

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Un'epidemia di legionellosi
nel IX Municipio del Comune di Roma**

Rapporto dell'indagine epidemiologica e ambientale

A cura di

Maria Cristina Rota (a), Giuseppe Pontrelli (a), Antonino Bella (a),
Anna Rita Bellomo (b), Maria Scaturro (c), Massimo Oddone Trinito (d),
Sofia Graziani (c), Maria Losardo (c), Stefania Salmaso (a) e Maria Luisa Ricci (c)

*(a) Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) Dipartimento di Medicina Preventiva, ASL Roma D, Roma

*(c) Dipartimento Malattie Infettive Parassitarie e Immunomediate,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) UO Epidemiologia e Sistema Informativo, Dipartimento di Prevenzione, ASL Roma C, Roma

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

04/16

Istituto Superiore di Sanità

Un'epidemia di legionellosi nel IX Municipio del comune di Roma. Rapporto dell'indagine epidemiologica e ambientale.

A cura di Maria Cristina Rota, Giuseppe Pontrelli*, Antonino Bella, Anna Rita Bellomo**, Maria Scaturro, Massimo Oddone Trinito, Sofia Graziani, Maria Losardo, Stefania Salmaso e Maria Luisa Ricci
2004, 24 p. Rapporti ISTISAN 04/16

Nel periodo agosto-ottobre 2003 nel IX Municipio della città di Roma si è verificata un'epidemia di legionellosi (15 casi). Al fine di individuare una possibile fonte comune di esposizione dei casi, sono stati effettuati campionamenti ambientali per la ricerca di *Legionella pneumophila* in diversi siti individuati attraverso interviste ai pazienti. È stato inoltre condotto uno studio caso-controllo appaiato. Per stimare le reali dimensioni dell'epidemia è stata effettuata un'analisi delle schede di dimissione ospedaliera dei pazienti ricoverati per infezioni polmonari presso l'ospedale San Giovanni-Addolorata nel periodo luglio-ottobre 2003 e i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti nello stesso periodo dei tre anni precedenti. Sia l'indagine ambientale sia i risultati dello studio caso-controllo hanno identificato come fonte dell'infezione un grande esercizio commerciale situato nel IX Municipio. Inoltre il notevole incremento dei ricoveri ospedalieri per polmonite registrato nel periodo luglio-novembre 2003 fa supporre che un certo numero di casi classificati come polmonite ad eziologia non specificata sia in realtà riconducibile ad un'infezione da Legionella.

Parole chiave: legionellosi, epidemia, campionamento ambientale, studio caso-controllo

Istituto Superiore di Sanità

A cluster of Legionnaires' disease in the 9th district of the Municipality of Rome. Epidemiological and environmental investigation report.

Edited by Maria Cristina Rota, Giuseppe Pontrelli, Antonino Bella, Anna Rita Bellomo, Maria Scaturro, Massimo Oddone Trinito, Sofia Graziani, Maria Losardo, Stefania Salmaso and Maria Luisa Ricci
2004, 24 p. Rapporti ISTISAN 04/16 (in Italian)

In the period August-October 2003, 15 cases of legionnaires' disease were detected in the 9th district of the Municipality of Rome. In order to identify residents' exposure to possible sources of Legionella, environmental samples were collected in several sites and a matched case-control study was conducted. In addition, to estimate the true magnitude of the outbreak, a retrospective analysis of hospital discharge records was carried out for the period July-October 2003 in the main district hospital. Results were compared with the same period of the three previous years. Environmental investigation identified as source of infection the cooling tower of a department store located in the 9th district and also the case-control study showed an association between the disease and frequenting the same department store. The increased number of hospital admissions for pneumonia due to non specified bacteria in the study period suggests that a certain number of legionellosis cases was not identified.

Key words: legionellosis, cluster, environmental sampling, case-control study

* Tirocinante della Scuola di specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva, Università di Tor Vergata, Roma.

** Partecipante al Master Profea (Programma di Formazione in Epidemiologia Applicata) presso il Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Si ringraziano Carlo Cerocchi e i suoi collaboratori del Servizio di Igiene e Sanità Pubblica dell'ASL Roma C per la condivisione delle informazioni raccolte durante le indagini preliminari. Si ringraziano inoltre Vilma Comerci e Stefania di Roma dell'Azienda Ospedaliera San Giovanni-Addolorata per aver fornito i dati del Sistema Informativo Ospedaliero e i medici di medicina generale del IX Municipio per il loro supporto nella selezione del campione durante lo studio caso-controllo.

Per informazioni su questo documento scrivere a:

rota@iss.it (per la sorveglianza epidemiologica), marialuisa.ricci@iss.it (per la sorveglianza batteriologica)

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sandra Salinetti e Sara Modigliani*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2004

INDICE

Introduzione	1
Metodi	2
Definizione di caso	2
Caso accertato	2
Caso presunto	2
Studio caso-controllo	2
Reclutamento di casi e controlli	2
Raccolta dei dati.....	3
Analisi dei dati	3
Indagine ambientale.....	4
Tipizzazione.....	4
Diagnosi sierologica e microbiologica.....	6
Ricerca di ulteriori casi e stima della reale dimensione dell'epidemia	6
Risultati	7
Analisi descrittiva dei casi	7
Studio caso-controllo	9
Indagine microbiologica e ambientale	10
Tipizzazione.....	12
Ricerca di ulteriori casi e stima della reale dimensione dell'epidemia	13
Misure di controllo	15
Conclusioni e raccomandazioni	16
Bibliografia	19

INTRODUZIONE

“Legionellosi” è la definizione di tutte le forme morbose causate da batteri gram-negativi aerobi del genere *Legionella*. Essa si può manifestare sia in forma di polmonite, sia in forma febbrile extrapolmonare, sia in forma subclinica. La specie più frequentemente coinvolta in casi umani è *Legionella pneumophila* anche se altre specie sono state isolate da pazienti con polmonite. L'unico serbatoio naturale di *Legionella* è l'ambiente. Dal serbatoio naturale (ambienti lacustri, corsi d'acqua, acque termali, ecc.) il germe passa nei siti che costituiscono il serbatoio artificiale (acqua condottata cittadina, impianti idrici dei singoli edifici, piscine, ecc.). Fattori predisponenti la malattia sono l'età avanzata, il fumo di sigaretta, la presenza di malattie croniche, l'immunodeficienza. La malattia viene normalmente acquisita per via respiratoria mediante inalazione di aerosol contenente Legionelle, oppure di particelle derivate per essiccamento.

Le infezioni da *Legionella* spp. sono considerate un problema emergente in sanità pubblica. Dal 1983 queste infezioni sono sottoposte a sorveglianza speciale (1) dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) attraverso il Registro Nazionale della legionellosi che raccoglie le informazioni anagrafiche, cliniche e epidemiologiche di ogni singolo caso. Tra gli obiettivi del sistema di sorveglianza ci sono il monitoraggio della frequenza di legionellosi sia dal punto epidemiologico che clinico-nosologico, lo studio dei fattori di rischio per l'acquisizione della malattia, l'identificazione di eventuali variazioni nell'andamento temporale e geografico della patologia e l'identificazione tempestiva di focolai di legionellosi dovuti a contaminazione ambientale, nonché l'identificazione dei sierotipi e biotipi di *Legionella* spp. circolanti nel paese.

Nel periodo 15 agosto-2 settembre 2003 sono state segnalate al sistema di sorveglianza speciale della legionellosi 7 casi di infezione da *Legionella pneumophila*, tutti riguardanti soggetti residenti nel IX Municipio della città di Roma. L'aggregazione spaziale dei casi e l'assenza di fattori di rischio specifici suggerivano la presenza di una fonte comunitaria di infezione. Il IX Municipio comprende i quartieri Appio-Latino, Metronio e Tuscolano ed ha una superficie di circa 8 km² in cui vive una popolazione di circa 135.000 abitanti. Il sospetto di essere in presenza di un *cluster* di casi di legionellosi è stato confermato da un confronto con il numero di casi diagnosticati negli anni precedenti nella stessa area che ha evidenziato un cospicuo incremento dell'incidenza.

In accordo con la Azienda Sanitaria Locale (ASL) Roma C, e con l'Agenzia di Sanità Pubblica del Lazio, si è deciso di effettuare un'indagine epidemiologica e ambientale.

È stato quindi affidato ai tecnici dell'Agenzia Regionale per l'Ambiente (ARPA) e del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate dell'ISS l'incarico di procedere in doppio ai campionamenti ambientali, e contemporaneamente il Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute dell'ISS ha intrapreso, in collaborazione con la ASL Roma C, uno studio analitico di tipo caso-controllo con lo scopo di individuare e analizzare eventuali sorgenti comuni di infezione.

Nelle settimane successive sono giunte altre 8 notifiche di infezione da *Legionella pneumophila* diagnosticate in residenti del IX Municipio, portando a 15 il totale dei casi notificati dal 15 agosto al 18 ottobre.

Per stimare la reale estensione dell'epidemia e tenere conto di quadri clinici compatibili ma non etiologicamente confermati, è stato inoltre effettuato uno studio sulle Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO) dei pazienti ricoverati per infezioni polmonari nell'ospedale di zona in cui sono stati ricoverati 13 dei 15 casi notificati.

METODI

Definizione di caso

Poiché non vi sono sintomi o segni o loro combinazioni specifiche della Malattia dei Legionari, la diagnosi clinica deve essere confermata dalle prove di laboratorio. Ai fini dell'indagine i pazienti sono stati classificati in casi accertati e casi presunti utilizzando la definizione di caso dello *European Working Group on Legionella Infections* (EWGLI) (2).

Caso accertato

Infezione acuta delle basse vie respiratorie con segni di polmonite focale rilevabili all'esame clinico e/o esame radiologico suggestivo di interessamento polmonare, accompagnati dalla positività di uno o più dei seguenti test di laboratorio:

1. isolamento di *Legionella* spp. da materiale organico (secrezioni respiratorie, broncolavaggio, tessuto polmonare, essudato pleurico, essudato pericardico, sangue);
2. aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico verso *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, rilevato sierologicamente mediante immunofluorescenza o microagglutinazione tra due sieri prelevati a distanza di almeno 10 giorni;
3. rilevamento dell'antigene specifico solubile nelle urine.

Caso presunto

Infezione acuta delle basse vie respiratorie con:

1. aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale specifico, relativo a sierogruppi o specie diverse da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1;
2. positività all'immunofluorescenza diretta con anticorpi monoclonali o policlonali di materiale patologico;
3. singolo titolo anticorpale elevato ($\geq 1:256$) verso *Legionella pneumophila* sierogruppo 1.

Studio caso-controllo

Reclutamento di casi e controlli

Tutti i pazienti con diagnosi di legionellosi confermata o presunta e residenza nel IX Municipio sono stati inclusi nello studio. La selezione dei controlli è stata eseguita per ogni caso tra la popolazione di assistiti dei 13 medici di medicina generale del IX Municipio a cui i casi appartenevano. Tale popolazione era costituita complessivamente da 15.999 assistiti.

I controlli sono stati appaiati ai casi secondo i criteri di seguito riportati:

- sesso
- età (+/- 5 anni)
- residenza in un raggio di circa 300 metri dall'abitazione del caso.

Complessivamente la popolazione di riferimento per la selezione del campione, considerando i criteri di appaiamento, era costituita da 544 soggetti. Tra questi sono stati esclusi coloro che, a detta del medico curante, presentavano limitazioni alla deambulazione tali da

impedire la possibilità di esposizione o deficit cognitivi tali da rendere inattendibili le risposte al questionario. La presenza di sintomi di malattia respiratoria (febbre > 38 °C, tosse, malessere generalizzato) ha costituito un criterio di esclusione dal reclutamento tra i controlli. Sono stati quindi contattati telefonicamente i soggetti arruolabili secondo una lista ordinata in modo casuale.

Un ulteriore criterio di eleggibilità, che veniva verificato durante il contatto telefonico, è stato la permanenza nel luogo di residenza per almeno 8 delle 12 settimane comprese tra il 28 luglio e il 19 ottobre (periodo di probabile esposizione dei casi). Ogni controllo non rintracciabile dopo 3 telefonate effettuate ad orari diversi nell'arco di 2 giorni è stato sostituito dal successivo nominativo in lista.

Per ogni caso sono stati selezionati in modo casuale semplice 4 controlli appaiati, per un totale di 56 controlli.

Raccolta dei dati

I casi e i controlli sono stati intervistati utilizzando un questionario standardizzato, aggiuntivo rispetto alla scheda prevista dal Registro Nazionale di sorveglianza, che indagava su una serie di fattori di rischio personali, comportamentali e ambientali (Allegato). Tale questionario è stato somministrato telefonicamente sulla base di uno studio pilota effettuato per valutare la modalità preferita di partecipazione dei controlli.

Il questionario era composto da diverse sezioni: la prima raccoglieva informazioni personali necessarie a stabilire l'eleggibilità e riguardanti il periodo di permanenza a Roma e la presenza di una malattia respiratoria; la seconda era dedicata all'anamnesi patologica prossima e remota (con riferimento a malattie croniche, neoplasie o trapianti di organo, terapia con corticosteroidi o chemioterapia) e a fattori di rischio generici come il fumo e l'assunzione di alcolici. La terza indagava un'eventuale esposizione sul luogo di lavoro o di residenza (tipo di impianto di produzione dell'acqua calda, presenza di impianto di condizionamento d'aria), mentre l'ultima era mirata a raccogliere informazioni sulle abitudini sociali. In quest'ultima sezione, finalizzata all'individuazione di una possibile fonte d'infezione, venivano elencati esercizi commerciali e vie del quartiere frequentati dai casi, così come da loro riferito nelle interviste preliminari, nel periodo prima considerato.

I casi sono stati intervistati personalmente durante il ricovero o al loro domicilio subito dopo la dimissione ospedaliera; i controlli sono stati invece intervistati telefonicamente. Le interviste sono state effettuate da tre medici, appartenenti al Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute e alle ASL Roma C e Roma D che hanno utilizzato un testo standardizzato.

Analisi dei dati

I dati dello studio caso-controllo sono stati inseriti in un database sviluppato in ambiente MSAccess 2000 e analizzati con EpiInfo 3.2 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC; Atlanta) presso il Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute. È stata effettuata un'analisi descrittiva dei casi e un'analisi dei principali fattori di rischio generici e ambientali tra i casi e i controlli. Tutte le variabili di esposizione che esprimono la frequentazione degli esercizi commerciali e delle strade del quartiere sono state categorizzate in variabili dicotomiche presenza/assenza (presenza se il soggetto è passato per una certa via o ha frequentato un esercizio commerciale almeno una volta nel periodo di osservazione) e in una seconda analisi in tre categorie (mai; 1-5; >5 volte).

Per valutare l'associazione tra l'esposizione (frequentazione di ogni esercizio commerciale e di ogni singola strada riportati nel questionario) e la malattia è stata condotta un'analisi univariata appaiata. È stato poi costruito un modello di regressione logistica multivariata condizionata includendo tutte le esposizioni risultate significative all'analisi univariata e quelle non significative ma con un valore di $p < 0,20$. Sono state individuate le esposizioni più fortemente associate con l'infezione da Legionella e gli eventuali fattori di confondimento o modificatori di effetto. È stato calcolato l'Odds Ratio (OR) grezzo e aggiustato come misura di associazione tra le diverse esposizioni e la malattia con l'Intervallo di Confidenza (IC) al 95%. È stato utilizzato il test del Chi-quadrato per valutare l'associazione tra le diverse esposizioni. Il livello di significatività adottato è del 5%.

Indagine ambientale

Al fine di individuare una possibile fonte comune di esposizione dei casi, sono stati effettuati campionamenti ambientali (acqua, aria, biofilm) per la ricerca di *Legionella pneumophila* in diversi siti (esercizi commerciali e giardini pubblici), individuati attraverso le prime informazioni desunte dall'indagine epidemiologica. Campionamenti sono stati effettuati, inoltre, anche in tutte le abitazioni dei pazienti.

Campioni d'acqua sono stati prelevati dal bacino di raccolta e dal circuito idraulico della torre di raffreddamento e dall'acqua di condensa delle unità di trattamento dell'aria di un grande esercizio commerciale, dalle fontane pubbliche e dalla doccia e dal lavabo del servizio igienico di ciascun paziente.

Campioni d'aria sono stati prelevati utilizzando il *Surface Air System (SAS) Super 100 (PBI International)*, sia all'interno che all'esterno degli esercizi commerciali e nel punto di emissione del flusso d'aria calda ed umidificata in uscita dalla torre di raffreddamento.

Il metodo utilizzato per l'analisi dei campioni è quello indicato nelle *Linee guida per il controllo e la prevenzione della legionellosi (3)*.

Il terreno di coltura utilizzato per tutti i campioni era il BCYE- α (*Buffered Charcoal Yeast Extract*) con aggiunta di supplemento selettivo GVPC (glicina, vancomicina, polimixina e cicloeximide). Le piastre seminate venivano incubate per un periodo di 10 giorni in termostato a 37 °C sotto 2,5 % di CO e le colonie sospette venivano subcoltivate in BCYE- α agar e in CYE agar. L'identificazione di specie e sierogruppo era confermata mediante agglutinazione al lattice, usando kit commerciali (*Legionella Latex Test, Oxoid*), ed anticorpi monoclonali specifici (Dresda, Germania).

I siti dimostratisi contaminati da Legionella sono stati sottoposti a bonifica ambientale e di nuovo campionati per verificare la riduzione di Unità Formanti Colonia (UFC) nei limiti della norma.

Tipizzazione

I ceppi batterici utilizzati in queste analisi (Tabella 1) comprendevano tutti i ceppi di Legionella isolati dall'ambiente ed un unico ceppo umano isolato da un paziente. Inoltre sono stati aggiunti come controlli interni un ceppo di *Legionella pneumophila Philadelphia 1 CDC*, un ceppo clinico ed uno ambientale isolati a Roma, ma non correlati con l'epidemia in esame.

Tabella 1. Geni analizzati nella tipizzazione per SBT

geni analizzati	prodotto di PCR
flaA	240bp
proA	480bp
mip	558bp
asd	542bp
pilE	460bp
dotA	407bp

Tutti i ceppi isolati sono stati sottoposti a tipizzazione fenotipica mediante immunofluorescenza indiretta (IFI) utilizzando anticorpi monoclonali specifici (Dresda, Germania).

La tipizzazione genomica è stata effettuata attraverso tre diverse metodologie: PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*) e SBT (*Sequence Based Typing*):

– *PFGE*

L'elettroforesi in campo pulsato è stata effettuata preparando e digerendo il DNA genomico secondo quanto descritto da Castellani Pastoris *et al.* (4), impostando la corsa elettroforetica a 14 °C con impulsi di 5 s-110 s, per 24 h a 6V/cm, con gradiente lineare. Il DNA digerito di *S. cerevisiae* è stato utilizzato come peso molecolare standard.

– *AFLP*

Per l'AFLP il DNA genomico era preparato da ceppi batterici coltivati su piastre di BCYE agar per 48 h a 37 °C in 2,5% CO₂. Le colture erano risospese in Tris-EDTA (TE) a pH 8 e il DNA estratto con Nucleon BACC2 DNA Extraction kit (Amersham Pharmacia Biotech, UK), includendo una incubazione con Rnase. Le reazioni di restrizione-ligasi sono state effettuate a 37 °C per 3 ore in un volume totale di 20 µL, secondo Valsangiacomo C *et al.* (5), e rispettando le procedure standard indicate dall'*European Working Group on Legionella Infection*. I frammenti di DNA marcati sono stati risospesi in 100 µL tampone TE. Prima della reazione di PCR (*Polymerase Chain Reaction*), i DNA erano diluiti 1:100 in H₂O nuclease-free. 5 µL di questa diluizione sono stati utilizzati come stampo per la reazione di PCR. Per questa reazione i frammenti di DNA sono stati amplificati per PCR, in un volume totale di 25 µL usando le Ready-To-Go (RTG) PCR beads, (Amersham Pharmacia Biotech). Ciascuna miscela di reazione conteneva: 5 µL della diluizione di DNA, 75 ng del *primer* selettivo (AFLP-PstI-G: 5'-GACTGCGTACATGCAGG-3'), 2,5 mM MgCl₂ (concentrazione finale). La reazione era composta da 33 cicli di: 1 min 94 °C, 1 min 60 °C, 2,5 min 72 °C, con una denaturazione iniziale a 94 °C per 4 min. 10 µL del prodotto di amplificazione sono stati caricati su gel 1,5% (w/v) agarosio (UltraPure agarose, Life technologies, UK) e separati in campo elettroforetico, in 1 x TBE per 4 h a 3,45 V/cm. MBI Fermentas Ladder Mix (MBI Fermentas, UK) è stato usato come peso molecolare standard. I frammenti di DNA sono stati visualizzati mediante colorazione con Etidio bromuro e fotografati sotto lampada UV.

– *SBT*

La tipizzazione basata su sequenza è stata effettuata secondo le procedure descritte nel lavoro di Gaia *et al.* (6) con alcune modifiche e previa estrazione del DNA secondo

quanto già descritto per l'AFLP. In breve, regioni altamente variabili dei geni: *flaA*, *proA*, *mip*, *asd*, *pile* sono state amplificate mediante PCR, utilizzando coppie di *primer* disegnate per produrre frammenti di circa 240-550 bp (Tabella 1). Ciascuna miscela di reazione conteneva: 2,5 U di Taq polimerasi, 2,5 mM MgCl₂, 200 mM dNTPs, 10 pmol di ciascun *primer*, 100 ng di DNA in tampone 1 x Taq, in un volume finale di 50 µL. La reazione di PCR consisteva di 30 cicli di 30 s a 95 °C, 30 s di *annealing* alla temperatura appropriata, 30s a 72 °C, con una denaturazione iniziale di 5 min a 95 °C, in un GeneAmp PCR system (Perkin-Elmer Applied Biosystem).

Diagnosi sierologica e microbiologica

Due campioni clinici, costituiti da escreato e lavaggio broncoalveolare di uno dei pazienti, sono pervenuti al Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate e sono stati sottoposti ad esame colturale per la ricerca di *Legionella*, coltivandoli in agar BCYE- α GVPC. Inoltre, alcuni sieri di fase acuta e convalescente, prelevati dai pazienti coinvolti nell'epidemia, sono stati analizzati per la determinazione degli anticorpi anti-*Legionella*, mediante immunofluorescenza indiretta, utilizzando antigeni preparati in ISS.

Ricerca di ulteriori casi e stima della reale dimensione dell'epidemia

Per stimare la reale estensione dell'epidemia occorsa nel Municipio IX, sono state analizzate le SDO dei pazienti ricoverati per infezioni polmonari acute nel periodo 14 luglio-2 novembre 2003, (periodo di esposizione e le due settimane precedenti e seguenti), presso l'Azienda Ospedaliera San Giovanni-Addolorata, ospedale di riferimento della zona in cui 13 dei 15 casi notificati sono stati ricoverati. Tale indagine è stata condotta mediante analisi del registro informatizzato delle schede di dimissione ospedaliera.

Inizialmente è stato confrontato il numero dei ricoveri per legionellosi occorsi in questo intervallo di tempo, con quello dei ricoveri per la stessa causa verificatisi nello stesso periodo degli anni 2000, 2001, 2002.

Secondo l'ICD9-CM (6) non esiste un codice specifico per le infezioni da *Legionella pneumophila*, e per questa malattia si utilizza il codice 482.83, corrispondente a "Polmonite da altri batteri gram negativi specificati".

Sono state poi analizzati ricoveri per infezioni polmonari senza diagnosi eziologica e classificati secondo l'ICD9-CM con i seguenti codici e diagnosi:

- 482.9 Polmonite batterica, non specificata
- 485 Broncopolmonite, non specificata
- 486 Polmonite, agente non specificato

La loro distribuzione per circoscrizione di residenza, data di ricovero, sesso, età ed esito è stata analizzata per lo stesso periodo degli anni 2000, 2001 e 2002 e confrontata con il 2003.

RISULTATI

Analisi descrittiva dei casi

I 15 casi di infezione da *Legionella pneumophila* notificati hanno presentato l'esordio clinico in un periodo compreso tra il 5 agosto e il 10 ottobre 2003 e includevano 10 uomini e 5 donne (M/F 2:1), con un'età media di 70 anni (range 49-89 anni). In base alla data di insorgenza dei sintomi, poiché il periodo di incubazione della legionellosi varia da 2 a 10 giorni, si può stimare che l'esposizione sia avvenuta in un periodo compreso tra il 27 luglio e il 18 ottobre. Il maggior numero di casi si è verificato nella settimana compresa tra il 4 e il 10 agosto come mostrato in Figura 1.

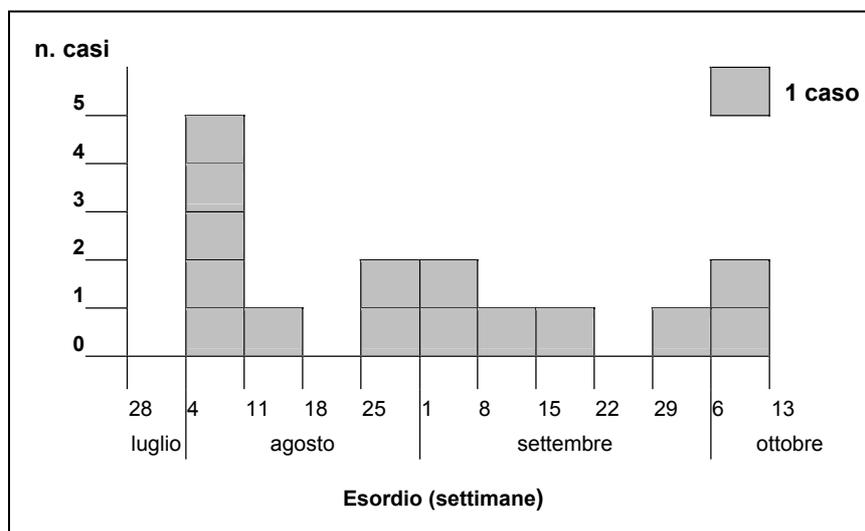


Figura 1. Curva epidemica dell'epidemia di legionellosi verificatasi nel IX Municipio della città di Roma

Tutti i casi notificati erano ospedalizzati. Di questi, 13 sono stati ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera San Giovanni-Addolorata (6 presso il reparto di Malattie dell'Apparato Respiratorio, 4 in Terapia Sub-Intensiva, 3 in tre diversi reparti di Medicina), gli altri 2 presso il Policlinico Gemelli e l'Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini.

La diagnosi di laboratorio è stata effettuata presso gli ospedali che hanno ricoverato i casi; in 14 casi mediante rilevazione dell'antigene solubile urinario, mentre in un solo caso, oltre all'antigene urinario è stato possibile isolare *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 dal lavaggio broncoalveolare. Inoltre l'indagine sierologica in fase acuta è risultata positiva in otto pazienti (Tabella 2).

Tabella 2. Casi di legionellosi per metodo di diagnosi

N. caso	Età	Sesso	Inizio sintomi	Titolo anticorpale acuto	Titolo anticorpale convalescente	Antigene urinario	Espettorato
1	73	F	05/08/2003	1:32	1:16	Positivo	nd
2	66	M	08/08/2003	1:32	1:64	Positivo	nd
3	67	M	10/08/2003	1:16	nd	Positivo	nd
4	62	M	10/08/2003	1:256	nd	Positivo	nd
5	76	M	10/08/2003	1:64	1:64	Positivo	nd
6	83	M	13/08/2003	1:16	nd	Positivo	nd
7	59	M	28/08/2003	nd	nd	Positivo	nd
8	82	M	28/08/2003	1:16	1:16	Positivo	nd
9	50	M	01/09/2003	nd	nd	Positivo	Positivo
10	80	F	12/09/2003	nd	nd	Positivo	nd
11	77	M	19/09/2003	nd	nd	Positivo	nd
12	89	F	06/09/2003	nd	nd	Positivo	nd
13	49	M	06/10/2003	nd	nd	Positivo	nd
14	69	F	05/10/2003	nd	nd	Positivo	nd
15	73	F	10/10/2003	Positivo tit. non noto	nd	Positivo	nd

nd = non determinato

Tutti i pazienti erano residenti nel IX Municipio e la maggior parte di essi viveva in un'area piuttosto circoscritta del quartiere, come evidenziato in Figura 2.



Figura 2. Distribuzione dei casi di legionellosi sul territorio del IX Municipio

Studio caso-controllo

Tutti i casi di legionellosi notificati erano casi accertati; solo 14 dei 15 casi sono stati inclusi nello studio in quanto uno di essi è deceduto durante il ricovero in ospedale, prima che fossero raccolte le informazioni necessarie all'arruolamento. Per arruolare i 56 controlli, sono stati individuati complessivamente 184 individui; di questi, il 25,5% non è stato rintracciato telefonicamente, il 23% ha rifiutato di partecipare allo studio e il 21% non era eleggibile.

Tra i fattori di rischio generici, il 42,9% dei casi e il 26,8% dei controlli ha riferito abitudine al fumo (più di cinque sigarette al giorno), mentre il 7,1% dei casi e il 3,6% dei controlli ha riferito un'assunzione giornaliera di alcool superiore a 40 g. non si osserva una differenza statisticamente significativa tra casi e controlli.

Anche per la presenza di malattie croniche (diabete, bronchite cronica, enfisema polmonare, insufficienza renale, trapianti e neoplasie) non si osservano differenze tra casi e controlli. Lo stesso risultato si ottiene considerando la presenza di almeno una malattia cronica fra quelle sopra citate (Tabella 3).

Tabella 3. Fattori predisponenti relativi ai casi e ai controlli

Fattore predisponente	Casi (n. 14) n. (%)	Controlli (n. 56) n. (%)
Fumo (>5 sigarette/die)	6 (42,9)	15 (26,8)
Consumo di alcool (>40 g/die)	1 (7,1)	2 (3,6)
Presenza di almeno una malattia cronica	9 (64,3)	26 (46,4)

Anche per i fattori di rischio associati all'ambiente domestico (presenza di condizionatori d'aria, tipo di impianto di riscaldamento) non si osservano differenze statisticamente significative tra casi e controlli.

Nel questionario sono state raccolte informazioni relative alla frequentazione da parte di casi e controlli di 7 esercizi commerciali, 1 parco pubblico e 8 strade. Nell'analisi appaiata univariata gli esercizi commerciali B, C, D, E, F, G, non risultano associati con l'infezione; soltanto l'esercizio A è risultato altamente associato (OR=9,8; p=0,004). Inoltre, solo la strada P e il parco pubblico sono risultati associati con l'infezione da *Legionella* con OR rispettivamente di 3,8 (p=0,04) e 4,2 (p=0,03). Nella Tabella 4 sono riportati in dettaglio i risultati dell'analisi univariata.

Nell'analisi di regressione logistica condizionata multivariata, l'esercizio commerciale A risulta essere l'unica esposizione altamente e statisticamente associata con l'infezione da *Legionella* (OR= 9,8; IC 95% 2,1-46,0). La strada P e il parco pubblico, che nell'analisi univariata risultavano significativamente associati con la malattia, nel modello multivariato vengono esclusi. Questi due luoghi, sono infatti adiacenti all'esercizio commerciale A e ne risultano associati (70,4% p=0,001 e 37,0% p=0,05 rispettivamente) vale a dire che gli individui che si sono recati all'esercizio A sono transitati anche per i due luoghi menzionati. Anche considerando il numero di volte in cui i luoghi sono stati frequentati nell'arco di tempo in esame, l'esercizio commerciale A continua ad essere l'unica esposizione associata alla malattia. La categoria maggiormente esposta è quella che ha frequentato l'esercizio commerciale almeno 6 volte nel periodo di esposizione (OR = 22,8; IC 95% 3,6-145,8; p= 0,0009).

Tabella 4. Analisi univariata appaiata

Fattore di rischio	OR	IC 95%	p-value
esercizi commerciali			
A	9,8	2,1 – 46,0	0,004
B	4,2	0,9 – 18,1	ns
C	1,8	0,3 – 9,4	ns
D	0,2	0,1 – 1,7	ns
E	2,5	0,4 – 14,8	ns
F	1,2	0,3 – 4,5	ns
G	0,4	0,1 – 1,5	ns
strade			
H	1,9	0,5 – 7,2	ns
I	1,7	0,5 – 6,1	ns
L	2,6	0,5 – 13,0	ns
M	3,2	0,7 – 15,1	ns
N	1,4	0,3 – 5,6	ns
O	0,8	0,2 – 2,8	ns
P	3,8	1,1 – 13,4	0,004
Q	0,4	0,1 – 1,7	ns
Parco pubblico	4,2	1,2 – 14,9	0,03

ns = non significativo

Indagine microbiologica e ambientale

Legionella pneumophila sierogruppo 1 sottotipo *Philadelphia* è stata isolata dall'acqua del bacino di raccolta ($1,4 \times 10^6$ UFC/L) e del circuito idraulico dell'impianto della torre di raffreddamento ($1,3 \times 10^6$ UFC/L), presente nell'esercizio commerciale A del IX Municipio (Tabella 5, Figura 3a). Anche i campioni di biofilm prelevati nel bacino della stessa torre sono risultati positivi per lo stesso stipite batterico.

Tabella 5. *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 sottotipo *Philadelphia* isolata dai campioni ambientali prelevati dall'esercizio commerciale A

Campioni ambientali	Concentrazione (UFC/L)
Circuito idraulico della torre	$1,3 \times 10^6$
Bacino di raccolta	$1,4 \times 10^6$
Flusso d'aria della torre	Elevata concentrazione
Biofilm interno vasca di raccolta	Elevata concentrazione



Figura 3. Esercizio commerciale A: torre di raffreddamento (a), griglia di espulsione dell'aria dell'impianto di condizionamento situata a livello del marciapiede (b)

Allo stesso modo, i campioni di vapore acqueo in uscita dalla torre ed immessi sulla griglia posta sul marciapiede della strada, transitata da passanti (Figura 3b), hanno rilevato un'elevata concentrazione di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 sottotipo *Philadelphia* (Figura 4). Tuttavia, non è stato possibile stimare il numero probabile di UFC/m³ d'aria, in relazione a quelle contate sulla piastra, poiché nella tabella di conversione fornita con lo strumento, non era presente un valore numerico paragonabile a quello riscontrato.



Figura 4. Colonie di *Legionella pneumophila* isolata da campioni d'aria prelevati sulla griglia situata sul marciapiede

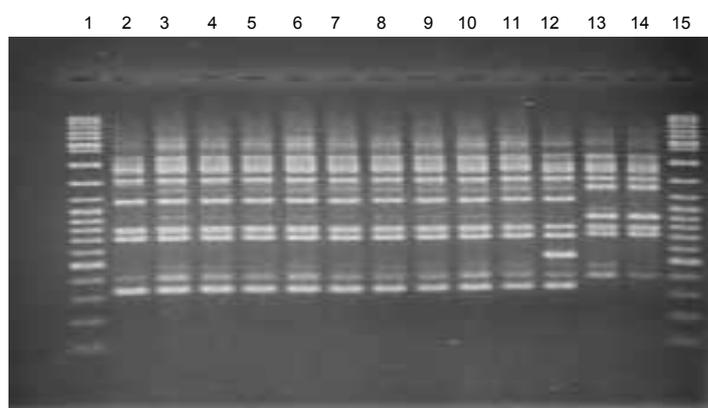
In un paziente è stata isolata *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 sottotipo *Philadelphia* dal lavaggio broncoalveolare, mentre l'escreato è risultato negativo.

L'analisi sierologica effettuata soltanto per alcuni sieri non ha dimostrato la presenza di livelli diagnostici di anticorpi anti-*Legionella* (ad eccezione di un siero con titolo 1:256).

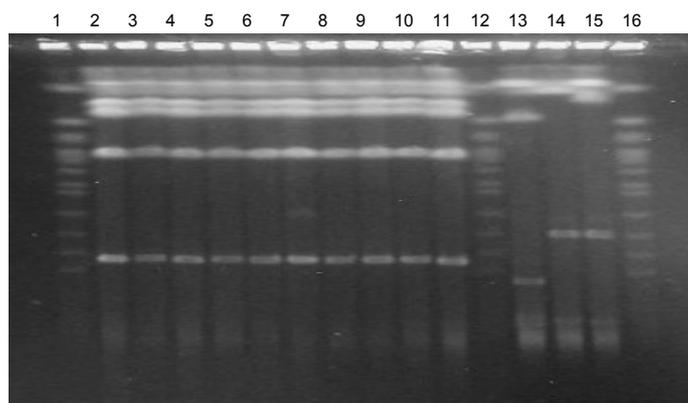
Questa quasi totale assenza di sieroconversione probabilmente si può attribuire alla somministrazione di una tempestiva terapia antibiotica che, in una certa misura, può aver diminuito la produzione di anticorpi.

Tipizzazione

Diversi metodi sono stati utilizzati per la tipizzazione dei ceppi batterici isolati in questo evento epidemico. Il metodo fenotipico, effettuato mediante l'uso di MAb specifici, non ha rilevato differenze tra i ceppi ambientali e il ceppo umano, riconoscendo un unico fenotipo: *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 sottotipo *Philadelphia*. Anche la tipizzazione genomica effettuata utilizzando l'AFLP (Figura 5 a) e la PFGE (Figura 5 b) ha rilevato una completa correlazione tra gli isolati. Lo stesso risultato è stato evidenziato dalla SBT, un metodo di recente introduzione per la tipizzazione di *Legionella*, con maggior potere discriminatorio rispetto ai metodi precedenti. Questo sistema è basato sull'analisi della sequenza di geni sottoposti a pressione selettiva (*flaA*, *proA*, *dotA*, *pilE*) e geni non sottoposti a pressione selettiva (*mip* e *asd*). Anche con questo metodo il ceppo isolato dal paziente e quelli isolati dalla torre di raffreddamento sono risultati indistinguibili.



a: lane 2 ceppo umano, lanes 3-11 ceppi ambientali, lanes 12 e 13 ceppi di controllo, lane 14 marker di peso molecolare



b: lanes disposte come in a. marker presenti nelle lanes 1-12-16

Figura 5. Analisi mediante AFLP (a) e PFGE (b) del ceppo umano e dei ceppi ambientali isolati durante l'epidemia

Ricerca di ulteriori casi e stima della reale dimensione dell'epidemia

Complessivamente i casi accertati di legionellosi ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera San Giovanni-Addolorata nel periodo 14 luglio-2 novembre e con diagnosi di dimissione di polmonite da *Legionella pneumophila*, sono stati 16 nel 2003, di cui 13 residenti nel IX Municipio. Nello stesso periodo del 2002 sono stati ricoverati per legionellosi 8 individui, di cui solo 2 residenti nel IX Municipio; mentre nel 2001 e nel 2000 sono stati ricoverati rispettivamente 2 casi (nessun residente nel IX Municipio) e 4 casi di cui uno residente nel IX Municipio (Figura 6).

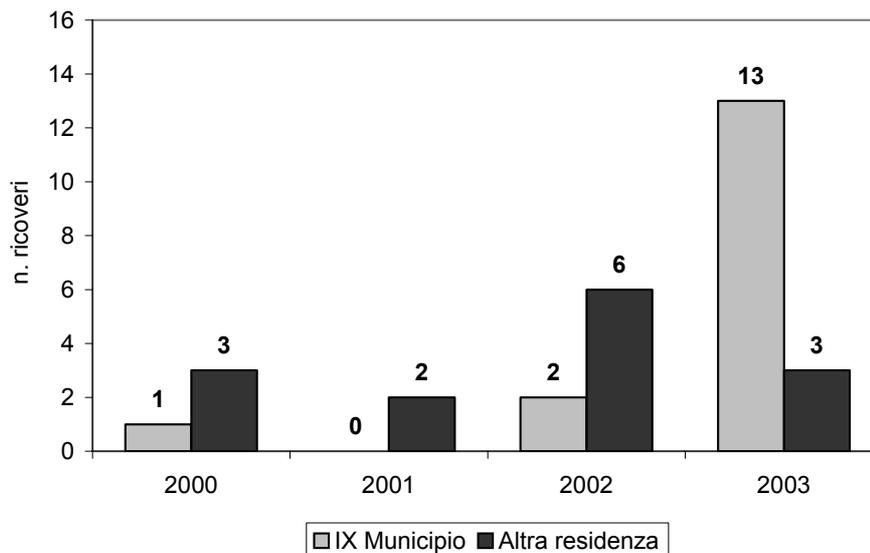


Figura 6. Ricoveri per legionellosi dal 2000 al 2003 (periodo 14 luglio-2 novembre). Azienda ospedaliera San Giovanni-Addolorata

L'aumento dei ricoveri ospedalieri per legionellosi verificatosi presso l'Ospedale San Giovanni-Addolorata nel periodo 14 luglio-2 novembre 2003 è stato del 300%, del 700% e del 100% rispetto allo stesso periodo del 2000, 2001, 2002 ed è ancora più eclatante se limitato ai residenti nel IX Municipio.

Nel periodo 14 luglio-2 novembre 2003 inoltre ci sono stati 190 ricoveri per polmonite ad eziologia non specificata; di questi, 97 (51,1%) erano cittadini residenti nel IX Municipio.

Nello stesso periodo del 2002 i casi di polmonite non specificata sono stati 101 di cui 32 (31,7%) residenti nel IX Municipio, mentre nel 2001 e nel 2000 sono stati rispettivamente 84 e 86, di cui 22 (26,2%) e 30 (34,9%) residenti nel IX Municipio. L'aumento del 2003 è risultato statisticamente significativo rispetto a tutti e tre gli anni precedenti ($p=0,0180$; $p=0,0002$; $p=0,0023$) (Figura 7).

Nel 2003 si è verificato un incremento del numero complessivo delle polmoniti ad eziologia non specificata di circa il 100% rispetto ai tre anni precedenti. Se si considera l'incremento verificatosi nel 2003 solo tra i residenti del IX Municipio questo è di oltre il 200%.

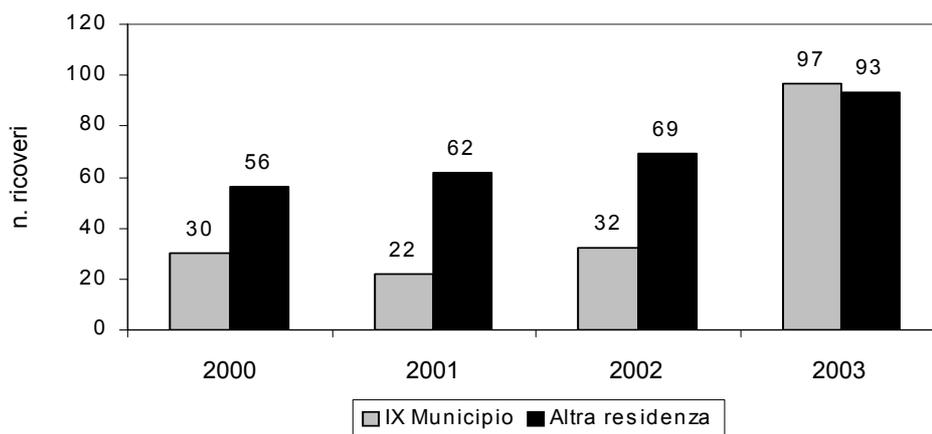


Figura 7. Ricoveri per polmoniti ad eziologia non specificata dal 2000 al 2003 (periodo 14 luglio-2 novembre). Azienda ospedaliera San Giovanni-Addolorata

L'analisi della distribuzione dei ricoveri per sesso, per classe d'età ed esito nei diversi anni non ha evidenziato differenze significative.

È stato analizzato anche l'andamento settimanale nei diversi anni dei ricoveri in residenti nel IX Municipio e, come mostrato in Figura 8, le polmoniti non specificate nel periodo compreso tra il 4 agosto e il 5 ottobre sono più che raddoppiate rispetto alla media dei ricoveri nello stesso periodo degli altri tre anni confrontati. Dopo il primo intervento di bonifica della sorgente di infezione il numero di ricoveri per polmoniti ad eziologia non specificata è sensibilmente diminuito.

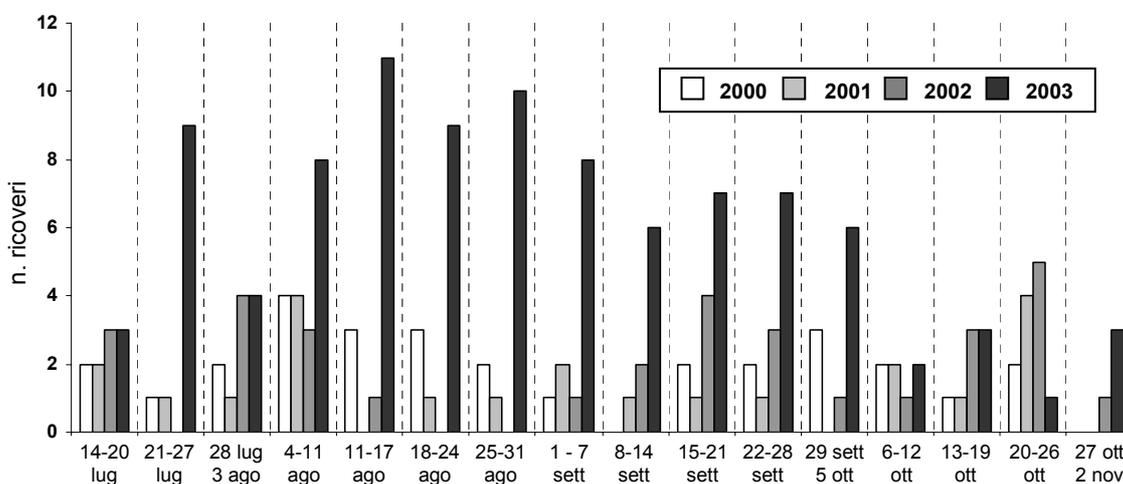


Figura 8. Ricoveri per polmoniti ad eziologia non specificata dal 2000 al 2003 (periodo 14 luglio-2 novembre) in soggetti residenti nel IX Municipio. Azienda ospedaliera San Giovanni-Addolorata

In Figura 9 l'andamento settimanale dei ricoveri per polmoniti ad eziologia non specificata è messo a confronto con la curva epidemica delle polmoniti da *Legionella pneumophila* in residenti nel IX Municipio.

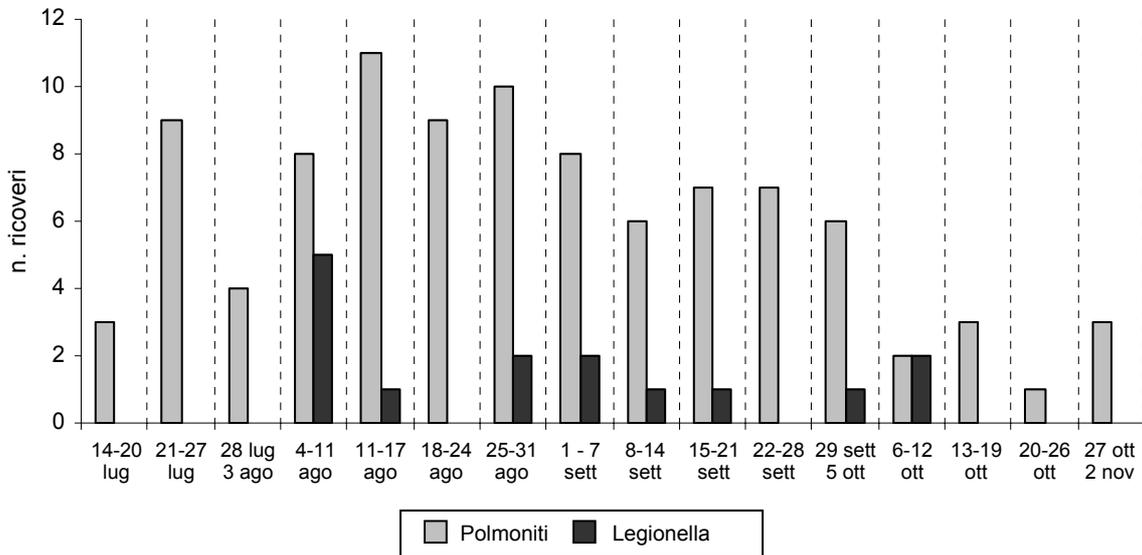


Figura 9. Ricoveri per polmoniti ad eziologia non specificata e per legionellosi nel periodo 14 luglio-2 novembre 2003. Azienda ospedaliera San Giovanni-Addolorata

Misure di controllo

A seguito dei risultati delle analisi microbiologiche ambientali sono stati effettuati, da una ditta incaricata dall'esercizio commerciale A, una serie di interventi di bonifica utilizzando una miscela di 500 ppm di perossido di idrogeno e argento (trattamento shock). Il primo trattamento è stato disposto in data 8 ottobre 2003 e dopo due giorni, il 10 ottobre, è stato effettuato un secondo campionamento sui siti della torre di raffreddamento risultati in precedenza positivi. Le analisi hanno rivelato un sostanziale abbattimento del numero di UFC (<102UFC/L) nel bacino di raccolta, mentre esisteva ancora una seppur minima positività nel vapore acqueo immesso all'esterno dalla torre di raffreddamento (31 UFC/m³).

In data 2 dicembre 2003 è stato eseguito il secondo intervento di bonifica, seguito in data 3 dicembre 2003 da un ulteriore campionamento, in cui si è rilevato un valore estremamente basso (102 UFC/L) nel bacino di raccolta della torre e non si è rilevata presenza di *Legionella pneumophila* nei campioni d'aria in uscita dalla torre.

Il 16 dicembre 2003 e il 9 gennaio 2004 sono stati effettuati due ulteriori interventi di bonifica con lo stesso metodo e l'ISS effettuerà il periodico monitoraggio microbiologico per verificare l'efficacia a lungo termine della disinfezione.

CONCLUSIONI E RACCOMANDAZIONI

L'indagine epidemiologica ha identificato come probabile fonte di infezione l'esercizio commerciale A, confermata successivamente dall'indagine microbiologica che ha evidenziato, mediante l'analisi molecolare, la stretta somiglianza dei ceppi umani e di quelli ambientali.

L'indagine di questa epidemia ha dimostrato l'importanza del coinvolgimento e della collaborazione di diverse competenze (epidemiologi, microbiologi, medici di sanità pubblica, medici di medicina generale, medici ospedalieri) che hanno contribuito tutte in modo determinante all'identificazione della fonte di infezione e al contenimento dell'epidemia.

Lo studio caso-controllo si è dimostrato uno strumento epidemiologico molto utile per confermare l'esistenza di un'unica fonte di infezione. Dal punto di vista metodologico, tuttavia, ha presentato alcune difficoltà, soprattutto nell'arruolamento dei controlli. Lo studio pilota condotto per verificare la disponibilità dei controlli a rispondere ad un questionario somministrato presso il loro domicilio ha evidenziato una diffusa preferenza a rispondere telefonicamente alle domande. Gli intervistatori hanno perciò concordato un approccio standardizzato per contattare i controlli e hanno somministrato telefonicamente il questionario. Anche con questa modalità di intervista è stata comunque fondamentale la mediazione dei medici di famiglia.

Le caratteristiche dei pazienti sono quelle tipiche della malattia sia per quanto riguarda l'età media sia il rapporto maschi/femmine. I fattori di rischio generici (fumo, malattie croniche, consumo di alcool) sono distribuiti tra casi e controlli senza differenze statisticamente significative.

La ricerca di Legionella effettuata in campioni di acqua calda sanitaria prelevati presso le abitazioni dei pazienti ha dato risultati negativi nel 100% dei casi, escludendo quindi la possibilità di una contaminazione domestica. Sia l'indagine ambientale sia i risultati dello studio caso-controllo concordano nell'identificare come fonte dell'infezione l'esercizio commerciale A situato nel IX Municipio. In particolare lo studio caso-controllo evidenzia come il rischio di acquisire l'infezione sia di circa 10 volte superiore negli individui che hanno frequentato l'esercizio commerciale A rispetto a coloro che non l'hanno frequentato.

Il fatto che 6 casi su 15 riferiscano la comparsa della sintomatologia nelle prime due settimane di agosto e, in particolare, 3 nello stesso giorno, suggerisce che l'esposizione all'agente in quel periodo sia stata più massiccia, presumibilmente in conseguenza dei lavori di ristrutturazione effettuati nell'esercizio commerciale A nel periodo tra la seconda metà di luglio e la prima metà di agosto e delle elevate temperature riscontrate nell'estate del 2003. Durante il mese di luglio infatti la temperatura media ha raggiunto i 28 °C, quasi tre gradi al di sopra della media del periodo (25,1 °C), mentre nel mese di agosto ha raggiunto i 29,1 °C, oltre quattro gradi al di sopra della media del periodo, (25 °C), rendendo questo mese il più caldo dal 1782, data in cui è iniziata la registrazione dei dati meteorologici della città di Roma.

L'episodio epidemico verificatosi nel IX Municipio ha coinvolto 15 persone ma l'aumento dei ricoveri ospedalieri per polmonite verificatosi presso l'Ospedale San Giovanni-Addolorata nel periodo 14 luglio-2 novembre fa supporre che un certo numero di casi classificati come polmonite ad eziologia non specificata sia in realtà riconducibile ad un'infezione da Legionella.

L'incremento registrato nel periodo luglio-novembre 2003 rispetto a quanto osservato nello stesso periodo nei tre anni precedenti è ancora più consistente (in media più di 2,5 volte) se riferito solo a pazienti residenti nel IX Municipio, zona in cui l'indagine microbiologica ha evidenziato la sorgente di infezione.

In particolare, l'incremento maggiore si è verificato nel periodo tra agosto e settembre, al contrario di quanto avvenuto negli anni precedenti in cui nello stesso periodo si è registrata una flessione del numero di casi (attribuibile probabilmente sia alle condizioni climatiche sia alla riduzione della popolazione residente in città) e tale andamento è sovrapponibile a quello della curva epidemica.

Ad ulteriore conferma della supposizione che tale incremento sia attribuibile all'epidemia di legionellosi di origine comunitaria è il fatto che dopo il primo intervento di bonifica della sorgente di infezione il numero di ricoveri per polmoniti ad eziologia non specificata è drasticamente diminuito.

Una ricerca sistematica dell'infezione da *Legionella* mediante l'impiego del test dell'antigene urinario in quei soggetti dimessi con diagnosi di polmonite ad eziologia non specificata, avrebbe probabilmente permesso di identificare altri casi di legionellosi associati alla medesima esposizione e rimasti invece misconosciuti.

Alla luce dell'esperienza maturata durante l'indagine dell'epidemia sopra descritta riteniamo di poter effettuare alcune raccomandazioni generali al fine di migliorare la tempestività e l'efficacia degli interventi in casi analoghi:

1. in presenza di un *cluster* epidemico, organizzare una tempestiva comunicazione orizzontale agli ospedali (Aziende e Presidi) del territorio ed ai medici di medicina generale;
2. nell'ambito dei singoli ospedali, informare dell'evento tutti i reparti che potrebbero ricoverare pazienti con polmonite;
3. avviare una sorveglianza attiva negli ospedali che raccolgono il bacino di utenza ove si è verificato il focolaio epidemico di legionellosi per individuare ulteriori casi con ricerca sistematica dell'antigene urinario di *Legionella pneumophila* in tutti i casi di polmonite diagnosticati;
4. effettuare la diagnosi di laboratorio non solo mediante la rilevazione dell'antigene solubile urinario ma anche, laddove possibile, mediante isolamento colturale di *Legionella* da escreato o da lavaggio broncoalveolare. Questa raccomandazione è sostenuta da due motivi: primo, perché il solo utilizzo del test dell'antigene solubile urinario fa sì che polmoniti dovute a specie o sierogruppi non riconosciuti da questo metodo non vengano diagnosticate; secondo, per poter disporre del ceppo clinico da confrontare eventualmente con quello ambientale ai fini dell'identificazione della reale fonte d'infezione;
5. preparare e somministrare prontamente a tutti i casi diagnosticati un questionario molto dettagliato per l'indagine epidemiologica che preveda una serie di domande indirizzate alla raccolta di informazioni sui fattori di rischio e abitudini comportamentali che permettano di identificare la fonte di esposizione a *Legionella pneumophila*;
6. garantire un campionamento tempestivo ed accurato di acqua e/o aria in tutti quegli ambienti che dall'indagine epidemiologica risultano essere compatibili quali sorgenti di infezione;
7. una volta identificata la sorgente di infezione, effettuare immediatamente la bonifica ambientale utilizzando i metodi suggeriti dalle Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi (3), e la successiva verifica dell'efficacia della stessa;
8. effettuare un follow-up a distanza della fonte di infezione per essere certi che non si verifichi una successiva ri-colonizzazione degli impianti.

Infine una raccomandazione forse meno immediata da attuare, ma certamente non meno importante, è quella di istituire un registro di tutte le torri di raffreddamento presenti sul territorio, analogamente a quanto già avviene in altri Paesi europei. L'obiettivo principale del registro è quello di fornire informazioni sulla posizione e sul funzionamento degli impianti. La pronta disponibilità di queste informazioni è infatti cruciale per le autorità sanitarie locali che in presenza di focolai di legionellosi di origine comunitaria sono chiamate ad intervenire immediatamente con un'indagine ambientale. È noto, infatti, che durante il normale funzionamento di una torre di raffreddamento si forma un aerosol che si diffonde nell'aria; se l'acqua presente nella torre di raffreddamento è contaminata, la diffusione nell'ambiente e la conseguente inalazione di questo aerosol può causare anche numerosi casi di infezione.

Come è noto dalla letteratura internazionale, le torri di raffreddamento sottoposte a scarsa manutenzione sono state più volte implicate in epidemie di legionellosi in vari Paesi (8-10). La registrazione delle torri di raffreddamento potrebbe essere utilmente associata a un'adeguata informazione dei proprietari sull'importanza della loro regolare manutenzione al fine di prevenire l'insorgenza di episodi epidemici comunitari.

In conclusione, poiché la Legionella è un germe ubiquitario e non è plausibile pensare di eliminarla, l'unica misura efficace rimane una sorveglianza attenta, combinata, in caso di *cluster* epidemico, con un intervento rapido ed equilibrato che tenga conto anche dell'analisi dei costi e dei benefici.

BIBLIOGRAFIA

1. Italia. Decreto ministeriale 7 febbraio 1983. Inserimento della legionellosi nell'elenco delle malattie infettive e diffusive sottoposte a denuncia obbligatoria. *Gazzetta Ufficiale* n. 63, 5 marzo 1983.
2. European Working Group for Legionella Infections (EWGLI). *Case definition*. Disponibile all'indirizzo: http://www.ewgli.org/scientific_info/scientific_case_definitions.asp#definition; ultima consultazione 9/9/2004.
3. Linee guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n.103, 5 maggio 2000.
4. Castellani Pastoris M, Ciceroni L, Lo Monaco R, Goldoni P, Mentore B, Flego G, Cattani L, Ciarrocchi S, Pinto A, Visca P. Molecular epidemiology of an outbreak of legionnaires disease associated with a cooling tower in Genova-Sestri Ponente, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:883-92.
5. Valsangiacomo C, Baggi F, Gaia V, Balmelli T, Peduzzi R, Piffaretti JC. Use of amplified fragment length polymorphism in molecular typing of *Legionella pneumophila* and application to epidemiological studies. *J Clin Microbiol* 1995;33(7):1716-9.
6. Gaia V, Fry NK, Harrison TG, Peduzzi R. 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.
7. Ministero della Sanità, Dipartimento della Programmazione. *Manuale delle malattie, dei traumatismi, degli interventi chirurgici e delle procedure diagnostiche e terapeutiche. Versione italiana della ICD9-CM, 1997*. Roma: Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato; 2001.
8. García-Fulgueiras A, Navarro C, Fenoll D, García J, González-Diego P, Jiménez-Buñuales T, et al. Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. *Emerg Infect Dis* 2003;9(8):915-21. Disponibile all'indirizzo: www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no8/03-0337-G2.htm; ultima consultazione 10/9/2004.
9. Bhopal RS. Outbreak of legionnaires' disease in the United Kingdom. *BMJ* 2002;325:1033.
10. Ishimatsu S, Hiroshi M, Hori M, Tanaka Y, Yoshida SI. Sampling and detection of *Legionella pneumophila* aerosols generated from an industrial cooling tower. *Ann Occup Hyg* 2001;45:421-7

ALLEGATO
Questionario per l'indagine
sui fattori di rischio

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ - AGENZIA DI SANITÀ PUBBLICA DEL LAZIO - ASL ROMA C

QUESTIONARIO PER LO STUDIO CASO-CONTROLLOControllo n. _____

Caso appaiato _____

Periodo di esposizione
(dai 10 ai 2gg prima della comparsa dei sintomi)

dal |_|_|_|_| al |_|_|_|_|

Intervistatore: _____ Data dell'intervista: |_|_|_|_|

Informazioni personali

Nome e cognome: _____

Data di nascita: |_|_|_|_| Et : _____ Sesso: M F

Indirizzo: _____ Telefono: _____

Permanenza a Roma nel periodo compreso tra agosto e settembre 2003 (periodo di riferimento):

dal |_|_|_|_| al |_|_|_|_| dal |_|_|_|_| al |_|_|_|_|

dal |_|_|_|_| al |_|_|_|_| per un totale di ___ settimane

Nel periodo compreso tra agosto e settembre ha presentato sintomi di malattia respiratoria?
(febbre >38 °C, tosse, malessere generalizzato) s  no se s , quando? _____   stato ricoverato? s  no ha effettuato terapia ? s  no con quali farmaci? _____

Commenti _____

Anamnesi patologica prossima e remota

	s�	no	non so
Diabete	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bronchite cronica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Enfisema	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Insufficienza renale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dialisi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Trapianto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neoplasia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Specificare il tipo e l'anno di diagnosi _____

Altro: _____

Fuma? s  no quanto? _____Beve alcool? s  no quanto? _____Ha ricevuto trattamenti medici nel periodo di cui stiamo parlando?
(fisioterapia, visite odontoiatriche, bagni termali, ecc.) s  no

Abitazione

La produzione di acqua calda nel suo appartamento è: autonoma condominiale non so
 Tipo di caldaia: ad accumulo boiler istantanea non so
 Ha un impianto di aria condizionata? sì no
 se sì, era in funzione nel periodo di riferimento? sì no non ricordo
 Ci sono state interruzioni nella fornitura d'acqua nel periodo di riferimento? sì no non ricordo
 Ci sono lavori in corso vicino a casa sua? sì no non so
 se sì, di che tipo? (costruzione o scavi): _____ non so
 a quale distanza approssimativamente? _____ non so
 dove? _____ non so

Commenti _____

Abitudini sociali

Luoghi frequentati nel periodo di riferimento:

	no	sì	quante volte?	Indirizzo e/o data
Negozi, supermercati	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale B	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale E	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale F	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____
Esercizio commerciale G	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	_____

Commenti _____

Ha l'abitudine di passeggiare o andare a piedi? sì no
 per quale ragione? (per andare al lavoro, far passeggiare il cane, ecc.) _____

Ha un percorso più frequente? sì no
 se sì, me lo può descrivere? _____

Nel periodo di riferimento è passato nei seguenti luoghi e quante volte?

	no	sì	quante volte?	non ricordo
Via H	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via I	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via L	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via M	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via N	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via O	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via P	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>
Via Q	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>

Quali esercizi commerciali / luoghi pubblici ha frequentato nel periodo di riferimento? _____

Ci sono altre attività sociali o giornaliere a cui ha partecipato in quel periodo? sì no non ricordo

Qualcuno dei suoi conoscenti in quel periodo ha avuto malattie respiratorie?
 (è stato ricoverato, ha avuto una polmonite) sì no non so

Commenti _____

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, settembre 2004 (n. 3) 4° Suppl.