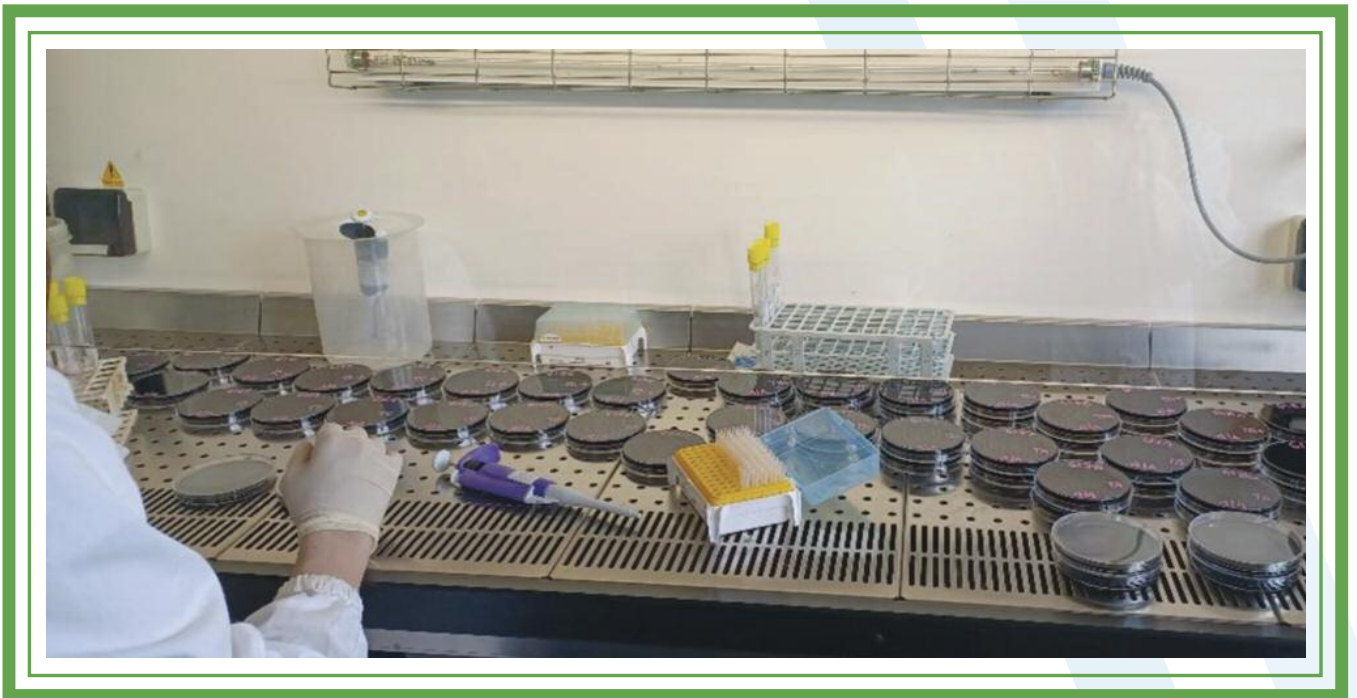


Attività dei laboratori dell'ARPA Lazio per la prevenzione e il controllo delle contaminazioni ambientali da Legionella nella regione Lazio Report anno 2023



**Attività dei laboratori dell'ARPA Lazio
per la prevenzione e il controllo
delle contaminazioni ambientali
da Legionella nella regione Lazio
Report anno 2023**

Attività dei laboratori dell'ARPA Lazio per la prevenzione e il controllo delle contaminazioni ambientali da Legionella nella regione Lazio. Report anno 2023

ARPA Lazio, Dipartimento prevenzione e laboratorio integrato, Servizio ambiente e salute Laboratorio di Riferimento Regionale per la Legionella

Irene Ferrante, Massimo Scopelliti e Doriana Antonella Giorgi

Personale tecnico del Dipartimento prevenzione e laboratorio integrato, Servizio ambiente e salute, impegnato costantemente nelle attività di analisi e campionamento:

Monica Monfrinotti, Andrea Zocconali, Valeria Capparuccini, Marianna Mari, Sabina Palmieri, Egle Cava, Veronica Ferrarelli

Unità laboratorio sanitario biologico di Roma;

Daniela Menichelli, Antonella Passamonti, Donatella Franchi, Vincenzo Perna, Elsa Cellini

Unità laboratorio biologico di Latina;

Luana Colacicchi, Daniele Ancillai

Unità laboratorio biologico Area Nord

Contatti autori:

irene.ferrante@arpalazio.it;

massimo.scopelliti@arpalazio.it;

dorianaantonella.giorgi@arpalazio.it

ABSTRACT

I laboratori di Roma e Latina dell'ARPA Lazio sono stati identificati dalla Regione Lazio Laboratori di riferimento per le analisi di Legionella della Regione. Presso i laboratori dell'Agenzia la ricerca e conta di *Legionella pneumophila* e di *Legionella spp.* è eseguita secondo il metodo UNI EN ISO 11731: 2017 *Qualità dell'acqua - Conteggio di Legionella e l'attività analitica è effettuata in conformità ai requisiti previsti dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 - Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*. Le prove sono accreditate da ACCREDIA. I campioni analizzati sono stati prelevati, su richiesta delle ASL territorialmente competenti, in strutture sanitarie, strutture ricettive, strutture di ambiente comunitario e abitazioni private in seguito a segnalazione di casi di legionellosi, nell'ambito di procedure di autocontrollo o in seguito a bonifica. Questa pubblicazione presenta le attività analitiche e le valutazioni dei dati riferiti all'anno 2023 per l'intera regione.

Parole chiave: Legionella, legionellosi, microrganismo, controlli

Edizione web:

<https://www.arpalazio.it/web/guest/pubblicazioni>

In copertina:

Laboratorio analisi Legionella Roma - Foto di Marianna Mari

ARPA Lazio – 2024



Quest'opera è distribuita con Licenza
Creative Commons Attribuzione Italia 4.0

Coordinamento editoriale a cura dell' Area sistemi operativi e gestione della conoscenza

Progetto grafico e stampa: STI Stampa Tipolitografica Italiana srl - Roma

INDICE

LEGENDA	4
EXECUTIVE SUMMARY	5
INTRODUZIONE	7
1. ATTIVITÀ ANALITICHE E VALUTAZIONE DEI DATI DEL 2023.....	11
2. LA PROVINCIA DI ROMA	19
3. CONSIDERAZIONI FINALI	23
BIBLIOGRAFIA.....	29

LEGENDA

ASL	Azienda Sanitaria Locale
C	Conforme
NC	Non Conforme
LRR	Laboratorio di riferimento regionale
LRN	Laboratorio di riferimento nazionale

EXECUTIVE SUMMARY

La Regione Lazio ha individuato nell'ARPA Lazio – Agenzia regionale per la protezione ambientale del Lazio - due laboratori di riferimento regionale per le indagini diagnostiche relative al microrganismo *Legionella* in campioni ambientali nell'ambito del sistema di prevenzione e controllo della Legionellosi (Decreto del Commissario ad Acta 5 dicembre 2019, n. U00495). I due laboratori sono collocati nel Dipartimento prevenzione e laboratorio integrato - Servizio ambiente e salute nella struttura territoriale di Roma e nella struttura territoriale di Latina.

Oltre alle analisi, l'Agenzia effettua attività tecniche di sopralluogo, ispezione e campionamento, intervenendo come supporto tecnico-analitico dei Dipartimenti di prevenzione delle ASL nell'ambito delle loro attività di vigilanza, di controllo a seguito della notifica di casi di polmonite da *Legionella* e nell'ambito del monitoraggio in ambienti di vita per la valutazione del rischio.

I laboratori dell'ARPA Lazio svolgono le attività di sopralluogo, campionamento e analisi anche su richiesta di privati, prevalentemente strutture ricettive e sanitarie, nell'ambito della loro attività di auto-controllo preventivo o a seguito di interventi di bonifica.

L'attività analitica è effettuata in conformità ai requisiti previsti dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 - *Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura* e le prove sono accreditate da ACCREDIA. La valutazione dei metodi di prova e delle prestazioni del laboratorio sono effettuate con controlli di qualità interni e attraverso la partecipazione a circuiti interlaboratorio di interconfronto.

Presso i laboratori dell'Agenzia la ricerca e conta di *Legionella pneumophila* e di *Legionella spp.* è eseguita secondo il metodo UNI EN ISO 11731: 2017. Il limite di sensibilità del metodo è pari a 50 UFC/Litro (10 UFC/l in caso di analisi di 5 litri di acqua).

Su altre matrici, come tamponi e incrostazioni, il risultato analitico è espresso in termini di presenza/assenza.

Il laboratorio dell'ARPA Lazio ha identificato nei metodi in rt-PCR l'alternativa rapida al metodo colturale precedentemente impiegato e ha portato in accreditamento il metodo per la ricerca di *Legionella pneumophila* ai sensi del metodo AFNOR BRD 07/16-12/07, e per la ricerca di *Legionella spp.*, ai sensi del metodo AFNOR BRD 07/15-12/07, entrambi con tecnica di biologia molecolare *real time*. Così come indicato dalle linee guida (*Linee guida per il controllo e la prevenzione della legionellosi – 2015*), gli esiti delle analisi eseguite con tale tecnica possono essere utili per la definizione dei campioni negativi, mentre, in caso di campioni positivi, il risultato quantitativo si ottiene con tecnica di microbiologia classica (metodo colturale). Con l'impiego di questo metodo è possibile restituire rapporti di prova in tempi molto brevi, anche entro 24 ore, almeno per i campioni negativi, fatto di rilevanza in caso di indagini in strutture ad alto rischio sanitario, in seguito a bonifiche, in casi di cluster o di decessi.

L'impegno dell'ARPA Lazio nella prevenzione e nel controllo delle contaminazioni ambientali di *Legionella* include anche incontri formativi sul campionamento, la partecipazione a tavoli tecnici, nonché la realizzazione di materiale divulgativo come il report di recente aggiornamento, dal titolo "*Le attività dei laboratori dell'ARPA Lazio per la prevenzione e il controllo delle contaminazioni ambientali da Legionella nel Lazio – 2023*", consultabile sul sito web dell'ARPA Lazio alla pagina <https://www.arpalazio.it/web/guest/pubblicazioni>.

La nuova Direttiva europea (DWD) 2020/2184, relativa alla qualità dell'acqua destinata al consumo umano del 16 dicembre 2020, recepita con il D.lgs. 18/23, ha incluso per la prima volta la Legionella tra i patogeni che devono essere monitorati in caso di analisi di acque da impianti idrici di edifici.

Il nuovo orientamento normativo riconosce l'approccio basato sul rischio come strategia di elezione per la protezione della salute umana contro le malattie idrotrasmesse, siano esse di natura microbiologica e virologica, chimica o fisica e nel D.lgs. 18/23 sono previsti alcuni obblighi relativi all'esecuzione della valutazione e gestione dei rischi derivanti dai sistemi di distribuzione dell'acqua potabile interni agli edifici, locali e navi. In particolare, sono definiti gli *edifici (o locali) prioritari* quali gli *immobili di grandi dimensioni, ad uso diverso dal domestico, o parti di detti edifici, in particolare per uso pubblico, con numerosi utenti potenzialmente esposti ai rischi associati all'acqua*, includendo tra essi ospedali, strutture sanitarie, case di riposo, strutture per l'infanzia, scuole, istituti di istruzione, edifici destinati a ospitare strutture ricettive, ristoranti, bar, centri sportivi e commerciali, strutture per il tempo libero, ricreative ed espositive, istituti penitenziari, caserme e campeggi, aeroporti, stazioni.

Nel corso del 2023 i laboratori dell'ARPA Lazio hanno analizzato 2008 campioni e la media delle non conformità (NC) su tutto il territorio regionale è risultata del 30,5%. *L. pneumophila* è stata riscontrata in 537 dei 612 campioni in cui è stato riscontrato il microrganismo Legionella, con prevalenza del sierogruppo 1.

I dati sono stati analizzati aggregati a livello regionale, ripartiti per provincia, per tipologia di struttura presso la quale è avvenuto il prelievo (vale a dire strutture sanitarie, strutture turistico-ricettive, ambienti di vita e private abitazioni). È stato valutato il numero di interventi con sopralluogo e campionamento che abbiano generato almeno una non conformità in associazione alle diverse strutture di prelievo, al fine di evidenziare eventuali differenze di rischio ad esse associate.

6

Per la provincia di Roma, è stato fatto un focus sulle 6 ASL di competenza, ripartendo anche in questo caso i dati per territorialità e per tipologia di richiedente (ASL, privati, USMAF o convenzioni commerciali). Nelle considerazioni conclusive i dati sono stati valutati in relazione alle tendenze nel tempo nella fase post-pandemica, anche in relazione ai dati epidemiologici rilevati sul portale Epicentro.it <https://www.epicentro.iss.it/>

Il cambio di passo determinato dalla nuova normativa vedrà i laboratori ufficiali di prova e i laboratori di riferimento regionale per la Legionella protagonisti di un cambiamento che permetterà di passare dalla condizione attuale in cui prevalgono i campionamenti associati a casi di Legionellosi, svolti nell'ambito di indagini epidemiologiche, a un vero e proprio monitoraggio nelle strutture associate a maggiore rischio, che dovrà integrarsi con l'attuale modalità di operare il campionamento. Si tratta di una sfida importante per le autorità competenti, costrette a ripensare il modo di lavorare a vantaggio di una fattiva prevenzione del rischio legionellosi. Le tecniche più avanzate di biologia molecolare di cui si è dotato il laboratorio dell'ARPA Lazio consentiranno di gestire le risposte analitiche in tempo reale, offrendo tempestivo supporto alle autorità sanitarie. Tuttavia, affinché possano essere visibili gli effetti di questa nuova normativa, che per gli inadempienti prevede sia il reato che le sanzioni, si dovrà attendere il 2029, data in cui la direttiva dovrà essere pienamente applicata. Questo lasso di tempo è stato fornito ai molteplici operatori coinvolti per predisporre negli edifici prioritari in classe A (strutture sanitarie a carattere di ricovero) i Piani di sicurezza dell'acqua (PSA) e per far sì che le associazioni di categoria possano elaborare i manuali di autocontrollo per i diversi edifici prioritari.

INTRODUZIONE

La Regione Lazio ha individuato nell'ARPA Lazio – Agenzia regionale per la protezione ambientale del Lazio - due laboratori di riferimento regionale per le indagini diagnostiche relative al microrganismo Legionella in campioni ambientali nell'ambito del sistema di prevenzione e controllo della Legionellosi (Decreto del Commissario ad Acta 5 dicembre 2019, n. U00495). I due laboratori sono collocati nel Dipartimento prevenzione e laboratorio Integrato - Servizio ambiente e salute nella sede territoriale di Roma e nella sede territoriale di Latina. Il laboratorio di Roma riceve i campioni provenienti dal territorio della provincia di Roma, mentre il laboratorio di Latina analizza i campioni prelevati nelle province di Latina e di Frosinone. Infine, nell'ambito del suddetto servizio, i campioni delle province di Rieti e di Viterbo sono analizzati dal Laboratorio di base (come definito nelle *Linee guida per il controllo e la prevenzione della legionellosi – 2015*), collocato nella sede territoriale di Rieti: l'ARPA Lazio, in questo modo, assicura il servizio di analisi per la ricerca della Legionella in campioni ambientali, con particolare attenzione alla *Legionella pneumophila*, su tutto il territorio regionale.

Così come previsto dalle Linee Guida, il laboratorio di riferimento di Roma riceve gli isolati provenienti dal laboratorio di base di Rieti per le tipizzazioni ed è a disposizione per eventuale supporto alle altre sedi dell'Agenzia.

Oltre alle analisi, l'Agenzia effettua attività tecniche di sopralluogo, ispezione e campionamento, intervenendo come supporto tecnico-analitico dei Dipartimenti di prevenzione delle ASL nell'ambito delle loro attività di vigilanza, di controllo a seguito della notifica di casi di polmonite da Legionella e nell'ambito del monitoraggio in ambienti di vita per la valutazione del rischio.

I laboratori dell'ARPA Lazio svolgono le attività di sopralluogo, campionamento e analisi anche su richiesta di privati, prevalentemente strutture ricettive e sanitarie, nell'ambito della loro attività di auto-controllo preventivo o a seguito di interventi di bonifica.

L'attività analitica è effettuata in conformità ai requisiti previsti dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 - *Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura* e le prove sono accreditate da ACCREDIA. La valutazione dei metodi di prova e delle prestazioni del laboratorio sono state effettuate con controlli di qualità interni e attraverso la partecipazione a circuiti interlaboratorio di interconfronto.

Presso i laboratori dell'Agenzia la ricerca e conta di *Legionella pneumophila* e di *Legionella spp.* è eseguita secondo il metodo UNI EN ISO 11731: 2017. Il limite di sensibilità del metodo è pari a 50 UFC/Litro (10 UFC/l in caso di analisi di 5 litri di acqua).

Su altre matrici, come tamponi e incrostazioni, il risultato analitico è espresso in termini di presenza/assenza.

L'impegno dell'ARPA Lazio per la prevenzione e per il controllo delle contaminazioni ambientali di Legionella include anche incontri formativi sul campionamento (nel 2023, a maggio e a novembre, hanno avuto luogo due giornate di formazione per il personale ispettivo delle ASL), la partecipazione a tavoli tecnici, nonché la realizzazione di materiale divulgativo come la pubblicazione di recente aggiornamento, dal titolo "*Le attività dei laboratori dell'ARPA Lazio per la prevenzione e il controllo delle contaminazioni ambientali da Legionella nel Lazio – 2023*", consultabile sul sito web dell'ARPA Lazio alla pagina <https://www.arpalazio.it/web/guest/pubblicazioni>.

La nuova Direttiva europea (DWD) 2020/2184, relativa alla qualità dell'acqua destinata al consumo umano del 16 dicembre 2020, ha incluso per la prima volta la Legionella tra i patogeni che devono essere monitorati in caso di analisi di acque da impianti idrici di edifici. In preparazione del recepimento di tale normativa a livello nazionale si era resa evidente la necessità di una valutazione comparativa

tra metodi, ufficiali e non, al fine di scegliere quali indicazioni metodologiche includere nel nuovo provvedimento. Infatti, oltre al metodo colturale *gold standard* per il rilevamento e il conteggio della *Legionella* in accordo con la ISO 11731: 2017, la DWD, nonché il suo recepimento (D.lgs 18/2023) afferma che *per il controllo di verifica basato sul rischio e per integrare i metodi di coltura, è possibile utilizzare in aggiunta altri metodi, metodi di coltura rapida, metodi molecolari, in particolare Real Time PCR*. Il Laboratorio di Roma ha iniziato nel 2020 la messa a punto di un metodo rapido e alternativo a quello colturale, esaminando oltre 130 campioni con i due metodi a confronto. Lo studio eseguito ha trovato una naturale prosecuzione nella partecipazione allo studio comparativo tra metodi coordinato dall'ISS che ha visto il laboratorio di Roma impegnato, insieme ad altri 32 laboratori nazionali, nel confronto tra i seguenti metodi: il metodo colturale secondo la norma ISO 11731: 2017, la coltura in brodo sviluppata dal sistema Legiolert, la ricerca con tecniche di *real time PCR* (in accordo con la ISO/TS 12869: 2019) e, infine, un altro metodo molecolare, basato sulla tecnologia LAMP - *Loop-mediated isothermal amplification*. La raccolta dati, terminata ad aprile 2022, ha dato spunto per una pubblicazione dei risultati esposti alla Conferenza Internazionale sulla *Legionella* tenutasi in Giappone nel 2022, con un contributo dal titolo *The New European Drinking Water Directive 2020/2184: comparison of three methods for detecting Legionella pneumophila*. Il laboratorio dell' ARPA Lazio ha identificato nei metodi in *rt-PCR* l'alternativa rapida al metodo colturale impiegato da sempre. Nel corso del 2022 il laboratorio di Roma ha accreditato il metodo per la ricerca di *Legionella pneumophila* con tecnica di biologia molecolare *real time*, ai sensi del metodo AFNOR BRD 07/16-12/07, mentre nel 2023 è stato accreditato il metodo per la ricerca di *Legionella spp.* con tecnica di biologia molecolare *real time*, ai sensi del metodo AFNOR BRD 07/15-12/07. Così come indicato dalle linee guida (*Linee guida per il controllo e la prevenzione della legionellosi – 2015*), gli esiti delle analisi eseguite con tale tecnica possono essere utili per la definizione dei campioni negativi, mentre, in caso di campioni positivi, il risultato quantitativo si ottiene con tecnica di microbiologia classica (metodo colturale). Con l'impiego di questo metodo è possibile restituire rapporti di prova in tempi molto brevi, anche entro 24 ore, almeno per i campioni negativi, fatto di rilevanza in indagini in strutture ad alto rischio sanitario, in seguito a bonifiche, in casi di cluster o decessi.

Il nuovo orientamento normativo riconosce l'approccio basato sul rischio come strategia di elezione per la protezione della salute umana contro le malattie idrotrasmesse, siano esse di natura microbiologica e virologica, chimica o fisica e il D.lgs. 18/23 prevede alcuni obblighi relativi all'esecuzione della valutazione e gestione dei rischi derivanti dai sistemi di distribuzione dell'acqua potabile interni agli edifici, locali e navi. In particolare, sono definiti gli *edifici (o locali) prioritari* quali gli *immobili di grandi dimensioni, ad uso diverso dal domestico, o parti di detti edifici, in particolare per uso pubblico, con numerosi utenti potenzialmente esposti ai rischi associati all'acqua*, includendo tra essi ospedali, strutture sanitarie, case di riposo, strutture per l'infanzia, scuole, istituti di istruzione, edifici destinati a ospitare strutture ricettive, ristoranti, bar, centri sportivi e commerciali, strutture per il tempo libero, ricreative ed espositive, istituti penitenziari, caserme e campeggi, aeroporti, stazioni. La materia disciplinata nel D.lgs. 18/23 trova approfondimenti nel Rapporto ISTISAN 22/32 - *Linee guida per la valutazione e la gestione del rischio per la sicurezza dell'acqua nei sistemi di distribuzione interni degli edifici prioritari e non prioritari e in talune navi ai sensi della Direttiva (UE) 2020/2184*, a cura del Gruppo di lavoro ad hoc sulla sicurezza dell'acqua nei sistemi di distribuzione idrica interni degli edifici e di talune navi, pubblicato nella sua ultima revisione proprio a marzo 2023. L'art. 9 del D.lgs. 18/2023 prevede espressamente che i gestori della distribuzione idrica interna effettuino una valutazione e gestione del rischio dei sistemi di distribuzione idrica interni alle strutture prioritarie sopra citate, con particolare riferimento anche al parametro *Legionella*, adottando le necessarie misure preventive e correttive, proporzionate al rischio, per ripristinare la qualità delle acque nei casi in cui si evidenzino un rischio per la salute umana derivante da questi sistemi.

Siamo quindi di fronte a un cambiamento radicale di prospettiva, che ci porterà da qui al 2029 a una trasformazione del sistema dei controlli, passando per una sempre maggiore responsabilizzazione del

cosiddetto GIDI, Gestore Idrico della Distribuzione Interna. Tale trasformazione vedrà i laboratori ufficiali di prova e i laboratori di riferimento regionale per la Legionella protagonisti di un cambiamento che permetterà di passare dalla condizione attuale in cui prevalgono i campionamenti associati a casi di legionellosi, svolti nell'ambito di indagini epidemiologiche, a un vero e proprio monitoraggio nelle strutture associate a maggiore rischio, che dovrà integrarsi con l'attuale modalità di operare il campionamento. Si tratta di una importante sfida per le autorità competenti, costrette a ripensare il modo di lavorare a vantaggio di una fattiva prevenzione del rischio legionellosi. Le tecniche più avanzate di biologia molecolare di cui si è dotato il laboratorio dell'ARPA Lazio consentiranno di gestire le risposte analitiche in tempo reale, offrendo tempestivo supporto alle autorità sanitarie. Tuttavia, affinché possano essere visibili gli effetti di questa nuova normativa, che per gli inadempienti prevede sia il reato che le sanzioni, si dovrà attendere il 2029, data in cui la direttiva dovrà essere pienamente applicata. Questo lasso di tempo è stato fornito ai molteplici operatori coinvolti per predisporre negli edifici prioritari in classe A (strutture sanitarie a carattere di ricovero) i Piani di sicurezza dell'acqua (PSA) e per far sì che le associazioni di categoria possano elaborare i manuali di autocontrollo per i diversi edifici prioritari.



1. ATTIVITÀ ANALITICHE E VALUTAZIONE DEI DATI DEL 2023

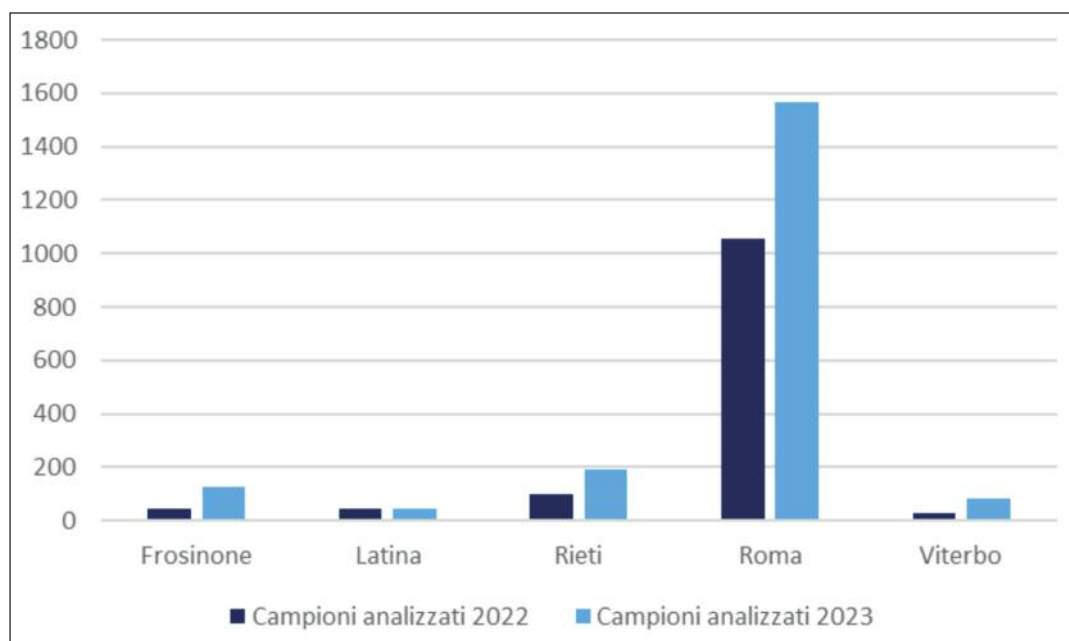
Nel corso del 2023 i laboratori dell'ARPA Lazio hanno analizzato 2008 campioni, prelevati nelle diverse province, con un notevole aumento rispetto all'anno precedente (1267). La distribuzione dei campioni analizzati per provincia e il numero dei campioni risultati non conformi, vale a dire di quelli nei quali è stata riscontrata la presenza di Legionella, sono riportati nella tabella che segue, insieme alle relative percentuali. La maggiore percentuale di campioni non conformi si rileva nella provincia di Latina (37%), ma non si riscontrano variazioni di rilievo nel dato medio di non conformità (30,5%), comunque diminuito. Il dato della provincia di Roma verrà trattato più avanti in modo dettagliato.

Tabella 1: numero dei campioni totali analizzati dall'ARPA Lazio per ciascun territorio provinciale e percentuale dei campioni non conformi

Provincia	Campioni per provincia	Campioni non conformi	Percentuale dei campioni non conformi
Frosinone	128	37	28,9
Latina	43	16	37,2
Rieti	188	61	32,4
Roma	1569	483	30,8
Viterbo	80	15	18,8
TOTALE	2008	612	30,5

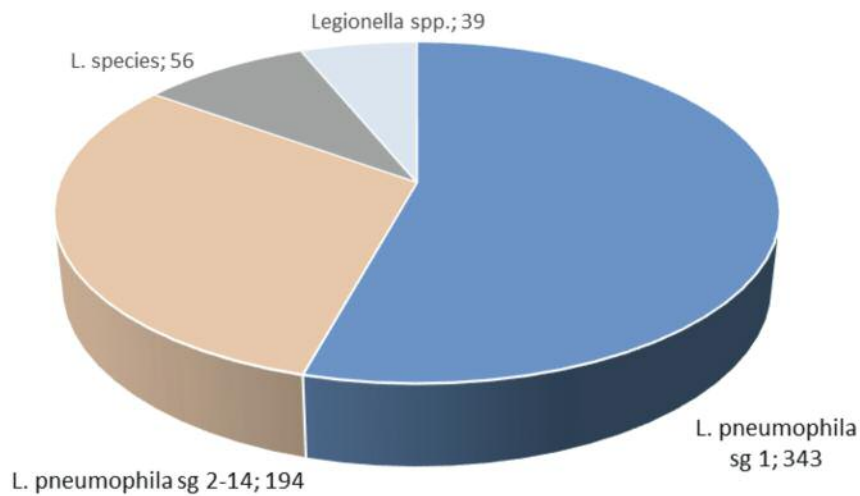
A titolo di confronto si riportano in Figura 1 i dati relativi al 2022 che mostrano un sostanziale equilibrio con i numeri degli anni dell'emergenza sanitaria da Covid-19, e quelli del 2023, aumentati complessivamente del 58%; presso tutte le province il numero di campioni è aumentato, ad eccezione di quanto osservato nella provincia di Latina.

Figura 1: numero dei campioni totali analizzati dall'ARPA Lazio per ciascun territorio negli anni 2022 e 2023



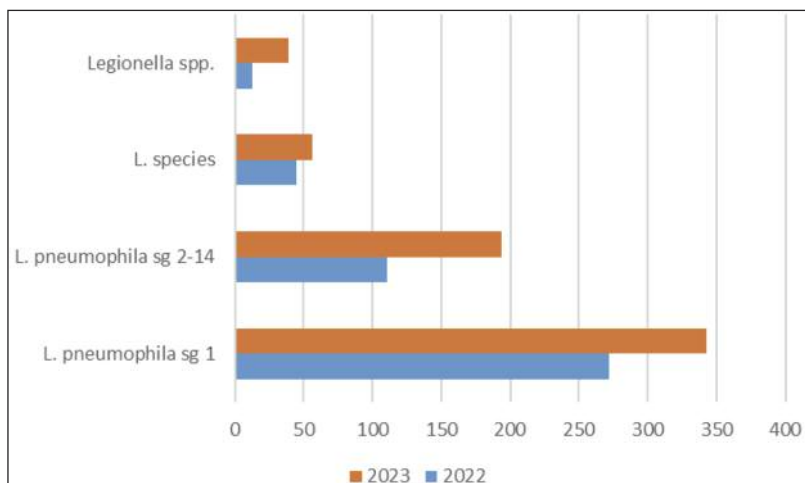
Le non conformità riscontrate nei 612 campioni (30,5% del totale) sono prevalentemente ascrivibili a *Legionella pneumophila*; *Legionella spp.*, ovvero microrganismi identificabili come *Legionella non pneumophila*, è stata infatti trovata soltanto in 39 campioni non conformi. Nei campioni positivi per *Legionella pneumophila* è stata rilevata la prevalenza del sierogruppo 1 in 343 campioni, rispetto ai 194 campioni positivi ai sierogruppi 2-14 (Figura 2). Tali risultati confermano il trend osservato nel periodo 2021-2022, mentre nel 2020 prevalevano i sierogruppi 2-14. Sono stati evidenziati anche 56 casi di *Legionella non pneumophila* e identificabili con una delle seguenti specie: *L. longbeachae* 1 & 2, *L. bozemanii* 1 & 2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*. Questi casi sono in sintesi descritti come *Legionella species*.

Figura 2: numero dei campioni risultati non conformi nel 2023 per presenza di *Legionella pneumophila* sg. 1, *Legionella pneumophila* sg. 2-14, *Legionella species* e *Legionella spp.*



Visto il forte incremento di campioni osservato nel 2023 rispetto agli anni precedenti, risulta informativa la variazione delle prevalenze dei sierogruppi tipizzati nei campioni analizzati presso i nostri laboratori. Stando ai nostri dati, non si osservano variazioni in tali prevalenze relative. Si auspica a questo proposito una maggiore collaborazione da parte dei laboratori di base, per i quali corre l'obbligo di inviare al LRR gli isolati batterici per la sierotipizzazione. Tale adempimento, se realizzato appieno, permetterebbe una sorveglianza molto più accurata e robusta sui sierogruppi rilevati.

Figura 3: numero dei campioni risultati non conformi nel 2022 e nel 2023 per presenza di *Legionella pneumophila* sg. 1, *Legionella pneumophila* sg. 2-14, *Legionella species* e *Legionella spp.*



Presso il solo laboratorio di Roma sono stati osservati alcuni casi di contaminazioni miste, con diverse combinazioni di sierogruppi di *L. pneumophila*, con *Legionella* spp., o con *Legionella* species. Tale dato dovrà essere monitorato nel tempo.

Tabella 2: numero dei campioni che hanno presentato una contaminazione mista, tra sierogruppi di *L. pneumophila*, con *Legionella* spp., o con *Legionella* species

combinazioni di contaminazioni miste	n. campioni
L. pneumophila sg 1/ L. pneumophila sg 2-14	8
L. pneumophila sg1/ <i>Legionella</i> species	6
L. pneumophila sg 2-14/ <i>Legionella</i> species	6
L. pneumophila sg 1 / <i>Legionella</i> spp.	1
<i>Legionella</i> species/ <i>Legionella</i> spp.	1

In base ai siti in cui sono stati prelevati i campioni analizzati dai laboratori diel'ARPA Lazio, sono state individuate 4 diverse categorie di strutture, ovvero:

strutture sanitarie come presidi ospedalieri e case di cura nei quali il controllo avviene su diverse unità di cura, dalle camere per degenza nei diversi reparti alle sale operatorie, dagli ambulatori alle unità di terapia intensiva, compresi i sistemi per la respirazione assistita. Fanno parte di tale categoria anche gli studi odontoiatrici all'interno dei quali sono valutati i riuniti;

strutture ricettive come hotel, case vacanza, B & B e campeggi, ma anche strutture a soggiorno temporaneo quali navi e treni; fanno parte di questa categoria gli stabilimenti termali nei quali, oltre a servizi come piscine e vasche idromassaggio, sono utilizzabili dagli ospiti anche apparecchi per aerosol e ossigenoterapia;





ambienti di vita comunitaria ovvero ambienti di lavoro e ambienti ricreativi come uffici, circoli sportivi, caserme, centri di accoglienza, carceri, aeroporti, scuole, cantieri;

abitazioni private.

I campionamenti svolti nel corso del 2023 in queste strutture sono stati richiesti dalle ASL in seguito alla segnalazione di un caso di legionellosi e la conseguente indagine epidemiologica, svolta dalle ASL, ha lo scopo di identificare la possibile fonte di infezione, stabilire se il caso sia collegato a un viaggio e, quindi, alla permanenza in strutture turistico-ricettive, se abbia origine nosocomiale o lavorativa, oppure se la malattia sia associata al domicilio del paziente. Inoltre, l'indagine epidemiologica ha lo scopo di valutare l'eventuale presenza di altri casi correlati alla stessa fonte di infezione e l'esistenza di altri soggetti esposti allo stesso rischio, per attuare adeguate misure di controllo del rischio e della contaminazione. Di fatto ancora nulla è cambiato rispetto alla variazione della normativa dal D.lgs. 31/01 al D.lgs. 18/23 per le attività che coinvolgono direttamente il laboratorio dell'ARPA Lazio. Inoltre, solo per alcune strutture sanitarie, sono raccolti anche dei campioni nell'ambito di procedure di autocontrollo.

Nella tabella che segue è riportato il numero complessivo dei campioni prelevati in ciascuna categoria di struttura nelle cinque province del Lazio. I medesimi dati sono visualizzati con un istogramma in Figura 4.

Tabella 3: numero di campioni analizzati nel 2023 per categoria di struttura

Provincia	Strutture sanitarie 	Strutture ricettive 	Ambienti di lavoro 	Abitazioni 
Frosinone	0	83	0	45
Latina	17	24	0	2
Roma	399	423	156	501
Rieti	1	96	0	91
Viterbo	0	51	5	24
TOTALE	417	677	161	753

In relazione al numero di interventi, intesi come sopralluoghi con campionamento, eseguiti nelle varie strutture, si osserva un ulteriore incremento rispetto al 2022, proseguendo il trend in aumento già osservato nel 2022. I 157 interventi del 2021 sono seguiti dai 221 del 2022 e, infine, dai 372 del 2023.

La distribuzione per provincia e il numero dei controlli effettuati per ciascuna delle suddette categorie sono riportati nella tabella che segue e in Figura 5. La gran parte dell'incremento degli interventi riguarda le abitazioni private, verificate dal personale ispettivo delle ASL nell'ambito delle indagini epidemiologiche, mentre il 2022 aveva rappresentato l'anno della ripresa delle attività turistiche dopo i due anni di emergenza sanitaria da Covid-19, con il conseguente aumento di casi associati a interventi eseguiti presso le strutture turistico-ricettive.

Figura 4: numero di campioni analizzati per categoria di struttura nelle 5 province regionali nel 2023

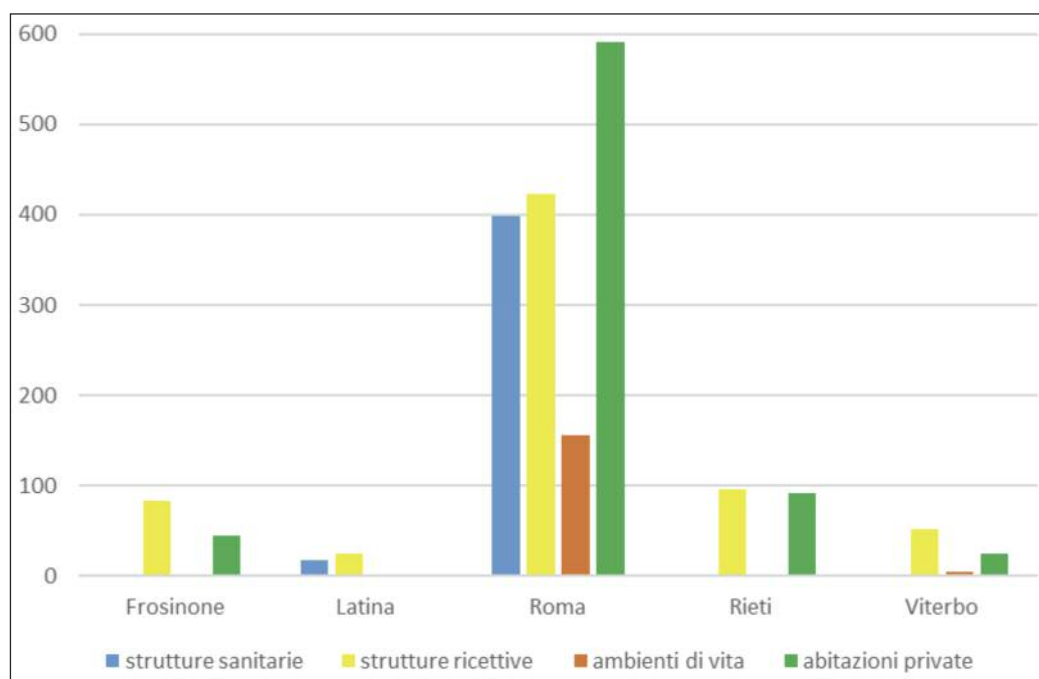


Tabella 4: numero di controlli effettuati per categoria di struttura: strutture sanitarie, strutture ricettive, ambienti di vita comunitaria, abitazioni private





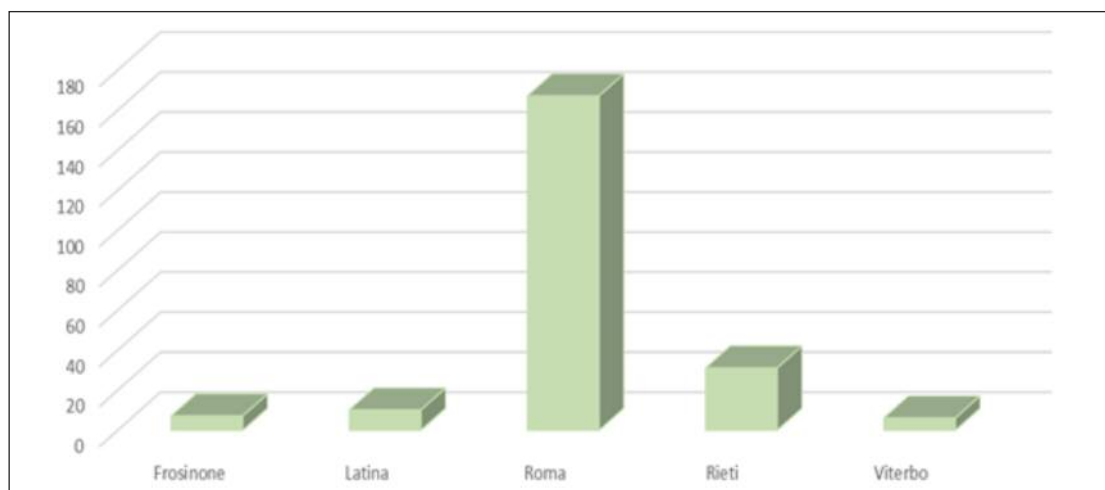
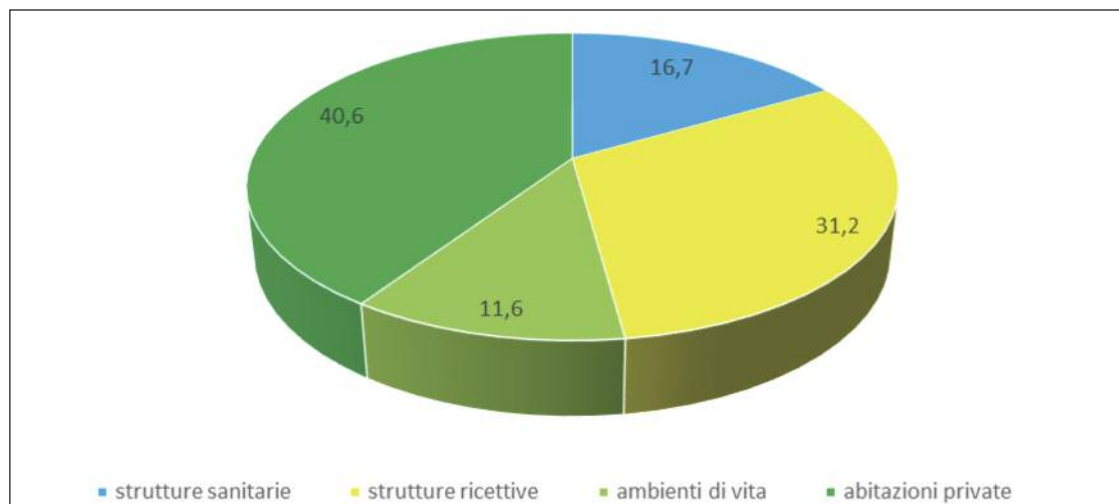
Provincia	Strutture sanitarie 	Strutture ricettive 	Ambienti di lavoro 	Abitazioni 
Frosinone	0	13	0	10
Latina	4	4	0	1
Roma	57	65	42	116
Rieti	1	23	0	19
Viterbo	0	11	1	5
TOTALE	62	116	43	151

Figura 5: numero di controlli con campionamento aggregati per ciascuna provincia eseguiti nel 2023



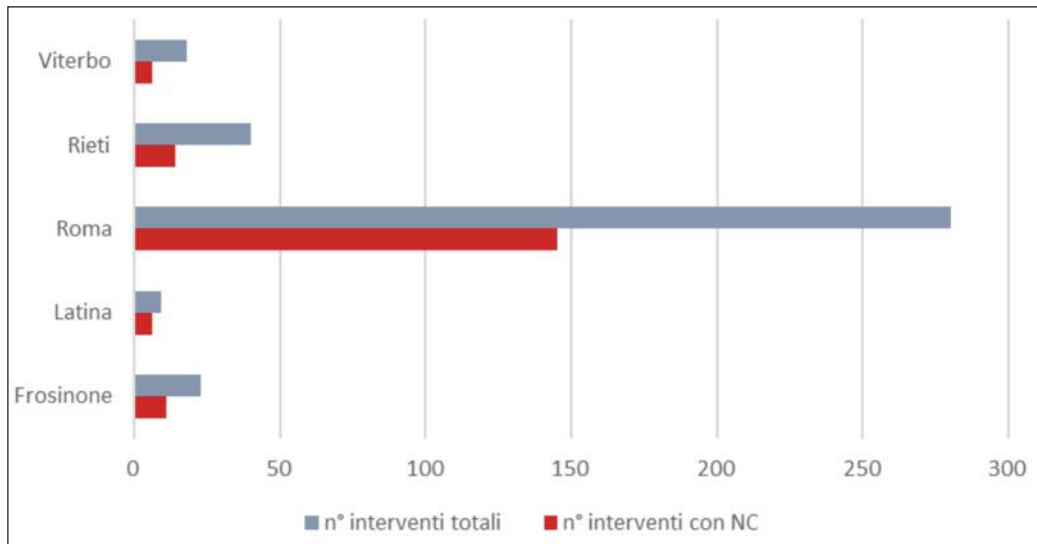
Con l'aggregazione di tutti i dati delle cinque province regionali, in Figura 6 sono riportate le percentuali relative agli interventi nelle diverse tipologie di strutture.

Figura 6: percentuale dei controlli effettuati nelle diverse categorie di strutture, per tutte le province della regione nel 2023



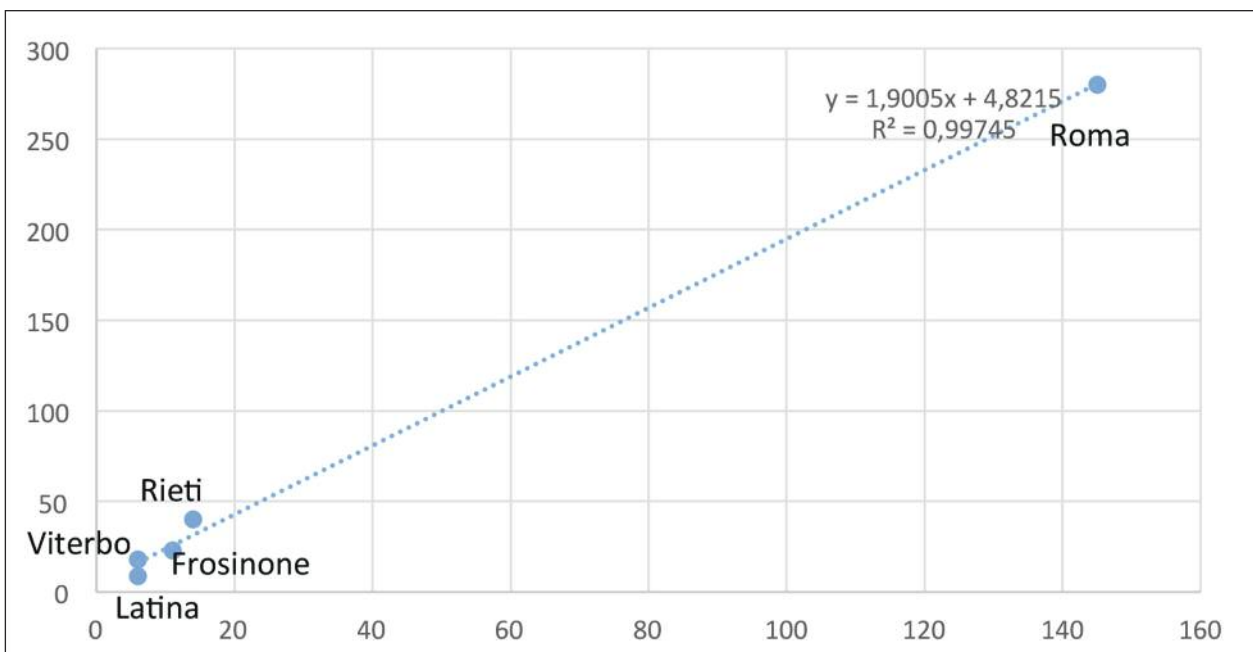
Il numero dei controlli per provincia in cui sia stato riscontrato almeno un campione non conforme è riportato in Figura 7. I numeri totali degli interventi eseguiti nelle varie province sono molto variabili, da 9 nella provincia di Latina a 280 nella provincia di Roma. Mediamente, in quasi il 50 % degli interventi si rileva almeno una non conformità.

Figura 7: Numeri assoluti dei controlli eseguiti presso ciascuna provincia, a confronto con il numero relativo degli interventi che hanno portato ad identificare anche una sola non conformità per presenza di Legionella spp. o di Legionella pneumophila



Provando a mettere in relazione queste due variabili, ovvero il numero totale di interventi eseguiti in ogni provincia, indipendentemente dalla tipologia di struttura indagata, e il numero di essi che abbia generato almeno un campione non conforme, emerge una correlazione molto alta ($R^2=0.9975$), del tutto evidente in Figura 8 e concorde con quanto osservato nel 2022.

Figura 8: Numero totale dei controlli conformi e dei controlli con almeno un campione non conforme, plottati per valutare il grado di correlazione.

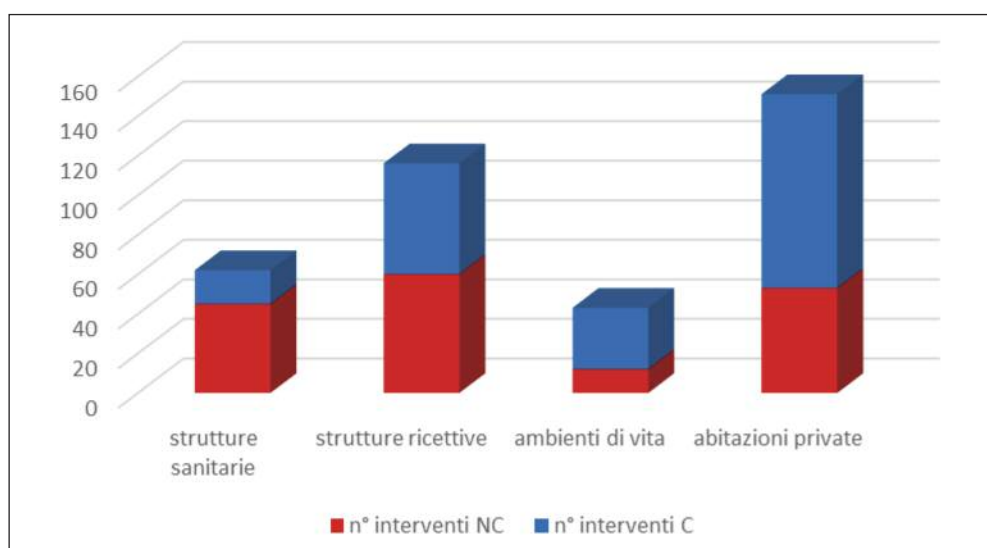


Tale risultato mette in evidenza come, con l'aumentare del numero dei controlli effettuati, cresca in maniera proporzionale il numero di non conformità rilevate, valutando il dato medio per ogni provincia su tutte le strutture indagate. Questo risultato rende evidente il ruolo delle attività di controllo come strumento di prevenzione del rischio da legionellosi. Tale dato è completamente confermato anche se si considerano gli esiti analitici dei singoli campioni analizzati, mettendo in relazione il numero di campioni analizzati e il numero dei campioni non conformi (vedi dati di Tabella 1): in questo caso R^2 arriva a 0.9994.

Questa forte correlazione risulta di facile comprensione dal momento che, ad eccezione dei controlli eseguiti nelle strutture sanitarie a scopo preventivo (in regime di autocontrollo), tutti gli altri interventi sono stati svolti in seguito a un caso di legionellosi. Di grande interesse saranno i dati in seguito all'effettivo recepimento dei piani di controllo eseguiti negli edifici prioritari, così come definiti nel D.lgs. 18/23, vista la "casualità" del campione.

Se invece si valutano i medesimi dati per ogni tipologia di struttura, aggregata a livello regionale, i risultati sono diversi (Figura 9). Strutture sanitarie e strutture ricettive sono le tipologie di struttura presso le quali è stato osservato il maggior numero di controlli associato ad almeno una non conformità, rispettivamente nel 73% e nel 52% dei casi, seguite dalle abitazioni private nel 35% dei casi e nel 28% dei casi negli ambienti di vita.

Figura 9: Numero dei controlli conformi e non conformi per categoria di struttura



Questo risultato non mette in evidenza correlazioni tra il numero totale degli interventi eseguiti e il numero di essi che abbiano generato almeno un campione non conforme ma, anzi, sembra suggerire che alcune tipologie di strutture siano associate a un maggior rischio rispetto ad altre. In particolare, sembrerebbe che proprio alle strutture sanitarie e alle strutture ricettive sia associato il maggior rischio di legionellosi. Questo dato è coerente con quanto osservato negli anni precedenti.



2. LA PROVINCIA DI ROMA

I campioni prelevati nelle diverse strutture della provincia di Roma sono più dell'78% del totale dei campioni analizzati in Agenzia (Tabella 1).

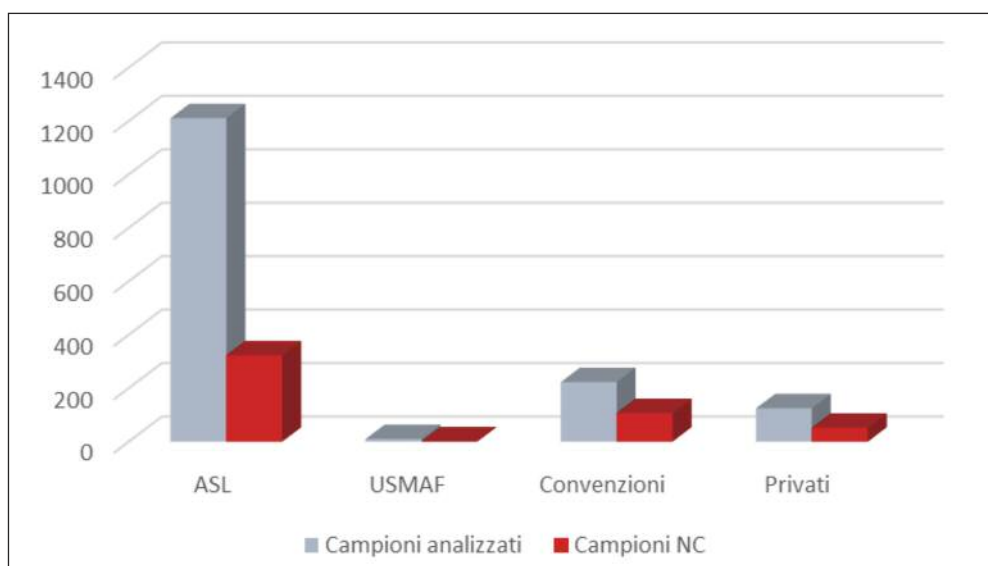
Nel corso del 2023 i campioni sono stati prelevati dal personale dell' ARPA Lazio su richiesta della ASL o direttamente dalle ASL, dall'USMAF (Uffici di Sanità Marittima, Aerea e di Frontiera), dai privati per il loro piano di autocontrollo o in seguito a bonifica (Tabella 5 e Figura 10). Inoltre, anche nell'anno 2023 la ASL Roma 5 ha rinnovato con l'ARPA Lazio una convenzione che prevede il monitoraggio per la ricerca di Legionella in 10 strutture ospedaliere a scopo preventivo e con cadenza stabilita, trimestrale o semestrale.

Come già ricordato per i dati regionali, anche in seno alla provincia di Roma i campioni prelevati dalla ASL, nel corso di attività congiunte con l'ARPA Lazio o dalla sola ASL, sono stati tutti raccolti in seguito a caso e sono notevolmente aumentati rispetto all'anno precedente (+80%). Tale aumento potrebbe essere dipeso anche dagli eventi di formazione organizzati dall'ARPA Lazio per il personale ispettivo delle ASL in tema di campionamento della Legionella, fatto che ha portato a un aumento di interventi con campionamento eseguiti dal solo personale della ASL.

Tabella 5: numero dei campioni totali della provincia di Roma effettuati per i privati, per le ASL e in regime di convenzione per il controllo delle strutture ospedaliere e per l'USMAF

Provenienza dei campioni della provincia di Roma	Numero dei campioni analizzati	Numero campioni non conformi (NC)
Privati	125	52
Convenzioni	223	107
ASL	1211	323
USMAF	10	1
TOTALE	1569	483

Figura 10: numero dei campioni conformi e non conformi nella provincia di Roma effettuati per i privati, in regime di convenzione, per il controllo eseguito dall'USMAF o dalle ASL



Nell'ambito del territorio della provincia di Roma è stata osservata una disomogeneità. Il maggior numero di campioni è stato prelevato nel territorio di competenza della ASL RM 2 (circa il 39 % del totale), seguito da quelli prelevati nel territorio della ASL RM 1 (23 % del totale), quelli in seno alla ASL RM 4 (15 %) e, a seguire, ASL RM 6, ASL RM 5 e ASL RM 3 (5.5% del totale).

Tabella 6: numero dei campioni totali analizzati per ciascuna ASL presente sul territorio provinciale di Roma a seguito di casi di legionellosi, e numero e percentuale dei campioni non conformi sul totale

Provincia	Campioni per provincia	Campioni non conformi	Percentuale dei campioni non conformi
ROMA 1	278	124	44,6
ROMA 2	471	93	19,7
ROMA 3	67	29	43,3
ROMA 4	186	50	26,9
ROMA 5	78	9	11,5
ROMA 6	131	18	13,7
TOTALE	1211	323	

La disomogeneità descritta potrebbe riflettere differenze territoriali, sia in termini di estensione, che in termini di numerosità della popolazione ed infine in termini di distribuzione delle strutture turistico-ricettive, ma anche differenze nella modalità di gestione dei casi da parte delle diverse ASL. Anche a tale proposito si ribadisce che delle linee di indirizzo condivise a livello regionale renderebbero i dati di più facile comprensione.

Figura 11: numero dei campioni conformi e non conformi nella provincia di Roma analizzati a seguito di richiesta delle AASSLL in seguito a casi di legionellosi.

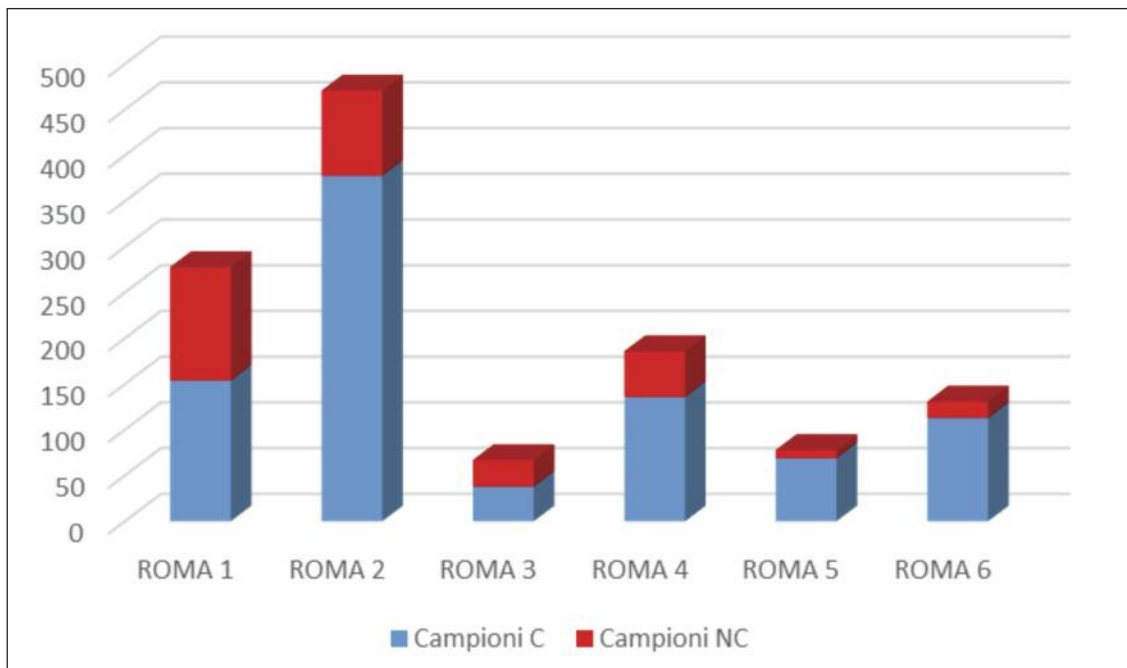
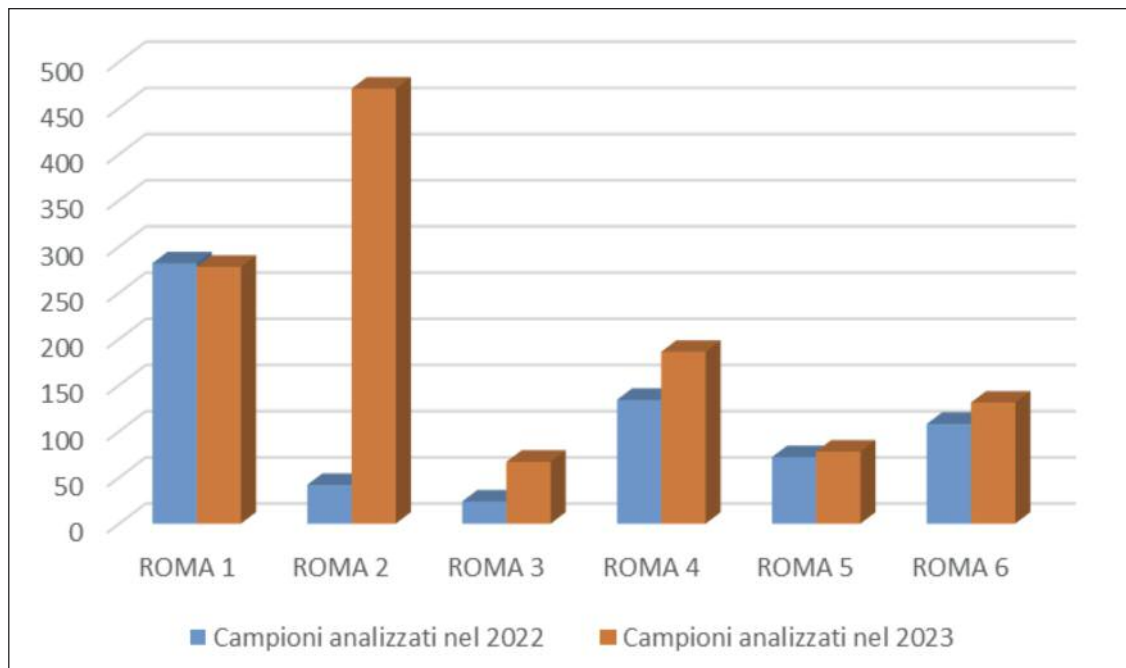


Figura 12: numero dei campioni analizzati in seguito a richiesta da parte della ASL nella provincia di Roma relativamente agli anni 2022 e 2023



Nella figura 12 sono riportati i dati degli ultimi 2 anni: mentre il numero di campioni prelevati e analizzati in seguito a richieste della ASL RM 1 è pressoché invariato, i numeri di tutte le altre AASSLL sono aumentati, anche in maniera considerevole (es. ASL RM 2). Sembrerebbe quindi che il nuovo assetto dei dati possa dipendere anche da una aumentata attività in seno ad alcune ASL.

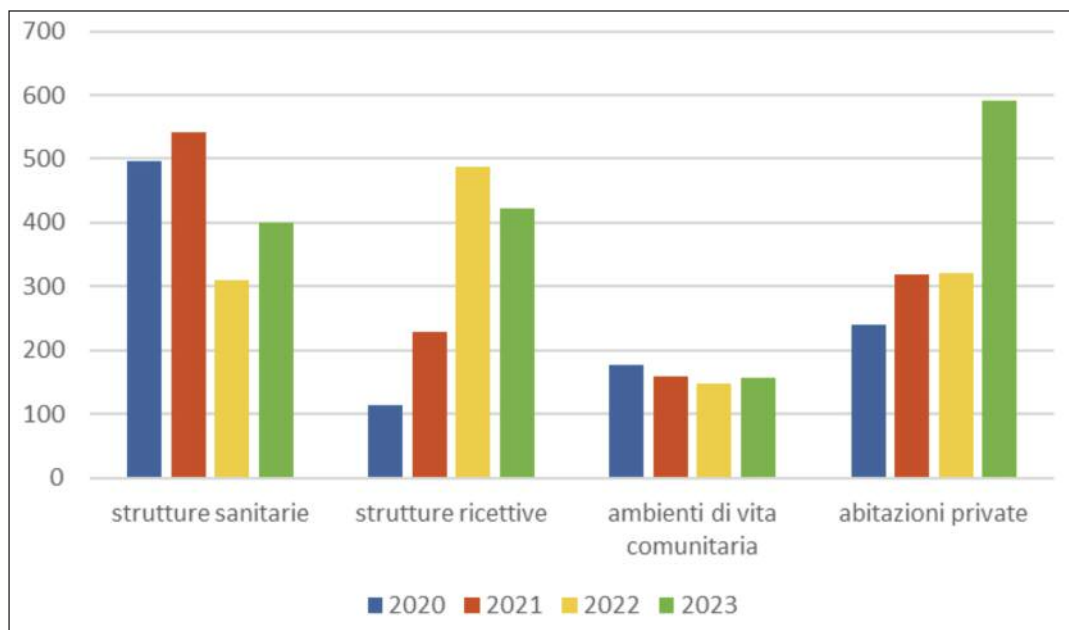
Nel corso del 2023 sono stati eseguiti interventi in seguito a dieci cluster, di cui nove associati a strutture turistico ricettive, uno in una casa di riposo; uno in seguito a decesso. In tutti i casi di cluster e di decesso il LRR dell'ARPA Lazio invia gli isolati al LRN presso l'ISS per l'eventuale *match* con il dato clinico. Soprattutto in questi casi, al fine di dare tempestiva risposta alla ASL richiedente, le analisi sono state condotte anche con tecniche di rt-PCR. 40 campioni sono stati prelevati con doppio volume di acqua, in modo da poter eseguire dapprima l'analisi con tecnica molecolare e, nei casi di presenza di DNA di Legionella, anche con tecnica colturale, per fornire il dato in UFC/L richiesto per le valutazioni di rischio.



3. CONSIDERAZIONI FINALI

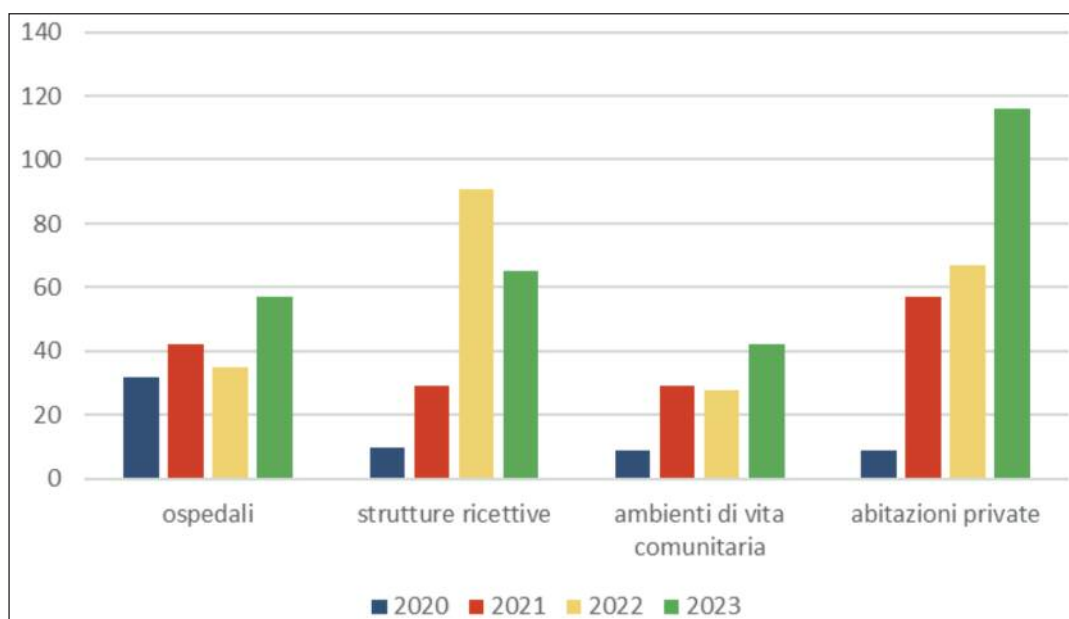
Nel corso del 2023 è stato registrato un notevole incremento del numero di campioni analizzati (da 1267 a 2008) ed è proseguito il trend di crescita del numero di interventi (Figure 13 e 14).

Figura 13: confronto tra gli anni 2020, 2021, 2022 e 2023 per il numero dei campioni ambientali per la ricerca della Legionella analizzati dall'ARPA Lazio per categoria di struttura



Mentre presso il laboratorio di Roma e di Latina il personale dell'ARPA è stato coinvolto nel prelievo rispettivamente del 52% e del 100% dei campioni, presso le altre sedi l'attività di campionamento è stata del tutto assente nel 2023.

Figura 14: confronto tra gli anni 2020, 2021, 2022 e 2023 per il numero degli interventi di controllo per la ricerca della Legionella analizzati dall'ARPA Lazio per categoria di struttura



L'aumento di interventi eseguiti nel corso del 2022, con particolare riferimento a quelli che hanno coinvolto le strutture turistico-ricettive, è evidentemente correlato alla ripresa del turismo nella fase post pandemica, unitamente al probabile mancato rispetto delle corrette prassi di manutenzione degli impianti idrici alla riapertura delle strutture. Il considerevole aumento dei campioni (e degli interventi) nel 2023 sembrerebbe legato soprattutto all'aumento dei controlli eseguiti presso le civili abitazioni, che erano molto diminuiti negli ultimi anni.

Secondo i dati riportati su EpiCentro.it, l'incidenza della legionellosi in Italia nel 2022 è risultata pari a 51,9 casi per milione di abitanti, con un incremento rispetto all'anno precedente (46,0/1.000.000) e un ritorno ai valori di incidenza precedenti alla pandemia di COVID-19 (Figura 15). Tuttavia, si continua a osservare un gradiente Nord-Sud con valori pari a 78,7 casi per milione al Nord, 55,6 per milione al Centro e 14,4 per milione al Sud. L'età media dei pazienti è di 68 anni (DS = 14,4), con un intervallo compreso tra 0 e 100 anni. Inoltre, l'analisi in base alla distribuzione per età dimostra che oltre il 70% dei casi ha almeno 60 anni. Il 68,1% dei casi di legionellosi è di sesso maschile e il rapporto maschi/femmine è di 2,2:1.

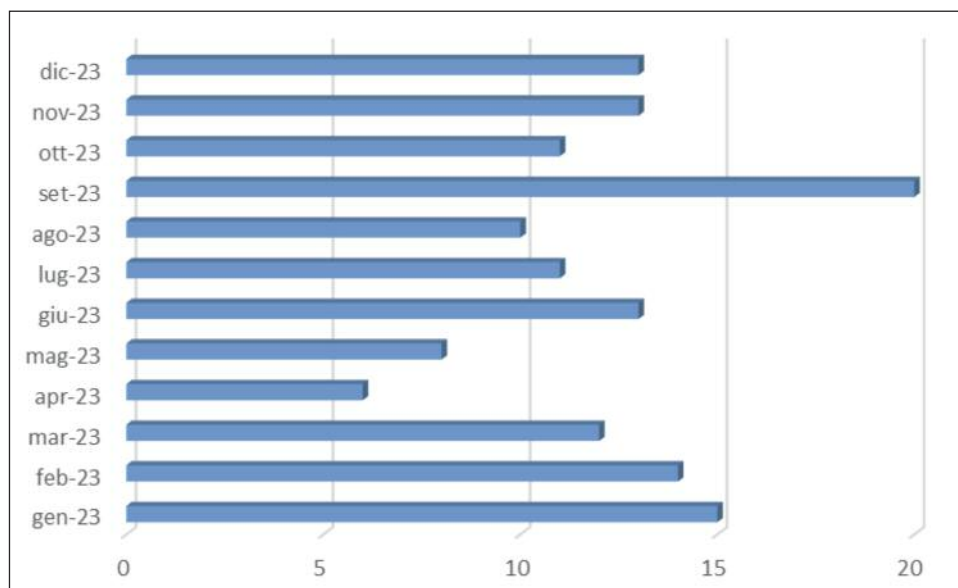
L'elevato numero di casi registrati evidenzia come la gestione dell'acqua negli edifici sia pubblici che privati sia spesso trascurata o inadeguata e come sia carente un'adeguata formazione dei gestori o degli amministratori degli edifici e dei tecnici del settore. In particolare, nel 2022 si è registrato quasi un raddoppio dei cluster di legionellosi associati con strutture ricettive rispetto all'anno precedente (da EpiCentro.it).

Figura 15: numero di casi e tasso di incidenza di legionellosi in Italia dal 1997 al 2022 (per milione di abitanti) - dati EpiCentro.it



Si evidenzia inoltre che, a causa dell'andamento stagionale della malattia e del tempo di latenza tra l'insorgere del caso, la sua segnalazione e la comunicazione al laboratorio, si è determinato un carico di lavoro non omogeneo nell'anno e il numero già così elevato di interventi (146, in progressivo aumento), si è concentrato in alcuni mesi, settembre in primis, seguito da gennaio, febbraio, giugno, novembre e dicembre. Si veda a tal proposito la Figura 16, che riporta il numero di interventi con sopralluogo effettuati in ogni mese del 2023 dal personale tecnico del Laboratorio di Roma, con mesi che superano i 12 interventi/mese, ovvero squadre in campionamento per 3-4 giorni a settimana come dato medio.

Figura 16: numero degli interventi di controllo eseguito dal personale dell'ARPA Lazio per mese dell'anno 2023



Infine, nella tabella che segue si riporta la serie storica dal 2010 al 2023 dei campioni analizzati presso il Laboratorio di riferimento regionale di Roma. Il numero di campioni analizzati per ciascun anno ha subito delle importanti variazioni, descritte in maniera evidente nella Figura 17, così come è variata la percentuale dei campioni non conformi.

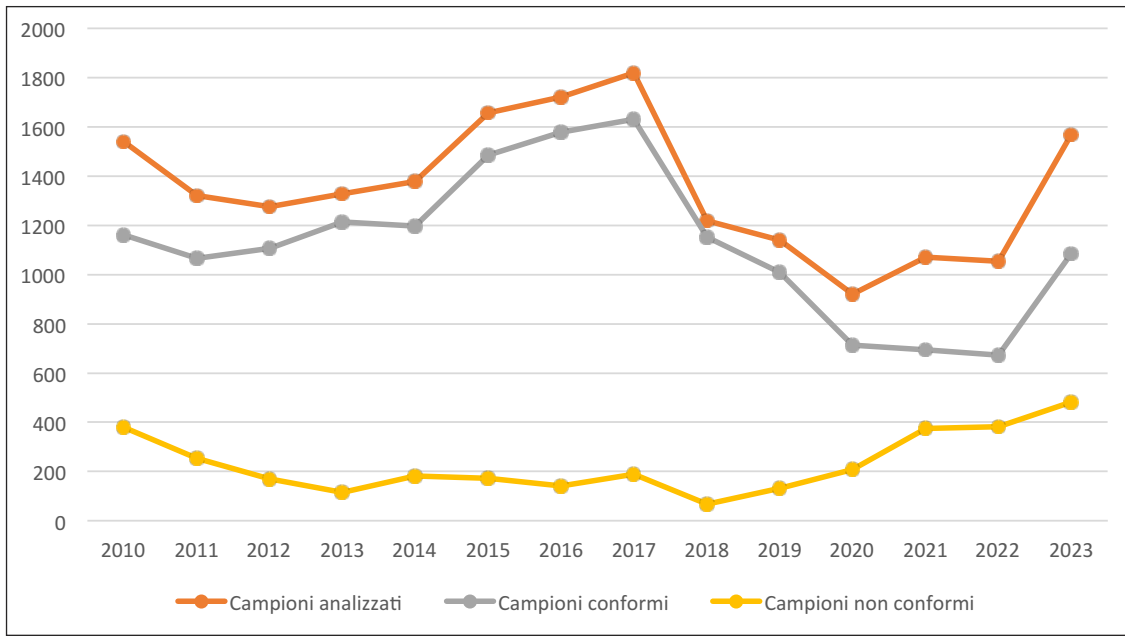
Tabella 7: numero totale di campioni per anno per i quali si riportano i campioni conformi e non conformi, nonché la percentuale relativa di campioni non conformi nel periodo 2010 – 2023

Anno	Campioni analizzati	Campioni conformi	Campioni non conformi	% di campioni non conformi
2010	1541	1162	379	24,60%
2011	1320	1067	253	22,60%
2012	1276	1107	169	13,20%
2013	1328	1213	115	8,70%
2014	1379	1197	182	13,20%
2015	1658	1486	172	10,40%
2016	1721	1579	142	8,30%
2017	1820	1630	190	10,40%
2018	1218	1151	67	5,50%
2019	1140	1009	131	11,50%
2020	920	713	207	22,50%
2021	1070	695	375	35,10%
2022	1055	672	383	36,30%
2023	1569	1086	483	30,78%

Si possono così apprezzare gli andamenti, pressoché paralleli, delle linee che descrivono i campioni analizzati e i campioni conformi, nonché il trend in continua crescita dei campioni non conformi dal 2018 in avanti, nonostante la diminuzione del numero totale dei campioni prelevati nello stesso pe-

riodo. La caduta osservata dal 2017 ha anche coinciso con la diminuzione degli interventi eseguiti presso le civili abitazioni, che il nostro laboratorio ha dovuto escludere dalle proprie attività per carenza di organico. Tale attività sembra passata nel 2023 nelle mani delle ASL, tanto da portare a un aumento consistente di campioni.

Figura 17: numero di campioni analizzati, rilevati conformi e non conformi negli anni 2010-2022 presso il Laboratorio di riferimento regionale di Roma



Dal punto di vista analitico, il metodo di prova dal 2020 è diventato quello previsto dalla norma UNI EN ISO 11731:2017: tale metodo permette di rilevare la presenza di Legionella anche in campioni "difficili", grazie ai diversi trattamenti e ai diversi terreni di coltura, aumentando di fatto la sensibilità del metodo. Auspichiamo quindi, con l'introduzione della metodica di real time PCR, una sempre maggiore capacità di rilevazione di questo patogeno da parte del Laboratorio.

Inoltre, l'incremento descritto sembrava nel 2020 dovuto al cambiamento della distribuzione del numero di campioni nelle diverse tipologie di strutture, verificatosi in seguito alla pandemia: si era registrata, infatti, una notevole riduzione dei controlli nelle strutture ricettive (-65%) come pure, sebbene meno consistente, nelle abitazioni private (-20%) e negli ambienti di vita comunitari (-40%); pressoché invariato era rimasto il numero di controlli nelle strutture sanitarie. Passando però al 2021, il grande aumento di interventi eseguito sembra avere portato alla luce un maggior numero di non conformità e nel 2022 la linea di tendenza è proseguita con il notevole aumento di interventi presso le strutture turistico ricettive e anche nelle civili abitazioni. Il 2023 è stato l'anno delle civili abitazioni, che hanno visto un forte aumento di controlli e di campioni (+134%).

Tutti i dati in nostro possesso indicano in maniera evidente l'utilità dei sistemi di controllo nella prevenzione della legionellosi.

Si evidenzia, tuttavia, che a tutt'oggi i controlli sono pressoché limitati alle indagini epidemiologiche in seguito a casi e pochi rimangono gli interventi di vero e proprio autocontrollo, come nel caso dei presidi ospedalieri che insistono nel territorio di competenza della ASL RM 05, nell'ambito delle attività in convenzione.

Certamente, l'aggiornamento normativo imposto dal D.lgs. 18/2023, con i suoi tempi di adeguamento, porterà ad un aumento dei controlli e a una maggiore responsabilizzazione da parte dei gestori di strutture catalogate con le diverse classi di priorità (GIDI). Il regime sanzionatorio istituito dal decreto certamente contribuirà alla realizzazione di una vera prevenzione.

Il rapporto di attiva e mutua collaborazione tra il Laboratorio di riferimento regionale dell'Agencia e le strutture sanitarie competenti, nonché il coordinamento a livello regionale, dovrebbero portare prossimamente ad una armonizzazione dei sistemi di intervento tra le varie ASL, almeno in seno alla provincia di Roma, ad esempio attraverso il recepimento delle linee guida a livello regionale.



BIBLIOGRAFIA

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2018 - *Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura*

UNI EN ISO 11731: 2017 - *Qualità dell'acqua - Conteggio di Legionella*

Ministero della Salute, *Linee guida per il controllo e la prevenzione della legionellosi*, 2015

Direttiva (UE) 2020/2184 del Parlamento europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2020 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, GU L 435 del 23.12.2020

Decreto legislativo 2 febbraio 2001, n. 31, *Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano*, (GU n. 52 del 03-03-2001, S.O. n. 41)

Decreto legislativo 23 febbraio 2023, n. 18, *Attuazione della direttiva (UE) 2020/2184 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2020, concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano*, (GU n. 55 del 06-03-2023)

ISO/TS 12869: 2019 - *Water quality — Detection and quantification of Legionella spp. and/or Legionella pneumophila by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR)*

Istituto Superiore di Sanità, Rapporto ISTISAN 22/32 - *Linee guida per la valutazione e la gestione del rischio per la sicurezza dell'acqua nei sistemi di distribuzione interni degli edifici prioritari e non prioritari e in talune navi ai sensi della Direttiva (UE) 2020/2184*, 2023

