rubinetti che erogano acqua potenzialmente contaminata. (75)

3.4 Monitoraggio ambientale ed epidemiologico

Il controllo della legionellosi in ambito ospedaliero si fonda su due filoni di sorveglianza distinti ma strettamente interdipendenti: da un lato il **monitoraggio ambientale**, cioè la ricerca sistematica e periodica del batterio nell'impianto idrico, indipendentemente dalla comparsa di casi clinici; dall'altro il **monitoraggio epidemiologico**, cioè l'osservazione continuativa dell'andamento dei casi diagnosticati nella struttura, con l'obiettivo di individuare precocemente eventuali cluster. Solo l'integrazione tra questi due sistemi di monitoraggio consente di stabilire un nesso causale credibile tra un'infezione clinica e una specifica fonte ambientale, come già anticipato al paragrafo 2.2.

Il monitoraggio ambientale: strategie di campionamento

L'esperienza italiana in materia di sorveglianza ambientale ospedaliera è particolarmente consolidata, come dimostrano diversi studi pluriennali condotti in strutture universitarie e regionali del Paese. Un'indagine condotta su un ospedale universitario italiano nell'arco di quindici anni ha permesso di documentare come un programma di campionamento sistematico, esteso a tutti i punti critici della rete (soffioni, rubinetti, serbatoi di accumulo), sia in grado di individuare precocemente le fasi di ricolonizzazione dell'impianto, permettendo interventi correttivi prima che si traducano in casi clinici. (58) Analogamente, uno studio condotto su scala regionale in Campania su un periodo di cinque anni ha mostrato come la frequenza e la distribuzione geografica dei punti di campionamento influenzino in modo diretto la capacità del sistema di intercettare precocemente le contaminazioni, con differenze significative tra strutture dotate di protocolli di monitoraggio più o meno strutturati. (76) Un ulteriore studio condotto su sette anni di osservazione in un diverso ospedale universitario ha confermato risultati concordanti, sottolineando come la continuità nel tempo del programma di monitoraggio rappresenti il fattore realmente determinante per il controllo duraturo del rischio. (77)

Su scala più ampia, un'indagine trasversale condotta su un campione di ospedali italiani ha valutato il grado di conformità delle strutture sanitarie nazionali agli obblighi introdotti dal D.Lgs. 18/2023 e dalla direttiva UE 2020/2184 in materia di Piani di Sicurezza dell'Acqua, evidenziando una situazione ancora disomogenea sul territorio nazionale, con differenze marcate nel livello di implementazione dei piani tra le diverse Regioni e tipologie di struttura. (78) Questo dato conferma quanto già osservato al paragrafo 3.1 circa la fase di transizione normativa tuttora in corso nel nostro Paese.

Il monitoraggio epidemiologico e la tipizzazione molecolare

Se il monitoraggio ambientale risponde alla domanda "il batterio è presente nell'impianto?", il monitoraggio epidemiologico e microbiologico risponde a una domanda diversa e più stringente: "il caso clinico osservato deriva realmente da quella specifica fonte?". La risposta a questo secondo interrogativo richiede il ricorso alla **tipizzazione molecolare** dei ceppi, oggi riconosciuta come strumento imprescindibile per qualunque indagine di focolaio credibile.

Lo standard internazionale attualmente riconosciuto per la tipizzazione epidemiologica di *L. pneumophila* è la **Sequence-Based Typing (SBT)**, sviluppata e mantenuta dall'European Study Group for Legionella Infections (ESGLI) dove la metodica si basa sul sequenziamento parziale di sette geni (cinque di virulenza — *flaA*, *pilE*, *mip*, *mompS*, *proA* — e due geni housekeeping — *asd*, *neuA*), il cui profilo allelico combinato definisce un sequence type (ST) univoco, confrontabile con un database internazionale condiviso tra i laboratori di riferimento europei. (79)(80) Questa metodica, riconosciuta come gold standard per la sua rapidità, riproducibilità ed elevato potere discriminante, ha sostanzialmente soppiantato le tecniche precedenti (elettroforesi su gel a campo pulsato, analisi AFLP), pur restando in alcuni contesti affiancata dalla sottotipizzazione con anticorpi monoclonali come primo livello di screening.(80)(81) Più recentemente, l'introduzione di approcci basati sul sequenziamento dell'intero genoma (whole-genome sequencing) sta offrendo un potere discriminante ancora superiore rispetto alla sola SBT, sebbene quest'ultima resti a oggi il riferimento più diffuso nella pratica di routine per la sua maggiore accessibilità e standardizzazione. (81)

L'applicazione pratica di questa tipizzazione nell'indagine di un focolaio nosocomiale segue generalmente un percorso a due tappe: un primo confronto tramite sottotipizzazione con anticorpi monoclonali sui ceppi isolati (clinici e ambientali), seguito (nei casi in cui i ceppi risultino indistinguibili a questo primo livello) dalla genotipizzazione SBT di conferma. (79) Solo la piena corrispondenza del profilo genetico tra il ceppo isolato dal paziente e quello isolato da un punto specifico dell'impianto idrico consente di affermare, con ragionevole certezza scientifica, che quella particolare fonte ambientale sia realmente all'origine dell'infezione, un livello di prova che il solo dato epidemiologico "temporale" (paziente ricoverato, positività ambientale nello stesso periodo) non è in grado di fornire da solo.

L'integrazione dei due livelli nella pratica italiana

Questo doppio binario di sorveglianza trova applicazione concreta nel sistema italiano attraverso il ruolo già descritto al paragrafo 2.2 del Laboratorio Nazionale di Riferimento per le legionelle dell'ISS, che riceve e tipizza sia ceppi clinici sia ceppi ambientali provenienti dalle strutture sanitarie del territorio, rendendo disponibile alle Regioni lo strumento diagnostico necessario per confermare o escludere un'origine nosocomiale in caso di sospetto cluster. È proprio questa capacità di integrazione, tra dato ambientale di routine, sorveglianza clinica dei casi e conferma molecolare della fonte, a costituire, più di qualunque singola misura di controllo descritta al paragrafo 3.3, il vero elemento di solidità del sistema di prevenzione della legionellosi nosocomiale, e rappresenta il presupposto metodologico su cui si basa la valutazione specifica che sarà condotta al paragrafo 3.5 per l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova.

4) Studio sperimentale

4.1 Obiettivi dello studio

La legionellosi è una problematica di rilievo per la sanità pubblica e assume un'importanza particolare in ambito ospedaliero. Qui la complessità degli impianti idrico-sanitari e la presenza di pazienti con condizioni predisponenti possono aumentare in modo significativo il rischio di esposizione al microrganismo. Pur non essendo la forma più frequente di polmonite correlata all'assistenza sanitaria, l'infezione da *Legionella* spp. può causare quadri clinici gravi, con esiti talvolta fatali, soprattutto nei soggetti anziani, immunocompromessi, affetti da patologie croniche o ricoverati in reparti ad alta intensità di cura.

Nelle strutture sanitarie il rischio di legionellosi non dipende solo dalla presenza del batterio nella rete idrica. Deriva piuttosto dall'interazione di più fattori: le caratteristiche strutturali e l'età degli edifici, l'estensione e la complessità degli impianti, la formazione di biofilm, i ristagni d'acqua nei tratti poco utilizzati, le temperature di esercizio, la frequenza d'uso dei terminali, le procedure assistenziali che possono generare aerosol e il grado di vulnerabilità dei pazienti esposti. La gestione del rischio si basa quindi sul monitoraggio ambientale, attraverso campionamenti idrici in diversi punti della rete ospedaliera con frequenza commisurata alla classe di rischio delle aree, e sulla sorveglianza dei casi clinici.

L'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova è un contesto particolarmente significativo per questo tipo di analisi. È una struttura ospedaliera di grandi dimensioni, organizzata in numerosi padiglioni ed edifici di diversa epoca costruttiva, che ospitano aree di degenza medica e chirurgica, blocchi operatori, terapie intensive, reparti onco-ematologici, servizi diagnostici e ambulatoriali. La presenza di pazienti ad alto rischio, come i soggetti sottoposti a trapianto, a chemioterapia o a ventilazione assistita, richiede una sorveglianza ambientale continua e differenziata secondo il profilo di rischio delle singole aree.

Il periodo considerato ha inoltre una rilevanza specifica. Gli anni 2020–2021 sono stati segnati dall'emergenza pandemica da SARS-CoV-2, che ha comportato riorganizzazioni dei reparti, chiusure temporanee o riconversioni di aree assistenziali e variazioni nell'utilizzo degli impianti idrici. Sono tutte condizioni potenzialmente favorevoli alla stagnazione dell'acqua e alla proliferazione di *Legionella*. Un'analisi che copra la fase

pandemica e gli anni successivi permette quindi di osservare l'evoluzione della contaminazione in contesti operativi profondamente diversi.

Il presente studio si propone di descrivere l'andamento della sorveglianza della legionellosi presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova. A tal fine analizza i dati di sorveglianza ambientale raccolti tra gennaio 2017 e giugno 2026 e i dati clinico-epidemiologici relativi ai casi notificati tra gennaio 2020 e giugno 2026.

Gli **obiettivi specifici dello studio** sono i seguenti:

- Descrivere i risultati dei campionamenti idrici effettuati nella rete ospedaliera, in termini di frequenza delle positività, concentrazioni rilevate (UFC/L) rispetto alle soglie di intervento previste dalle Linee guida nazionali e sierogruppi di *Legionella pneumophila* identificati.
- Analizzare l'andamento temporale della contaminazione nel corso degli anni e la sua distribuzione tra gli edifici appartenenti alle diverse classi di rischio.
- Descrivere i casi di legionellosi notificati nello stesso periodo, con attenzione alla distribuzione temporale e stagionale, alle principali caratteristiche clinico-demografiche, all'esito del ricovero e all'origine dell'infezione (comunitaria oppure nosocomiale o non definibile con certezza).
- Confrontare l'andamento della contaminazione ambientale con quello dei casi clinici, per individuare eventuali corrispondenze temporali e fornire elementi utili alla valutazione del rischio di legionellosi all'interno della struttura e delle misure di controllo adottate.

La lettura congiunta di queste informazioni permette di interpretare i risultati della sorveglianza microbiologica nel più ampio contesto strutturale e assistenziale del Policlinico. Fornisce così una base conoscitiva utile a orientare le strategie di prevenzione e a ottimizzare la gestione del rischio di legionellosi in ambito ospedaliero.

4.2 Materiali e metodi

4.2.1 Disegno dello studio e setting

È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo basato sui dati di sorveglianza ambientale e clinico-epidemiologica raccolti presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova, azienda ospedaliero-universitaria di elevata complessità assistenziale con circa 1.200 posti letto distribuiti in 22 edifici e padiglioni, ciascuno servito da reti idriche in parte autonome. La struttura, il cui primo nucleo risale al 1911, ospita aree cliniche, chirurgiche, diagnostiche, ambulatoriali e amministrative fortemente eterogenee per tipologia di attività e profilo di rischio dei pazienti assistiti, tra cui reparti oncoematologici, terapie intensive, un centro trapianti e un dipartimento di emergenza-urgenza.

4.2.2 Classificazione del rischio degli edifici e misure di prevenzione

In coerenza con le linee guida nazionali per la prevenzione e il controllo della legionellosi, gli edifici del Policlinico sono classificati in quattro classi di rischio in base alla tipologia di pazienti assistiti e alle procedure sanitarie svolte: rischio molto alto (centri trapianto, oncologie, ematologie, terapie intensive, malattie infettive; obiettivo di assenza di colonizzazione, 0 UFC/L), rischio alto (reparti medici e chirurgici generali; soglia 100 UFC/L), rischio intermedio (attività prevalentemente ambulatoriali o di day hospital) e rischio basso (aree amministrative, tecniche o di supporto, prive di attività clinica). Dal 2017 è attivo un Water Safety Plan aziendale, gestito dall'Unità Operativa di Igiene, che prevede campionamenti ambientali programmati con frequenza semestrale nelle aree a rischio molto alto e annuale nelle restanti aree, l'installazione di filtri assoluti nei reparti a maggiore vulnerabilità, il trattamento dell'acqua con biossido di cloro in una selezione di edifici e l'esecuzione di interventi straordinari (iperclorazione, shock termico) in caso di superamento delle soglie di riferimento.

4.2.3 Campionamento ambientale e analisi microbiologica

I campionamenti idrici sono stati eseguiti dal personale dell'U.O. Igiene secondo le indicazioni delle norme ISO 11731:1998 e ISO 11731-2:2004 per la ricerca e la quantificazione di *Legionella* spp.

Per ciascun punto di prelievo è stato raccolto un campione di acqua calda in flaconi sterili contenenti tiosolfato di sodio, sottoposto a filtrazione su membrana, trattamento termico selettivo e semina su terreni culturali selettivi (BCYE con e senza antibiotici); l'identificazione degli isolati sospetti è stata confermata mediante agglutinazione su lattice e la sierotipizzazione è stata eseguita con antisieri specifici. I risultati sono stati espressi in unità formanti colonia per litro (UFC/L).

4.2.4 Sorveglianza clinico-epidemiologica

Sono stati inclusi tutti i casi di legionellosi notificati presso il Policlinico, classificati come di origine comunitaria, nosocomiale o di origine non definibile con certezza in base ai criteri correnti (esordio dei sintomi entro le 48 ore dal ricovero per i casi comunitari; esordio oltre le 48 ore, in assenza di altra fonte identificabile, per i casi nosocomiali). Per ciascun caso sono state raccolte le informazioni anagrafiche disponibili (sesso, età al ricovero), il reparto e la data di ricovero, la data e la stagione del prelievo risultato positivo, la durata della degenza e l'eventuale decesso durante il ricovero, senza che questo comporti di per sé un'attribuzione causale diretta alla legionellosi.

4.2.5 Analisi statistica

I dati sono stati analizzati con il software R. Le variabili categoriche sono state descritte come frequenze assolute e percentuali, le variabili continue come media, deviazione standard, mediana e range. Il trend temporale della positività ambientale annuale è stato valutato con il test di Cochran-Armitage, applicato al periodo 2017-2025. È stato considerato statisticamente significativo un valore di $p < 0,05$ per tutti i test. Data la natura retrospettiva e descrittiva dello studio, i dati relativi al 2026 (disponibili fino a giugno) sono stati riportati a scopo descrittivo ma esclusi dai test di trend, che richiedono anni di osservazione completi.

4.3 Risultati

4.3.1 Sorveglianza ambientale, 2017-2026

Nel periodo compreso tra gennaio 2017 e dicembre 2025 sono stati eseguiti complessivamente 1.436 campionamenti idrici presso le diverse strutture del Policlinico, di cui 311 risultati positivi alla ricerca di *Legionella* spp. (21,7%). La positività ha mostrato un andamento fortemente variabile: dal 31,9% del 2017 e dal 43,3% del 2018 (i due anni immediatamente successivi all'introduzione del Water Safety Plan aziendale, quando la mappatura dei punti critici della rete era ancora in fase di completamento),poi si è osservata una riduzione marcata nel triennio 2019-2021 (10,2-19,4%) e un ulteriore calo nel biennio 2022-2023 (6,3-6,8%), seguiti da un nuovo incremento nel 2024 (13,2%) e nel 2025 (15,3%) (Tabella 1, Figura 1). Nei primi sei mesi del 2026 sono stati eseguiti 131 campionamenti, con 25 positività (19,1%).

Tabella 1. Campionamenti idrici e positività per *Legionella* spp., IRCCS Policlinico San Martino, 2017-2026.

Anno	Campionamenti	Positivi	% positività
2017	282	90	31,9%
2018	247	107	43,3%
2019	186	19	10,2%
2020	153	29	19,0%
2021	67	13	19,4%
2022	128	8	6,3%
2023	117	8	6,8%
2024	106	14	13,2%
2025	150	23	15,3%
Totale 2017-2025	1.436	311	21,7%
2026 (gen-giu)*	131	25	19,1%

Il test di Cochran-Armitage per il trend, applicato al periodo 2017-2025, ha confermato una riduzione statisticamente significativa della positività ambientale nel tempo ($z=-8,18$; $p<0,0001$).

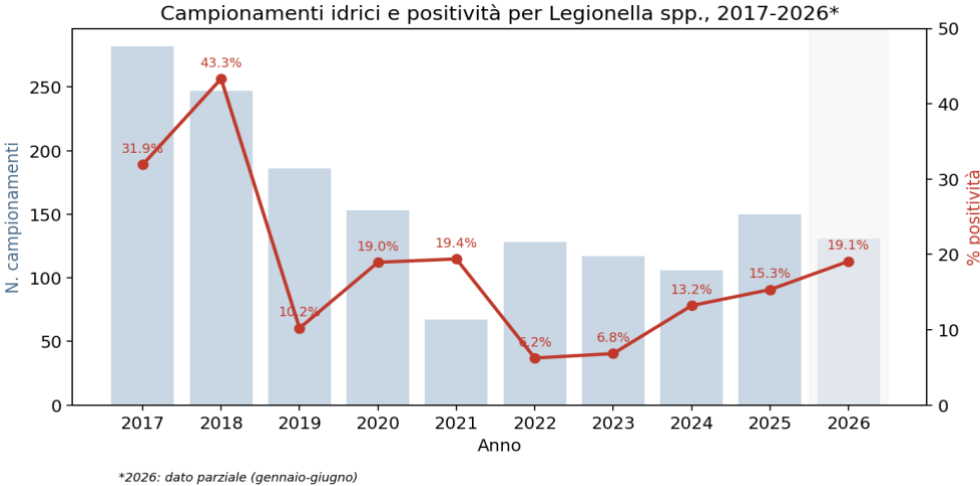


Figura 6. Numero annuale di campionamenti e percentuale di positività per *Legionella* spp., 2017-2026.

4.3.2 Distribuzione e andamento temporale dei sierogruppi

Tra i 311 campioni positivi rilevati nel periodo 2017-2025, il sierogruppo largamente prevalente è risultato *Legionella pneumophila* sierogruppo 3, identificato in 247 isolati (79,4%), seguito dal sierogruppo 1 (47 isolati, 15,1%), da isolati non tipizzati a livello di sierogruppo (12, 3,9%) e dal sierogruppo 6 (5, 1,6%) (Tabella 2).

Tabella 2. Distribuzione dei sierogruppi identificati nei campioni ambientali positivi, 2017-2025 (n=311).

Sierogruppo	N. isolati	%
Sierogruppo 3	247	79,4%
Sierogruppo 1	47	15,1%
Non tipizzato / altro	12	3,9%
Sierogruppo 6	5	1,6%
Totale	311	100%

In Figura 2 l'andamento annuale invece della composizione sierologica tra i campioni positivi.

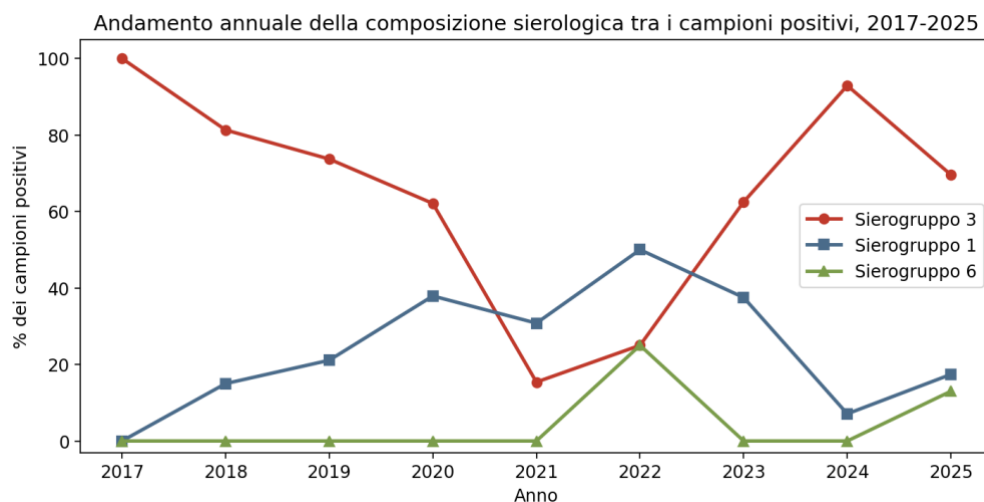


Figura 7. Andamento annuale della quota relativa dei sierogruppi 1, 3 e 6 tra i campioni ambientali positivi, 2017-2025.

Per quanto riguarda la carica microbica, la concentrazione mediana dei campioni positivi 2017-2025 è risultata pari a 2.200 UFC/L (range interquartile 600-5.400 UFC/L). Complessivamente 111 campioni (35,7%) rientravano nella classe 1-1.000 UFC/L, 194 (62,4%) nella classe 1.001-10.000 UFC/L e 6 (1,9%) presentavano concentrazioni superiori a 10.000 UFC/L. La quota di campioni con concentrazioni superiori a 1.000 UFC/L, elevata nel biennio 2017-2018 (rispettivamente 24,5% e 34,4% dei campionamenti totali), si è ridotta in modo marcato dal 2019, per poi mostrare un nuovo, contenuto incremento nel 2024-2025.

4.3.3 Distribuzione per classe di rischio degli edifici

Nel periodo 2017-2025 le 311 positività ambientali si sono distribuite in modo disomogeneo tra le classi di rischio degli edifici: 165 nelle strutture a rischio molto alto (su 878 campionamenti, 18,8%), 95 nelle strutture a rischio alto (su 247 campionamenti, 38,5%), 30 nelle strutture a rischio intermedio (su 187 campionamenti, 16,0%) e 21 nelle strutture a basso rischio (su 124 campionamenti, 16,9%) (Tabella 3, Figura 3). Il test del chi-quadro ha confermato un'associazione statisticamente significativa tra classe di rischio e positività ambientale ($\chi^2=50,5$; $df=3$; $p<0,0001$).

Tabella 3. Positività ambientale per classe di rischio dell'edificio, 2017-2025.

Classe di rischio	Positivi	Campionamenti	% positività
Molto alto (rosso)	165	878	18,8%
Alto (giallo)	95	247	38,5%
Intermedio (verde)	30	187	16,0%
Basso (blu)	21	124	16,9%
Totale	311	1.436	21,7%

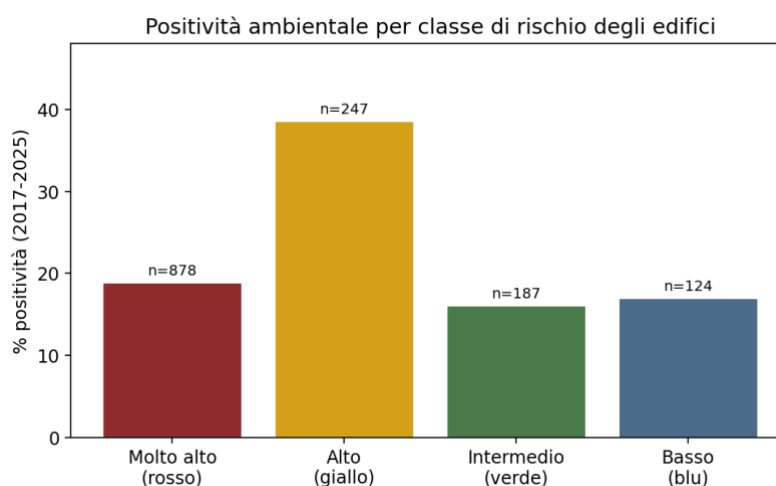


Figura 8. Percentuale di positività ambientale per classe di rischio degli edifici, 2017-2025.

Contrariamente a quanto atteso in base al solo gradiente di vulnerabilità clinica, la percentuale di positività più elevata non è stata osservata negli edifici a rischio molto alto - sottoposti a monitoraggio semestrale, filtrazione puntuale e soglia di intervento più stringente (0 UFC/L) - bensì in quelli classificati a rischio alto, con soglia di intervento meno restrittiva (100 UFC/L) e campionamento annuale.

4.3.4 Casi clinici di legionellosi, 2020-2026

Nel periodo compreso tra gennaio 2020 e dicembre 2025 sono stati notificati presso il Policlinico 165 casi di legionellosi, di cui 153 (92,7%) di origine comunitaria e 12 (7,3%) nosocomiali o di origine non definibile con certezza. Il numero di casi ha mostrato un incremento marcato a partire dal 2023, passando da valori compresi tra 8 e 20 casi/anno

nel periodo 2020-2023 a 72 casi nel 2024 e 39 nel 2025 (Tabella 4, Figura 4); nei primi sei mesi del 2026 sono stati notificati ulteriori 18 casi (16 comunitari, 2 nosocomiali).

Tabella 4. Casi di legionellosi notificati, per anno e origine, IRCCS Policlinico San Martino, 2020-2026.

Anno	Comunitari	Nosocomiali/dubbi	Totale
2020	12	0	12
2021	14	0	14
2022	7	1	8
2023	20	0	20
2024	66	6	72
2025	34	5	39
Totale 2020-2025	153	12	165
2026 (gen-giu)*	16	2	18

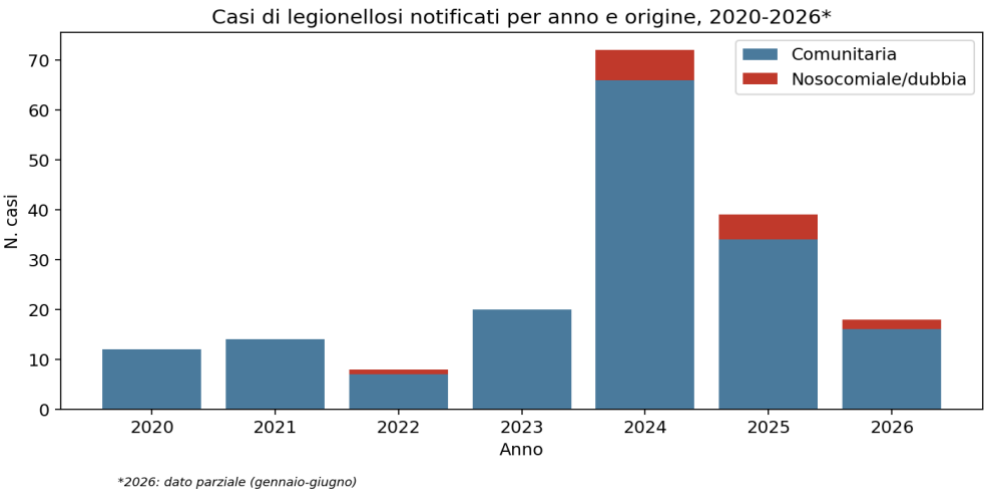


Figura 9. Casi di legionellosi notificati per anno e origine epidemiologica, 2020-2026.

4.3.5 Caratteristiche clinico-demografiche e mortalità

Nel periodo 2020-2025 i 165 casi notificati riguardavano 101 soggetti di sesso maschile e 64 di sesso femminile, senza differenze significative nella distribuzione per sesso tra i diversi anni ($\chi^2=3,1$; $p=0,68$). L'età mediana complessiva è risultata pari a 77 anni ed è aumentata nel corso del periodo, da una mediana di circa 64 anni nel 2020-2022 a circa 78-79 anni nel 2024-2025. La durata mediana della degenza oscilla tra 7,5 e 16 giorni a seconda dell'anno.

Sono stati registrati complessivamente 28 decessi durante il ricovero su 164 casi con esito noto (17,1%), con percentuali annuali variabili dallo 0% del 2022 al 25,0% del 2020 e al 23,1% del 2025.

La distribuzione stagionale dei casi clinici 2020-2025 ($n=183$, dato di stagione disponibile) ha mostrato una concentrazione nel semestre primavera-estate (57 casi in primavera, 31,1%; 55 in estate, 30,1%), rispetto a 46 casi in inverno (25,1%) e 25 in autunno (13,7%).

5) Discussione

Il presente studio ha descritto oltre nove anni di sorveglianza ambientale (gennaio 2017 – giugno 2026) e oltre sei anni di sorveglianza clinico-epidemiologica (gennaio 2020 – giugno 2026) della legionellosi presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova. I risultati principali si possono ricondurre a quattro elementi:

- una riduzione statisticamente significativa della positività ambientale nel periodo 2017-2025, interrotta da una ripresa nel biennio 2024-2025 e nel primo semestre 2026;
- la netta prevalenza di *L. pneumophila* sierogruppo 3 tra gli isolati ambientali;
- una positività più elevata negli edifici a rischio alto rispetto a quelli a rischio molto alto;
- un marcato aumento dei casi clinici notificati a partire dal 2024, con una quota contenuta ma non trascurabile di casi nosocomiali o di origine non definibile.

5.1 Andamento della contaminazione ambientale

La positività elevata del biennio 2017-2018 (31,9% e 43,3%) va letta alla luce dell'avvio del Water Safety Plan aziendale. Nelle prime fasi il campionamento ha verosimilmente svolto anche una funzione esplorativa di mappatura della rete, concentrandosi sui punti critici e aumentando così la probabilità di rilevare il batterio. La successiva riduzione, fino ai valori minimi del 2022-2023 (6,3-6,8%), suggerisce che la continuità nel tempo di un programma strutturato di campionamento e di interventi correttivi rappresenti un fattore determinante per un controllo duraturo della contaminazione. Il dato del biennio 2020-2021 va interpretato con cautela. La pandemia da SARS-CoV-2 ha ridotto in modo marcato il numero di campionamenti (67 nel 2021, contro i 282 del 2017). Nello stesso periodo si sono verificate riconversioni di reparti e fasi di ridotto utilizzo degli impianti, condizioni che favoriscono il ristagno dell'acqua e la proliferazione batterica.

La ripresa della positività nel 2024 (13,2%), nel 2025 (15,3%) e nel primo semestre 2026 (19,1%) è l'elemento di maggiore interesse per la gestione del rischio. Il disegno dello studio non consente di identificarne le cause, ma alcune ipotesi meritano approfondimento:

- l'età e la complessità di una rete idrica distribuita su numerosi padiglioni di diversa epoca costruttiva;

- eventuali lavori di ristrutturazione e la riattivazione di tratti di impianto rimasti a lungo inutilizzati, momenti notoriamente a rischio elevato;
- possibili variazioni nella strategia di campionamento.

Il dato 2026 riguarda solo i primi sei mesi, non è confrontabile con gli anni completi e andrà verificato sull'intero anno.

5.2 Sierogruppi ed indicazioni diagnostiche

La netta prevalenza del sierogruppo 3 (79,4%) rispetto al sierogruppo 1 (15,1%) ha una rilevanza pratica che va oltre il dato ambientale. Il test antigenico urinario, ancora oggi il metodo diagnostico più utilizzato, rileva in modo affidabile solo le infezioni da *L. pneumophila* sierogruppo 1. Un'infezione nosocomiale sostenuta dal sierogruppo 3 circolante nella rete idrica potrebbe quindi sfuggire alla diagnosi, se non si ricorre a metodiche eseguite sulle secrezioni respiratorie come la coltura o la PCR. Questo rafforza l'indicazione a un utilizzo più sistematico della PCR sulle secrezioni respiratorie, particolarmente rilevante per i pazienti ricoverati che sviluppano una polmonite durante la degenza.

5.3 Cariche microbiche

Quasi due terzi dei campioni positivi (62,4%) presentavano concentrazioni comprese tra 1.001 e 10.000 UFC/L. Per questa fascia le Linee guida nazionali prevedono interventi correttivi graduati in base alla percentuale di punti positivi e alla presenza di casi. Nelle aree a rischio molto alto, dove l'obiettivo è l'assenza di colonizzazione, qualsiasi positività richiede invece un intervento. I 6 campioni con concentrazioni superiori a 10.000 UFC/L (1,9%) rientrano nella soglia per cui la disinfezione dell'impianto e la revisione della valutazione del rischio sono sempre obbligatorie.

5.4 Distribuzione per classe di rischio.

La positività è risultata più elevata negli edifici a rischio alto (38,5%) che in quelli a rischio molto alto (18,8%), in apparente contrasto con il gradiente di vulnerabilità clinica. Il risultato è verosimilmente spiegato dalle misure preventive più intense adottate nelle aree a rischio molto alto: campionamento semestrale, filtri assoluti nei reparti più vulnerabili e

una soglia di intervento pari a 0 UFC/L, che comporta azioni correttive tempestive a ogni positività. Anche la maggiore frequenza di campionamento, che verosimilmente comprende controlli successivi agli interventi, può contribuire a ridurre la percentuale complessiva di positività. Gli edifici a rischio alto ospitano però reparti medici e chirurgici generali con un'elevata quota di pazienti anziani e pluripatologici (l'età mediana dei casi osservati è di 77 anni): il dato suggerisce di valutare un rafforzamento delle misure anche in queste aree, sia nella frequenza dei campionamenti sia nel ricorso a filtri e trattamenti.

5.5 Casi clinici

Dei 165 casi notificati nel periodo 2020-2025, il 92,7% era di origine comunitaria. Il dato riflette il ruolo del Policlinico come centro di riferimento per la diagnosi dei casi del territorio, più che la trasmissione all'interno della struttura. L'aumento del 2024 (72 casi) si inserisce in un più generale trend di crescita delle notifiche osservato negli ultimi anni in Italia e in Europa. L'entità dell'incremento osservato nella struttura, più che triplicato rispetto al 2023, appare però particolarmente marcata e meriterebbe un approfondimento sui possibili fattori locali, diagnostici o epidemiologici.

L'età mediana dei casi (77 anni) conferma che la malattia colpisce prevalentemente la popolazione anziana. La letalità intraospedaliera (17,1%) risulta elevata. Va però ricordato che il decesso durante il ricovero non è necessariamente attribuibile alla legionellosi e che la casistica ospedaliera tende a selezionare le forme più gravi.

I 12 casi nosocomiali o di origine non definibile rappresentano il 7,3% del totale, una quota da interpretare con cautela perché la categoria comprende anche i casi di origine incerta. Undici di questi dodici casi si sono verificati nel biennio 2024-2025, in coincidenza con la ripresa della positività ambientale. Si tratta di una corrispondenza temporale da segnalare, che tuttavia da sola non permette di stabilire un nesso causale. La conferma di un'origine nosocomiale richiede il confronto molecolare, mediante Sequence-Based Typing, tra il ceppo isolato dal paziente e quello isolato dall'impianto.

7) Conclusioni

La sorveglianza ambientale condotta presso l'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino tra il 2017 e il 2026 documenta una riduzione significativa della contaminazione da *Legionella* della rete idrica dopo l'introduzione del Water Safety Plan aziendale, confermando il valore di un programma strutturato e continuativo di gestione del rischio idrico.

La ripresa della positività osservata dal 2024 mostra però che i risultati ottenuti non sono definitivi: in una struttura complessa, con edifici di diversa epoca costruttiva, il controllo di *Legionella* richiede un impegno costante nel tempo.

Dallo studio emergono alcune indicazioni operative:

- mantenere e rafforzare il monitoraggio ambientale, estendendo agli edifici a rischio alto misure preventive oggi concentrate nelle aree a rischio molto alto, visto che proprio in questi edifici è stata osservata la positività più elevata;
- indagare le cause della recente ripresa della contaminazione, con particolare attenzione ai lavori sugli impianti, ai tratti a basso utilizzo e alle procedure di riattivazione;
- promuovere, nei pazienti ricoverati con polmonite, l'utilizzo sistematico della PCR e della coltura su secrezioni respiratorie, affiancate al test antigenico urinario, dato che nella rete idrica prevale il sierogruppo 3;
- garantire per ogni caso sospetto nosocomiale il confronto molecolare tra ceppo clinico e ceppo ambientale, unico strumento in grado di confermare o escludere un'origine intraospedaliera;
- integrare in modo sistematico i dati ambientali e clinici, anche in vista della piena attuazione dei Piani di Sicurezza dell'Acqua prevista dal D.Lgs. 18/2023.

In conclusione, la legionellosi nosocomiale resta un rischio prevenibile: la sua gestione efficace dipende dall'integrazione continua tra sorveglianza ambientale, sorveglianza clinica e interventi sugli impianti.

6) Bibliografia

1. *Informazioni generali. s.d., Legionellaonline.*
<https://legionella.it>
2. **McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR.** *Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N Engl J Med.* 1977;
PMID: 335245 DOI:[10.1056/NEJM197712012972202](https://doi.org/10.1056/NEJM197712012972202)
3. **Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, et al.** *Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med.* 1977;
PMID: 335244 DOI:[10.1056/NEJM197712012972201](https://doi.org/10.1056/NEJM197712012972201)
4. **McDade JE, Brenner DJ, Bozeman FM.** *Legionnaires' disease bacterium isolated in 1947. Ann Intern Med.*
PMID: 373548 DOI:[10.7326/0003-4819-90-4-659](https://doi.org/10.7326/0003-4819-90-4-659)
5. *Storia della legionella. s.d.,* <https://thelegionnaireslawyer.com/history-legionnaires-disease>
6. **Winn WC Jr.** Legionnaires disease: historical perspective. *Clin Microbiol Rev.* 1988 Jan;1(1):60–81. doi: [10.1128/cmr.1.1.60](https://doi.org/10.1128/cmr.1.1.60)
7. **Brenner DJ, Steigerwalt AG, McDade JE.** *Classification of the Legionnaires' disease bacterium: Legionella pneumophila, genus novum, species nova, of the family Legionellaceae, familia nova. Ann Intern Med.*
PMID: 434652 DOI: [10.7326/0003-4819-90-4-656](https://doi.org/10.7326/0003-4819-90-4-656)
8. **Winn WC Jr.** Legionella. In: *Medical Microbiology*, 4th edition. NCBI Bookshelf (NIH).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7619/>
9. **Yongqun Zhu, Dongyou Liu.** *Molecular Medical Microbiology (third edition)* Chapter 76 Legionella
10. **HJ Newton, DKY Ang, IR van Driel, EL Hartland.** *Molecular Pathogenesis of Infections Caused by Legionella pneumophila.*
Clin Microbiol Rev, 2010; 23(2):274-98. doi: [10.1128/CMR.00052-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00052-09).
11. **Moroni M, Esposito R, De Lalla F.** *Malattie infettive*, 7a edizione.
12. **Cunha BA, Burillo A, Bouza E.** *Legionnaires' disease. Lancet.* 2016; 387(10016):376-385. doi:[10.1016/S0140-6736\(15\)60078-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60078-2)
13. *How Legionella Spreads. CDC.*
<https://www.cdc.gov/legionella/causes/index.html>
14. *Legionellosis. OMS.*
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/legionellosis/>

15. **Correia AM, Ferreira JS, Borges V, et al.** *Probable person-to-person transmission of Legionnaires' disease.* *N Engl J Med.* 2016;374(5):497–498. doi:10.1056/NEJMc1505356
16. **Steinert M, Hentschel U, Hacker J.** *Legionella pneumophila: an aquatic microbe goes astray.* *FEMS Microbiol Rev.* 2002;26(2):149–162. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00607.x>
17. **J M Kusnetsov, E Ottoila, P J Martikainen.** *Growth, respiration and survival of Legionella pneumophila at high temperatures* PMID: 8896348 DOI: 10.1111/j.1365-2672.1996.tb03517.x
18. *How temperature influences legionella growth.* **legionellacontrol.com.**
19. *Legionella, shock termico: quando usare lo shock.* **legionella.it.**
20. *Regulations and Guidelines on Legionella Control in Water Systems.* NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555112/>
21. *Controlling Legionella in Potable Water Systems.* CDC. <https://www.cdc.gov/control-legionella/php/toolkit/potable-water-systems-module.html>
22. **Fields BS, Benson RF, Besser RE.** *Legionella and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation.* *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(3):506-526
23. **Talapko J, Frauenheim E, Juzbašić M, Tomas M, Matić S, Jukić M, Samardžić M, Škrlec I.** *Legionella pneumophila—Virulence Factors and the Possibility of Infection in Dental Practice.* *Microorganisms.* 2022;10(2):255. doi:10.3390/microorganisms10020255
24. **Graham FF, Hales S, White PS, Baker MG.** *Review Global seroprevalence of legionellosis - a systematic review and meta-analysis.* (PMC) 2020, 30;10:7337. doi: [10.1038/s41598-020-63740-y](https://doi.org/10.1038/s41598-020-63740-y)
25. *About Pontiac Fever.* CDC. <https://www.cdc.gov/legionella/about/about-pontiac-fever.html>
26. **Glick TH, Gregg MB, Berman B, et al.** *Pontiac fever: an epidemic of unknown etiology in a health department:I. Clinical and epidemiologic aspects.* *Am J Epidemiol.* 1978;107:149-160. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a112517.
27. **Sanders KM, Marras TK, Chan CKN.** *Pneumonia severity index in the immunocompromised.* *Canadian Respiratory J.* 2006;13(2):89-93. doi: 10.1155/2006/195464.
28. **ISS :** <https://www.epicentro.iss.it/legionellosi/>
29. *Clinical Features of Legionnaires' Disease and Pontiac Fever.* CDC : <https://www.cdc.gov/legionella/hcp/clinical-signs/index.html>

30. **Mandell LA, et al.**; *American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America. Consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults.* Clin Infect Dis 2007. 1;44 Suppl 2(Suppl 2):S27-72.
31. *Clinical Overview of Legionnaires' Disease.* CDC.
<https://www.cdc.gov/legionella/hcp/clinical-overview/index.html>
32. *Clinical Guidance for Legionella Infections.* CDC.
<https://www.cdc.gov/legionella/hcp/clinical-guidance/index.html>
33. **Avni T, Bieber A, Green H, Steinmetz T, Leibovici L, Paul M.** *Diagnostic Accuracy of PCR Alone and Compared to Urinary Antigen Testing for Detection of Legionella spp.: a Systematic Review.* J Clin Microbiol. 2016; 54(2):401-1
doi: 10.1128/JCM.02675-15.
34. **Bush LM, Vazquez-Pertejo MT.** *Legionella Infections.* MSD Manual Professional Edition.
35. *Laboratory Testing for Legionella.* CDC.
<https://www.cdc.gov/legionella/php/laboratories/index.html>
36. **Botelho-Nevers E, Grattard F, Viallon A, et al.** *Prospective evaluation of RT-PCR on sputum versus culture, urinary antigens and serology for Legionnaire's disease diagnosis.* J Infect 2016;73(2):123-8 doi: 10.1016/j.jinf.2016.04.039.
37. **Cunha BA.** *The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance.* Clin Microbiol Infect. 2006;12(Suppl 3):12-24. (PMID 16669925)
DOI: [10.1111/j.1469-0691.2006.01393.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01393.x)
38. **Chinelo N Animalu.** *Legionnaires Disease Treatment & Management*, 2024
<https://emedicine.medscape.com/article/220163-treatment?form=fpf>
39. **Jasper AS, Musuuza JS, Tischendorf JS, Stevens VW, Gamage SD, Osman F, Safdar N.** *Are Fluoroquinolones or Macrolides Better for Treating Legionella Pneumonia? A Systematic Review and Meta-analysis.* Clin Infect Dis. 2021;72(11):1979-1989. doi:10.1093/cid/ciaa441
40. **Diego Viasus , Valeria Gaia , Carolina Manzur-Barbur , Jordi Carratalà.** *Legionnaires' Disease: Update on Diagnosis and Treatment, 2022.*
PMCID:PMC9124264 PMID: [35505000](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35505000/)
41. **Rota MC, Caporali MG, Bella A, Scaturro M, Giannitelli S, Ricci ML.** *I risultati del sistema di sorveglianza della legionellosi nel 2021.* Boll Epidemiol Naz 2022;3(2):30-37. DOI: https://doi.org/10.53225/BEN_045.
42. **Iera J, Cannone A, Fadda G, Urciuoli R, Giannitelli S, Sciurti A, Rota MC, Caporali MG, Mancini F, Pezzotti P, Bella A, Scaturro M, Ricci ML.** *I risultati del sistema di sorveglianza nazionale della legionellosi coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, anno 2023.* Boll Epidemiol Naz 2024;5(3):29-38. DOI: https://doi.org/10.53225/BEN_094

43. **Bellini B, Cannone A, Fadda G, Scaturro M, Mancini F, Bella A, Giannitelli S, Urcioli R, Mimmo R, Pezzotti P, Iera J, Ricci M.L.** *I casi di legionellosi segnalati al sistema di sorveglianza nazionale. Italia, 2024.* Boll Epidemiol Naz 2025;6(2):9-18. DOI: https://doi.org/10.53225/BEN_107
44. **Frances F Graham, Norah Finn, Paul White, Simon Hales, Michael G Baker** *Global Perspective of Legionella Infection in Community-Acquired Pneumonia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies* Int J Environ Res Public Health 2022 8;19(3):1907. doi: 10.3390/ijerph19031907.
45. **Frances F Graham, Simon Hales, Paul S White, Michael G Baker.** *Review Global seroprevalence of legionellosis - a systematic review and meta-analysis* PMID: PMC7193644 PMID: [32355282](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32355282/)
46. **Yonghong Zhong, Linfeng Shen, Yan Zhou, Yibo Sun, Xiaofang Fu, Huaqiong Huang.** *The Global Burden and Trends of Legionella spp. Infection-Associated Diseases from 1990 to 2021: An Observational Study* J Epidemiol Glob Health, 2025 Jan 20;15(1):3. doi: 10.1007/s44197-025-00342-9.
47. **Zandice Faith Mnisi, Zaakirah Delair, Atheesha Singh.** *Legionella in Urban and Rural Water, a Tale of Two Environments.* 2025 <https://doi.org/10.3390/w17101491>
48. **Shetty, S.; Kenjar, A.; Raj, J.R.M.; Akhila, D.; Karunasagar, I.; Vittal, R.** *Prevalence and Characterization of Legionella pneumophila and Related Species from Water-Based Recreational Sites.* J. Health Allied Sci. **2024**, *14*, 260–266. doi:10.1055/s-0043-1770070
49. **J. Bartram, Y. Chartier, J. V. Lee, K. Pond, S. Surman-Lee.** *Legionella and the prevention of legionellosis . Emerg Infect Dis* 2008; 14(6):1006. doi: [10.3201/eid1406.080345](https://doi.org/10.3201/eid1406.080345)
50. **ECDC.** *Increasing rates of Legionnaires' disease in the EU/EEA.* European Centre for Disease Prevention and Control. 2023.
51. **ECDC.** *Legionnaires' disease – Annual Epidemiological Report for 2021/2022/2023/2024.* European Centre for Disease Prevention and Control.
52. *Legionnaires' disease surveillance and public health policies in Italy. A Mathematical model for assessing prevention strategies.* **Romano Spica, V., Borella, P., Bruno, A., Carboni, C., Exner, M., Hartemann, P., Gianfranceschi, G., Laganà, P., Mansi, A., Montagna, M.T., De Giglio, O., Platania, S., Rizzo, C., Spotti, A., Ubaldi, F., Vitali, M., van der Wielen, P., Valeriani, F.** *Water* **2024**, *16*(15), 2167; <https://doi.org/10.3390/w16152167>
53. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC) / Council of State and Territorial Epidemiologists (CSTE).** *Legionellosis: Legionnaires' Disease, Pontiac Fever or Extrapulmonary Legionellosis – 2020 Case Definition :* <https://ndc.services.cdc.gov/case-definitions/legionellosis-2020/>

54. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *About the Data: Case Definitions – Legionella*, <https://www.cdc.gov/investigate-legionella/php/data-research/case-definitions.html>
55. *Decisione di esecuzione (UE) 2018/945 della Commissione, del 22 giugno 2018, relativa alle malattie trasmissibili e ai problemi sanitari speciali connessi da incorporare nella sorveglianza epidemiologica, nonché alle pertinenti definizioni di caso* (Testo rilevante ai fini del SEE.) (OJ L 170 06.07.2018, http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2018/945/oj)
56. **J M Kusnetsov, E Ottoila, P J Martikainen.** *Growth, respiration and survival of Legionella pneumophila at high temperatures* *Journal of Applied Bacteriology* DOI: 10.1111/j.1365-2672.1996.tb03517.x
57. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Water Management in Healthcare Facilities*.
<https://www.cdc.gov/control-legionella/php/healthcare/water-management.html>
58. **Pasqualina Laganà, Alessio Facciola, Roberta Palermo, Santi Delia.** *Environmental Surveillance of Legionellosis within an Italian University Hospital—Results of 15 Years of Analysis*. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 28;16(7):1103. doi: 10.3390/ijerph16071103
59. **Giulia Fadda, Adriano Grossi, Jessica Iera, Bandini Lorenzo, Fortunato "Paolo" D'Ancona** - *Dipartimento malattie infettive, ISS*.
<https://www.epicentro.iss.it/infezioni-correlate/>
60. **Costanza Vicentini Valerio Bordino, Luca Bresciano, Stefania Di Giacomo, Fortunato D'Ancona, Carla Maria Zotti.** *Application of an updated methodology to estimate the burden of healthcare-associated infections in Italy*, 2022 PMID: PMC12066978 PMID: [40341102](#)
61. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Surveillance Report 2020-2021 — Definizioni di caso presuntivo/possibile di legionellosi correlata all'assistenza*. <https://www.cdc.gov/legionella/php/surveillance/surveillance-report-2020-2021.html>
62. **Antonelli A, Ales ME, Chiecca G, et al.** *Healthcare-associated infections and antimicrobial use in acute care hospitals: a point prevalence survey in Lombardy, Italy*, in 2022. *BMC Infect Dis*. 2024. doi:10.1186/s12879-024-09487-7
63. **J T Walker, C W Mackerness, D Mallon, T Makin, T Williets, C W Keevil.** *Control of Legionella pneumophila in a hospital water system by chlorine dioxide*. PMID: 8605076 DOI: 10.1007/BF01569995
64. **Ministero della Salute.** *Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi* <https://www.salute.gov.it/new/it/pubblicazione/linee-guida-la-prevenzione-ed-il-controllo-della-legionellosi/>

65. **Claudio Farina, Eleonora Cacciabue, Franca Averara, Nadia Ferri, Francesca Vailati, Gabriele Del Castillo, Antonello Serafini, Beatrice Fermi, Nicola Doniselli, Fabio Pezzoli.** *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*
PMID: 37512966 PMCID: PMC10384652
DOI: 10.3390/microorganisms11071794.
66. **Isabella Marchesi, Greta Ferranti, Antonella Mansi, Anna M Marcelloni, Anna R Proietto, Navneet Saini, Paola Borella, Annalisa Bargellini** *Control of Legionella Contamination and Risk of Corrosion in Hospital Water Networks following Various Disinfection Procedures*
Appl Environ Microbiol, 2016, 2;82(10):2959-2965.
doi: 10.1128/AEM.03873-15.
67. **I. Marchesi, S. Cencetti, P. Marchegiano, G. Frezza, P. Borella, and A. Bargellini,** "Control of Legionella contamination in a hospital water distribution system by monochloramine," *Am. J. Infect. Control*, vol. 40, no. 3, pp. 279–281, Apr. 2012.
68. **M. R. Moore, M. Pryor, B. Fields, C. Lucas, M. Phelan, and R. E. Besser,** "Introduction of Monochloramine into a Municipal Water System: Impact on Colonization of Buildings by Legionella spp.," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 72, no.1, pp. 378–383, 2006.
69. **I. R. Cooper, J. White, E. Mahenthiralingam, and G. W. Hanlon,** "Long-term persistence of a single Legionella pneumophila strain possessing the mip gene in a municipal shower despite repeated cycles of chlorination," *J. Hosp. Infect.*, vol.70, no. 2, pp. 154–159, 2008.
70. **J. E. Stout and V. L. Yu,** "Experiences of the First 16 Hospitals Using Copper-Silver Ionization for Legionella Control: Implications for the Evaluation of Other Disinfection Modalities," *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 24, no. 08, pp. 563–568, 2003.
71. **A Muzzi, S Cutti , E Bonadeo , L Lodola , V Monzillo , M Corbella , L Scudeller , V Novelli, C Marena.** *Prevention of nosocomial legionellosis by best water management: comparison of three decontamination methods.*
PMID: 32389709. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.05.002
72. **Giovanni Battista Orsi, Matteo Vitali, Lucia Marinelli, Veronica Ciorba, Daniela Tufi, Angela Del Cimmuto, Paolo Ursillo, Massimo Fabiani, Susi De Santis, Carmela Protano, Carolina Marzuillo, Maria De Giusti.** *Legionella control in the water system of antiquated hospital buildings by shock and continuous hyperchlorination: 5 years experience.*
PMID: 25027499 PMCID: PMC4223580 DOI: [10.1186/1471-2334-14-394](https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-394)
73. **J. Darelid, S. Löfgren, and B.-E. Malmvall,** "Control of nosocomial Legionnaires' disease by keeping the circulating hot water temperature above 55°C: experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital," *J. Hosp. Infect.*, vol. 50, no. 3, pp. 213–219, 2002.

74. **K. K. Hall, E. T. Giannetta, S. I. Getchell-White, L. J. Durbin, and B. M. Farr,** “Ultraviolet Light Disinfection of Hospital Water for Preventing Nosocomial Legionella Infection: A 13-Year Follow-Up,” *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 24, no. 08, pp. 580–583, 2003.
75. **CDC.** *Water guidelines from the Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities.* 2003.
76. **A. Lombardi; Tonia Borriello; Elvira De Rosa; Fabiana Di Duca; Michele Sorrentino; Ida Torre; Maria Triassi; Francesca Pennino.** *Environmental Monitoring of Legionella in Hospitals in the Campania Region: A 5-year Study.* *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2023**, 20(8), 5526; <https://doi.org/10.3390/ijerph20085526>
77. **Lucia Massolo, Matilde Ogliastro, Peter Postma, Oriana Ferrante, Rosa Amato, Elvira Massaro, Dorotea Bellina, Roberto Ziffero, Alberto Borneto, Alessandra Morando, Andrea Orsi.** *Environmental Surveillance of Legionella spp. in an Italian University Hospital: results of 7 years of analysis.* PMID: 39430978 PMCID: PMC11487725 DOI: [10.15167/2421-4248/jpmh2024.65.2.3195](https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2024.65.2.3195)
78. **Maria Teresa Montagna, Matteo Moro, Beatrice Casini, Ida Iolanda Mura, Gianfranco Finzi, Valentina Spagnuolo, Antonella Francesca Savino, Fabrizio Fasano, Francesco Triggiano, Lucia Bonadonna, Osvalda De Giglio.** *Evaluation of Water Safety Plan Compliance in Italian Hospitals According to Legislative Decree 18/23 and Directive EU 2020/2184: A Cross-Sectional Study.* *Hygiene* **2025**, 5(3),28; <https://doi.org/10.3390/hygiene5030028>
79. **Valeria Gaia, Norman K Fry, Baharak Afshar, P Christian Lück, Hélène Meugnier, Jerome Etienne, Raffaele Peduzzi, Timothy G Harrison.** *Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of Legionella pneumophila.* PMID: 15872220 PMCID: PMC1153775. DOI: [10.1128/JCM.43.5.2047-2052.2005](https://doi.org/10.1128/JCM.43.5.2047-2052.2005)
80. **Valeria Gaia, Norman K Fry, Timothy G Harrison , Raffaele Peduzzi.** *Sequence-Based Typing of Legionella pneumophila Serogroup 1 Offers the Potential for True Portability in Legionellosis Outbreak Investigation.* *J Clin Microbiol* **2003**;41(7):2932-9. doi: 10.1128/JCM.41.7.2932-2939.2003.
81. **Sophia David, Massimo Mentasti, Rediat Tewolde, Martin Aslett, Simon R Harris, Baharak Afshar, Anthony Underwood, Norman K Fry, Julian Parkhill, Timothy G Harrison.** *Evaluation of an Optimal Epidemiological Typing Scheme for Legionella pneumophila with Whole-Genome Sequence Data Using Validation Guidelines.* *J Clin Microbiol*, **2016**;54(8):2135-48. doi: 10.1128/JCM.00432-16. Epub 2016 Jun 8.