

PREVENZIONE E CONTROLLO DEI RISCHI DA *LEGIONELLA* NEI SISTEMI IDRO-POTABILI

Osvalda De Giglio (a), Maria Teresa Montagna (a), Enrico Veschetti (b)

(a) Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Università degli Studi "Aldo Moro", Bari

(b) Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Eziologia e regolamentazione europea

Legionella è un microrganismo Gram-negativo intracellulare facoltativo, responsabile di malattia infettiva comunemente chiamata legionellosi, solitamente acquisita per inalazione o aspirazione di *aerosol* proveniente da fonti d'acqua contaminata. Le diverse forme cliniche dell'infezione vanno dalla polmonite grave, nota come Malattia dei Legionari, a una malattia simil-influenzale, la febbre di Pontiac. Questo microrganismo è ubiquitario nei sistemi idrici naturali e artificiali (1-5), nei sedimenti e terreni sia in forma di singole cellule, sia all'interno di amebe o di *biofilm* (6). *Legionella* cresce a temperature comprese tra 25°C e 45°C, ma può sopravvivere anche a temperature comprese tra 5,7°C e 63°C, soprattutto se l'acqua è stagnante (7-8). La suscettibilità degli individui alla stessa fonte di infezione dipende da singoli fattori di rischio dell'ospite e da malattie concomitanti (8).

Ad oggi, sono state segnalate 61 specie e più di 70 sierogruppi (sg) di *Legionella* (9). In particolare, la specie *L. pneumophila*, che è più frequentemente associata a malattie umane, comprende 16 sierogruppi. Sebbene studi precedenti abbiano dimostrato che i ceppi di *L. pneumophila* sg 1 siano la maggior causa di malattia nell'uomo, un numero crescente di casi è attribuito ad altre specie e sierogruppi (8, 10-12).

La sorveglianza della legionellosi in Europa è coordinata dal Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie (*European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC), in Italia dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), dove è sottoposta a notifica obbligatoria e a un sistema di sorveglianza speciale che consente di raccogliere numerose informazioni sul paziente (età, sesso, presenza di malattie, attività lavorativa, ricovero ospedaliero, abitudini sociali, ecc.). Secondo i dati nazionali (13), nel 2018 sono stati segnalati in Italia 2.964 casi (2.876 confermati e 88 probabili) di legionellosi (48,9 casi/1 milione di abitanti), corrispondenti a un leggero aumento rispetto all'anno precedente (33,2/1.000.000). Dopo i casi associati alla comunità (84,2%), il maggior numero di casi è stato associato ai viaggi (10,1%), seguito da casi associati alle strutture sanitarie (3,4%) e altro (0,1%) (12, 13). Il test dell'antigene urinario si conferma lo strumento diagnostico più utilizzato (96,3%). Complessivamente, il tasso di mortalità in Italia varia dal 10,9% per i casi comunitari al 51,7% per i casi nosocomiali (13).

Nel 2015, tutte le linee guida nazionali per la prevenzione e il controllo della legionellosi sono state incorporate in un unico documento aggiornato (14) rivolto alle strutture turistico-ricettive, sanitarie e termali. Queste Linee Guida riportano la valutazione del rischio come una delle misure di prevenzione più efficaci per la gestione della contaminazione da *Legionella* nei sistemi idrici.

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (*World Health Organization*, WHO), tra tutti i patogeni presenti nell'acqua, *Legionella* causa il maggiore onere sotto il profilo sanitario nell'Unione Europea. Pertanto il 1° febbraio 2018 la Commissione Europea a Bruxelles ha adottato la proposta di rifusione della Direttiva del Parlamento Europeo e del Consiglio concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, includendo *Legionella* tra i microrganismi da ricercare (15). La proposta di rifusione si prefigge di aggiornare gli standard

qualitativi dell'acqua; introdurre un approccio basato sul rischio per il controllo dell'acqua; migliorare le informazioni sulla qualità dell'acqua e sui servizi idrici per i consumatori; armonizzare le norme relative ai prodotti a contatto con l'acqua potabile; migliorare l'accesso all'acqua.

Successivamente, tale proposta ha subito alcuni aggiornamenti (16) che hanno riguardato, tra le diverse modifiche alla Direttiva Europea, anche il valore del parametro *Legionella* pari a 1000 UFC/L (Unita Formanti Colonie per litro). Tale valore non è definito come obiettivo in termini di salute, ma come valore soglia che può far scattare una valutazione del rischio e provvedimenti correttivi. Tali azioni potrebbero essere prese in considerazione anche al di sotto del valore di parametro, ad esempio in caso di infezioni e focolai. In questi casi va confermata la fonte dell'infezione e identificata la specie a cui appartiene.

Presenza nelle reti di distribuzione di acqua potabile

A temperature comprese tra 20 e 50°C *Legionella* è in grado di colonizzare gran parte dei sistemi artificiali deputati alla distribuzione idrica all'interno degli edifici. I principali siti di colonizzazione batterica sono tubazioni, caldaie (soprattutto se contenenti sedimenti), vasi di espansione a membrana, serbatoi di stoccaggio, nonché raccordi, rubinetteria e dispositivi accessori collegati ai sistemi di approvvigionamento idrico. Una menzione particolare meritano le apparecchiature mediche e odontoiatriche che contengono acqua o sono alimentate dalla rete idrica, in quanto utilizzate a stretto contatto con i soggetti sottoposti a trattamento.

La proliferazione è favorita da temperature superiori a 25°C, dalla stagnazione e dalla formazione di biofilm soprattutto in presenza di protozoi, incrostazioni e depositi derivanti da fenomeni di corrosione. Tutti questi elementi sono normalmente presenti nei sistemi di distribuzione di acqua calda sanitaria dei grandi edifici, inclusi alberghi, ospedali e case di cura.

La formazione di biofilm è favorita non solo da elevati livelli di carbonio organico assimilabile ma anche da alcuni materiali utilizzati negli impianti idraulici, quali, ad esempio, polietilene, PVC, acciaio zincato e ghisa. Il prolungato ristagno di acqua in zone remote o poco utilizzate della rete idrica e nei vasi di espansione rappresenta una delle principali cause di proliferazione incontrollata del batterio a cui spesso consegue la retrocontaminazione dell'intera rete idrica (17-22).

Prevenzione della contaminazione delle reti idriche interne agli edifici

In condizioni normali di esercizio non è possibile escludere l'ingresso di microorganismi nelle reti idriche interne agli edifici: l'acqua potabile erogata dalla rete pubblica di approvvigionamento può veicolare singoli microorganismi o amebe contenenti batteri e/o virus provenienti dal distacco di biofilm o da sporadici episodi di contaminazione associati a operazioni di ampliamento o riparazione della rete idrica esterna. La concentrazione residua di disinfettante nella rete acquedottistica, così come la temperatura dell'acqua (normalmente inferiore ai 15°C), sono generalmente sufficienti a contenere i livelli di contaminazione microbiologica, preservando l'acqua da proliferazioni attive. I bassi livelli di *Legionella* occasionalmente riscontrata nelle reti di approvvigionamento idrico esterne agli edifici raramente rappresentano un reale rischio per la salute umana. Diversamente, all'interno degli edifici, il disinfettante residuo veicolato dall'acqua in ingresso risulta spesso inefficace nella prevenzione della proliferazione microbica a causa delle

criticità già descritte nel capitolo precedente. Sono quindi necessarie ulteriori misure per contrastare gli effetti avversi di tali criticità evitando, soprattutto, che l'acqua ristagni a temperature favorevoli alla crescita batterica.

L'erogazione di acqua fredda deve essere mantenuta a temperature non superiori a 20°C, isolando tubazioni, serbatoi di stoccaggio ed eventuali dispositivi di trattamento (come, ad esempio, gli addolcitori) dal contatto con possibili sorgenti di calore. Viceversa, l'acqua calda sanitaria deve essere stoccata e distribuita a temperature non inferiori a 50°C, limite al di sopra del quale si riscontra la progressiva inattivazione del batterio (23-26). In particolare, la temperatura dell'acqua all'interno dei boiler e dei serbatoi di stoccaggio deve raggiungere 60°C almeno una volta al giorno. Tale temperatura deve essere garantita in tutti i punti del boiler, incluso il fondo, anche nei momenti di forte richiesta idrica. I serbatoi devono essere accessibili per la pulizia di possibili accumuli di fango o di altri depositi. Serbatoi, filtri e altre apparecchiature devono essere ispezionabili e non devono presentare punti ciechi o altre zone di ristagno.

Particolare attenzione deve essere prestata alla protezione degli impianti idraulici durante la costruzione o la ristrutturazione di nuovi edifici ospedalieri. Prima dell'apertura di un nuovo padiglione, la rete idrica interna deve essere accuratamente bonificata da possibili contaminazioni microbiologiche e l'acqua dell'impianto di distribuzione deve essere sottoposta a test di qualità microbiologica in grado di accertare anche l'assenza di *Legionella*.

Trattamenti per la bonifica delle reti idriche: aspetti generali

Le procedure per contrastare la contaminazione da *Legionella* iniziano con una corretta progettazione e installazione degli impianti per poi proseguire attraverso un'efficace manutenzione degli stessi che garantisca oltre che la funzionalità anche la relativa igienicità.

Quando una rete di distribuzione di acqua calda sanitaria viene contaminata da *Legionella* è necessario intervenire prontamente con una o più misure di decontaminazione e controllo da espletare in modo continuo o intermittente. Allo stato attuale delle conoscenze nessuno dei trattamenti proposti è in grado di assicurare l'eradicazione completa e permanente del batterio dalla rete idrica sottoposta a bonifica: risulta, quindi, necessario reiterare gli interventi nel tempo anche in funzione del livello di contaminazione riscontrato in campioni di acqua calda sanitaria prelevati periodicamente dai siti più rappresentativi della rete idrica in esame.

La scelta delle procedure più appropriate tra quelle di tipo meccanico, fisico e/o chimico è fortemente condizionata dalle caratteristiche della struttura in cui si intende operare, dell'impianto idrico e dell'acqua veicolata. Gli interventi di tipo meccanico, basati sull'eliminazione di incrostazioni e biofilm, sulla segregazione delle zone stagnanti nonché sull'inibizione della corrosione, appartengono alla categoria dei provvedimenti primari da perseguire soprattutto in fase di manutenzione. Viceversa, quelli di tipo fisico e/o chimico sono interventi di vera e propria bonifica ed eventualmente di mantenimento delle condizioni igieniche raggiunte.

Nei capitoli seguenti sono descritti i principali approcci fisici e chimici attualmente in uso nella bonifica delle reti idriche ospedaliere e alberghiere.

Metodi fisici per la bonifica delle reti idriche

Shock termico e disinfezione termica notturna

Tra i trattamenti fisici quello più noto è l'innalzamento della temperatura dell'acqua, praticato secondo due modalità:

- shock termico, durante il quale si eleva saltuariamente la temperatura a 70° - 80°C e si lascia scorrere l'acqua per un tempo di 30 min attraverso tutti i rubinetti, compresi quelli distali;
- disinfezione termica notturna, basata sul mantenimento della temperatura tra 55 e 60°C nella rete e a monte della miscelazione con acqua fredda.

Le due procedure si basano sulle evidenze acquisite dall'analisi delle curve di sopravvivenza del batterio in funzione della temperatura: nel caso di *L. pneumophila* il tempo minimo necessario per la riduzione del 90% della concentrazione del batterio (1 Log) è di 80-380, 19-27, 2-5 e 1 min rispettivamente a 50°, 55°, 60° e 70°C (27-29). Nel migliore dei casi questo tipo di trattamento produce risultati positivi fino al medio termine in quanto si assiste alla ricolonizzazione dell'impianto dopo settimane o mesi dal termine delle operazioni di bonifica (30, 31). Per gli edifici più vecchi, dove può esserci un significativo accumulo di calcare all'interno delle tubazioni, può essere necessario un tempo di risciacquo aggiuntivo al fine di contrastare l'inerzia termica derivante dalle proprietà isolanti del calcare. In tutti i casi occorre comunque fare attenzione a ridurre al minimo il rischio di scottature o allagamenti involontari durante la messa in atto delle procedure.

Filtrazione al punto d'uso

I filtri installati in prossimità dei punti di utilizzo dell'acqua calda sanitaria sono dispositivi progettati per trattare piccoli flussi di acqua mediante l'impiego di una barriera meccanica in grado di rimuovere particelle di dimensioni superiori a 0,2 µm (microfiltrazione). Gli operatori ospedalieri, i proprietari di edifici, di alberghi e di case di cura utilizzano tipicamente dispositivi di filtrazione al punto d'uso (*Point Of Use*, POU), sia come misura proattiva, ma anche in risposta a situazioni di emergenza (in particolare nei reparti ospedalieri dove sono ricoverati pazienti ad elevato rischio).

È un sistema di trattamento localizzato, facile da installare, basato sull'impiego di filtri che devono essere sostituiti con regolarità a causa del progressivo intasamento. Uno studio, condotto in un centro oncologico della Pennsylvania nordoccidentale, ha evidenziato che i filtri POU di nuova generazione sono in grado di rimuovere *Legionella* dall'acqua filtrata per un periodo di 12 settimane (32).

Tali dispositivi possono incrementare la contaminazione della rete idrica a monte del punto di installazione se non vengono adottate ulteriori misure di controllo.

Irraggiamento UV

I raggi UV, generati da lampade al mercurio o allo xenon all'interno di una camera idraulica nella quale scorre l'acqua calda sanitaria, sono in grado di produrre danni al genoma e al sistema enzimatico del batterio: in particolare la radiazione a 254 nm ostacola la replicazione dei batteri a seguito della dimerizzazione della timina presente nel DNA. Le lesioni prodotte dall'irraggiamento UV sono in parte contrastate dalla fotoriattivazione a 320-370 nm promossa

dall'enzima fotoliasi presente nel batterio, a seguito della quale si ha la riparazione del DNA danneggiato. L'irraggiamento continuo per 20 min ad una dose di 30 W·s/cm² a 254 nm produce una diminuzione di 5 Log in *L.pneumophila* (33), ma sono necessarie dosi almeno 3 volte superiori in caso di esposizione del batterio alla luce fotoriattivante (34).

La radiazione UV non ha alcun tipo di effetto residuo su *Legionella* o biofilm presente a valle del dispositivo di trattamento. Negli ospedali le unità di irraggiamento vengono installate vicino ai punti di utilizzo, insieme a sistemi di prefiltrazione per prevenire l'accumulo di calcare.

Flussaggio programmato

È noto come la stagnazione prolungata dell'acqua all'interno delle tubazioni e dei serbatoi favorisca, nel tempo, la proliferazione di *Legionella* nelle reti idriche contaminate dal batterio. Tale condizione deve essere contrastata efficacemente eliminando le zone morte eventualmente presenti lungo la rete e praticando il flussaggio di tutti i terminali remoti in disuso con una frequenza non inferiore a quella settimanale. Durante il flussaggio l'acqua stagnante nel tratto di rete inutilizzato viene sostituita dalla massa d'acqua presente nelle parte attiva della rete, determinando una progressiva riduzione della concentrazione di *Legionella* e un parziale distacco del biofilm contaminato (35).

La procedura di flussaggio deve essere eseguita da personale addestrato e competente, utilizzando adeguati dispositivi di protezione individuale e adottando adeguate misure per il contenimento del rischio di esposizione di pazienti o residenti.

La procedura deve includere i seguenti step:

- rimozione, pulizia e sanitizzazione di filtri, limitatori di flusso e soffioni;
- flussaggio di ciascun terminale remoto con acqua fredda per un tempo non inferiore a 5 min;
- flussaggio dei suddetti terminali con acqua calda per un tempo sufficiente alla stabilizzazione della temperatura e comunque non inferiore a 5 min, limitando al minimo la produzione di aerosol;
- ripristino dei dispositivi precedentemente disassemblati.

Nelle strutture ospedaliere e in quelle alberghiere il flussaggio delle zone remote può essere automatizzato mediante l'installazione di elettrovalvole azionate periodicamente da dispositivi di controllo.

Metodi chimici per la bonifica delle reti idriche

Clorazione

Il cloro è un disinfettante utilizzato con successo dai gestori acquedottistici nazionali e internazionali nel controllo igienico-sanitario delle acque potabili. Nel territorio dell'Unione Europea la concentrazione consigliata all'utenza (pari a 0,2 mg/L) consente di tenere sotto controllo la contaminazione di origine fecale evitando al contempo la formazione di sottoprodotti della disinfezione in concentrazione superiore ai corrispondenti valori guida raccomandati dalla WHO. Nel trattamento di acqua calda sanitaria contaminata da *Legionella* è necessario un dosaggio più elevato a causa della maggiore resistenza del batterio al disinfettante (dalle 40 alle 68 volte superiore a quella riscontrata per *E. coli* (36)). La resistenza di *Legionella* all'azione

biocida del cloro è ulteriormente potenziata dall'azione protettiva esercitata da biofilm e protozoi, come le amebe, all'interno dei quali il batterio continua a moltiplicarsi (37).

Per la disinfezione delle reti idriche interne contaminate da *Legionella* si utilizzano due approcci:

- l'iperclorazione shock, nella quale la concentrazione di cloro residuo viene mantenuta tra 20 e 50 mg/L per 1-2 ore;
- l'iperclorazione continua, nella quale la concentrazione del disinfettante oscilla tra 1 e 3 mg/L per un tempo prolungato.

In entrambi i casi è necessario incrementare la concentrazione del biocida già presente nell'acqua erogata dal gestore acquedottistico, monitorando attentamente i fenomeni avversi che si possono innescare nella rete, quali, ad esempio, la corrosione delle tubature, la formazione di sottoprodotti della disinfezione e l'incremento di tossicità per l'utenza. Inoltre, poiché il cloro si solubilizza in acqua come acido ipocloroso e ipoclorito, in equilibrio acido-base tra loro, è necessario operare a pH non superiori a 7,5 al fine di garantire una prevalenza della forma neutra indissociata, nota per essere più attiva nei confronti del batterio.

L'iperclorazione viene comunemente effettuata per aggiunta di una soluzione concentrata di ipoclorito di sodio contenente idrossido di sodio come stabilizzante. Recentemente è stato proposto l'impiego di cloro generato elettroliticamente a pH < 7,5 a partire da soluzioni contenenti cloruro di sodio al fine di contrastare le problematiche emerse durante l'impiego di ipoclorito di sodio (38-40).

Cloramminazione

La monoclorammina è il composto più attivo tra le clorammine inorganiche (cloro combinato) che si formano aggiungendo ipoclorito ad una soluzione acquosa contenente ammoniacale. Pur essendo un ossidante più debole del cloro, il suo impiego in concentrazioni comprese tra 1,5 e 3,0 mg/L si è recentemente affermato nel trattamento delle reti idriche contaminate da *Legionella* a causa della maggiore stabilità chimica e inerzia al pH, caratteristiche alle quali sono associate una maggiore penetrazione nel biofilm e nei rami morti della rete idrica (41).

La coltivabilità cellulare di *L. pneumophila* diminuisce significativamente dopo 24 ore di esposizione a 1 mg/L di monoclorammina e si arresta del tutto per concentrazioni del biocida prossime a 1,5 mg/L (42).

Tra gli effetti avversi segnalati durante l'impiego di questo disinfettante figurano l'incremento di micobatteri e di coliformi totali (43-45), la nitrificazione (46), l'interazione con gomme e plastiche e la formazione di clorammine organiche.

Trattamento con biossido di cloro

Il biossido di cloro è un potente ossidante prodotto *in situ* per miscelazione di due reagenti (prevalentemente clorito di sodio e acido cloridrico o, in alternativa, clorato di sodio e acido solforico) in condizioni rigorosamente controllate. È un biocida molto efficace nell'eliminazione di agenti patogeni come *Legionella* e nel controllo del biofilm (47-48), ma la sua efficacia, indipendente dal pH, può essere vanificata sia dalla sua naturale instabilità sia dalla forte reattività con tubazioni, valvole e giunti in ferro, ghisa o rame: questi fenomeni determinano un rapido decadimento della sua concentrazione per riduzione a clorito, soprattutto nei punti più distali della rete idrica dove maggiore è il rischio di proliferazione batterica.

La concentrazione efficace consigliata da alcuni autori varia tra 0,1 e 1,0 mg/L a seconda delle peculiarità dell'impianto, delle caratteristiche chimiche dell'acqua e del livello quali-quantitativo della contaminazione da *Legionella*.

In caso di forte contaminazione microbiologica, è stato proposto un trattamento shock della rete con concentrazioni comprese tra 5 e 10 mg/L, assicurando il flussaggio di tutti i punti di prelievo. Al termine del trattamento shock, durante il quale deve essere interdetto il consumo dell'acqua calda sanitaria a uso potabile, quest'ultima viene drenata e sostituita con un nuovo apporto fino a ridurre la concentrazione del biocida ai livelli di mantenimento (0,1-1,0 mg/L).

Tra le problematiche segnalate nell'utilizzo di questo disinfettante figura la scarsa attendibilità di alcuni metodi analitici correntemente in uso nel dosaggio della concentrazione residua di ClO₂ in acqua, a cui è stata associata una sovrastima del valore presso i punti distali della rete idrica.

Ozonizzazione

L'ozono è un disinfettante più efficace del cloro, del biossido di cloro e della monoclorammina nella riduzione di patogeni veicolati dall'acqua. Prove condotte in laboratorio hanno evidenziato che a seguito del trattamento in continuo con 1-2 mg/L di ozono si ha una riduzione di 5 Log nella concentrazione di *L. pneumophila* dopo 3 ore di contatto (33). Concentrazioni di ozono pari a 0,1-0,3 mg/L consentono un abbattimento di 2 Log nell'arco di 5 min (49).

L'ozono può danneggiare le tubazioni della rete idrica e ha un tempo di dimezzamento estremamente breve soprattutto in acqua calda, rendendo praticamente impossibile il suo impiego come disinfettante sistemico.

Ionizzazione rame-argento

Cationi metallici, come quelli di rame e argento, sono in grado di legarsi alla parete cellulare batterica carica negativamente, alterando la sua permeabilità. Questo fenomeno, insieme alla denaturazione delle proteine, porta alla lisi cellulare e alla morte del batterio (50).

Operando alla temperatura di 45°C è stata registrata una riduzione di 5 Log di *Legionella* dopo 1 ora dall'aggiunta di ioni argento e rame alle rispettive concentrazioni di 80 e 800 µg/L e dopo 24 ore quando la concentrazione era, rispettivamente, 20 e 200 µg/L (51). Il dosaggio consigliato è quindi di 0,02-0,08 mg/L per lo ione argento e di 0,2-0,8 mg/L per lo ione rame (52-53). Tali valori possono essere raggiunti sia per dosaggio diretto di soluzioni concentrate che per via elettrolitica, utilizzando camere di ionizzazione a flusso continuo contenenti elettrodi di rame e argento.

Acque dure o con pH superiori a 8,0 possono limitare l'efficacia della ionizzazione a seguito della precipitazione degli ioni di rame. In presenza di ioni cloruro, la concentrazione degli ioni argento si riduce significativamente alterando la sua capacità biocida (54). Analogamente l'impiego di agenti anticorrosivi, come, ad esempio, i fosfati, determina un impatto negativo sull'efficacia degli ioni rame-argento (55).

In alcuni ospedali sono stati segnalati casi di *L. pneumophila* derivanti dallo sviluppo di resistenza del batterio agli ioni rame-argento dopo anni di utilizzo del sistema di ionizzazione (56).

Trattamento con perossido di idrogeno e ioni argento

Viene effettuato tramite una soluzione stabile e concentrata contenente perossido di idrogeno (acqua ossigenata) e ioni argento, sfruttando l'azione battericida di ciascun componente e la

sinergia che tra di loro si sviluppa (effetto catalitico dello ione argento). La concentrazione in acqua proposta per il controllo della contaminazione della rete idrica è di 10 mg/L per il perossido di idrogeno e di 10 µg/L per lo ione argento.

Studi condotti nell'ambito di un accordo di collaborazione tra Istituto Superiore di Sanità (ISS) e Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari (APSS) di Trento hanno evidenziato la sua scarsa efficacia nei confronti di *L. pneumophila* sg 1 sottotipo Philadelphia, quando la temperatura dell'acqua scende al di sotto dei 45°C. Poiché le concentrazioni di perossido di idrogeno e di ioni argento sono soggette a fluttuazioni, è necessario controllare sistematicamente il loro valore. Tale tecnica non è adatta al trattamento di reti idriche in acciaio zincato dal momento che lo zinco è in grado di rimuovere l'argento per ossidoriduzione.

Bibliografia

1. Costa J, da Costa MS, Verissimo A. Colonization of a therapeutic spa with Legionella spp: a public health issue. *Res Microbiol* 2010;161(1):18-25.
2. De Giglio O, Napoli C, Apollonio F, Brigida S, Marzella A, Diella G, Calia C, Scrascia M, Pacifico C, Pazzani C, Uricchio VF, Montagna MT. Occurrence of Legionella in groundwater used for sprinkler irrigation in Southern Italy. *Environ Res* 2019;170:215-21.
3. Graells T, Ishak H, Larsson M, Guy L. The all-intracellular order Legionellales is unexpectedly diverse, globally distributed and lowly abundant. *FEMS Microbiol Ecol* 2018;94(12):fy185.
4. Haupt TE, Heffernan RT, Kazmierczak JJ, Nehls-Lowe H, Rheineck B, Powell C, Leonhardt KK, Chitnis AS, Davis JP. An outbreak of Legionnaires disease associated with a decorative water wall fountain in a hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012;33(2):185-91.
5. Montagna MT, Cristina ML, De Giglio O, Spagnolo AM, Napoli C, Cannova L, Deriu MG, Delia SA, Giuliano A, Guida M, Laganà P, Liguori G, Mura I, Pennino F, Rossini A, Tardivo S, Torre I, Torregrossa MV, Villafrate MR, Albertini R, Pasquarella C. Serological and molecular identification of Legionella spp. isolated from water and surrounding air samples in Italian healthcare facilities. *Environ Res* 2016;146:47-50.
6. Fields BS. The molecular ecology of legionellae. *Trends Microbiol* 1996;4(7):286-90.
7. Borella P, Montagna MT, Stampi S, Stancanelli G, Romano-Spica V, Triassi M, Marchesi I, Bargellini A, Tatò D, Napoli C, Zanetti F, Leoni E, Moro M, Scaltriti S, Ribera D'Alcalà G, Santarpia R, Boccia S. Legionella contamination in hot water of Italian hotels. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(10):5805-13.
8. Napoli C, Fasano F, Iatta R, Barbuti G, Cuna T, Montagna MT. Legionella spp. and legionellosis in southeastern Italy: disease epidemiology and environmental surveillance in community and health care facilities. *BMC Public Health* 2010;10:660.
9. Euzéby JP. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. *Int J Syst Bacteriol* 1997;47(2):590-2.
10. Palmer A, Painter J, Hassler H, Richards VP, Bruce T, Morrison S, Brown E, Kozak-Muiznieks NA, Lucas C, McNealy TL. Legionella clemsonensis sp. nov.: a green fluorescing Legionella strain from a patient with pneumonia. *Microbiol Immunol* 2016; 60(10):694-701.
11. Relich RF, Schmitt BH, Raposo H, Barker L, Blosser SJ, May M. Legionella indianapolisensis sp. nov., isolated from a patient with pulmonary abscess. *Int J Infect Dis* 2018;69:26-28.
12. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Legionnaires' disease. *ECDC Annual Epidemiological Report for 2017*. ECDC;2019.
13. Rota MC, Caporali MG, Bella A, Scaturro M, Giannitelli S, Ricci ML. Rapporto Annuale sulla Legionellosi in Italia nel 2018. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2019; 32:7-13.

14. Ministero della Salute. *Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi*. Roma Ministero della Salute; 2015. Disponibile all'indirizzo: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2362_allegato.pdf; ultima consultazione 28/7/2020.
15. Commissione Europea. *Proposta di direttiva del Parlamento europeo e del Consiglio concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano (rifusione)*. Bruxelles: Commissione Europea; 2018. (COM(2017) 753 final).
16. Consiglio dell'Unione europea. *Proposta di direttiva del Parlamento europeo e del Consiglio concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano (rifusione) – Orientamento generale. REV 1*. Bruxelles: Consiglio dell'Unione europea; 2019. (6876/1/19 REV 1).
17. Dondero TJ, Rendtorff RC, Mallison GF, Weeks RM, Levy JS, Wong EW, Schaffner W. An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. *N Engl J Med* 1980;302(7):365-70.
18. Kramer M, Beer G, Nechwatal R, Exner M, Klatte OJ, Ehret W. Case study of a Legionella epidemic in a rehabilitation clinic. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1992;193(3):262-71.
19. Breiman RF. Modes of transmission in epidemic and non-epidemic Legionella infection: directions for further study, in Legionella: current status and emerging perspectives, J.M. Barbaree, R.F. Breiman, and A.P. Dufour, Editors American Society for Microbiology: Washington DC 1993,129-36.
20. Mermel LA, Josephson SL, Giorgio CH, Dempsey J, Parenteau S. Association of Legionnaires' disease with construction: contamination of potable water? *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16(2):76-81.
21. Straus WL, Plouffe JF, File TM Jr, Lipman HB, Hackman BH, Salstrom SJ, Benson RF, Breiman RF. Risk factors for domestic acquisition of legionnaires disease. Ohio legionnaires Disease Group. *Arch Intern Med* 1996;156(15):1685-92.
22. Memish ZA, Oxley C, Contant J, Garber GE. Plumbing system shock absorbers as a source of Legionella pneumophila. *Am J Infect Control* 1992;20(6):305-9.
23. NHMRC. *Guidance on control of Legionella*. Canberra: National Health and Medical Research Council; 1996.
24. Health and Safety Executive. *Legionnaires' disease: the control of legionella bacteria in water system: approved code of practice and guidance*. London: HSE Books; 2000.
25. DVGW. *Trinkwassererwärmungs- und Leitungsanlagen; technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums*. [Drinking-water heating system and conduits: technical measures to decrease Legionella growth]. Vol. Arbeitsblatt W551. Bonn: Deutscher Verein für das Gas- und Wasserfach; 1996.
26. Gezondheidsraad. *Prevention of legionellosis, recommendations from a committee of the Health Council of the Netherlands*. The Hague: Gezondheidsraad (Health Council of the Netherlands); 1986.
27. Dennis PJ, Green D, Jones BP. A note on the temperature tolerance of Legionella. *J Appl Bacteriol* 1984;56(2):349-50.
28. Schulze-Röbbecke R, Rödder M, Exner M. Multiplication and killing temperatures of naturally occurring legionellas. *Zentralbl Bakteriolog Mikrobiol Hyg B*. 1987;184(6):495-500.
29. Lin YS, Stout JE, Yu VL, Vidic RD. Disinfection of water distribution systems for Legionella. *Semin Respir Infect* 1998;13(2):147-59.
30. Ezzeddine H, Van Ossel C, Delmée M, Wauters G. Legionella spp. in a hospital hot water system: effect of control measures. *J Hosp Infect* 1989;13(2):121-31.
31. Muraca PW, Yu VL, Goetz A. Disinfection of water distribution systems for legionella: a review of application procedures and methodologies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990;11(2):79-88.

32. Baron JL, Peters T, Shafer R, MacMurray B, Stout JE. Field evaluation of a new point-of-use faucet filter for preventing exposure to Legionella and other waterborne pathogens in health care facilities. *Am J Infect Control* 2014;42(11):1193-6.
33. Muraca P, Stout JE, Yu VL. Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing Legionella pneumophila within a model plumbing system. *Appl Environ Microbiol* 1987;53(2):447-53.
34. Knudson GB. Photoreactivation of UV-irradiated Legionella pneumophila and other Legionella species. *Appl Environ Microbiol* 1985;49(4):975-80.
35. Health & Safety Executive. *Legionnaires' disease. The control of legionella bacteria in water systems. Vol. HSG274 Part 2*. Norwich: HSE Books; 2013
36. Kuchta JM, States SJ, McNamara AM, Wadowsky RM, Yee RB. Susceptibility of Legionella pneumophila to chlorine in tap water. *Appl Environ Microbiol* 1983;46(5):1134-9.
37. Kuchta, JM. Effect of chlorine on the survival and growth of Legionella pneumophila and Hartmanella vermiformis. In: Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AF (Ed.). *Legionella: current status and emerging perspectives*. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1993.
38. Migliarina F, Ferro S. A Modern Approach to Disinfection, as Old as the Evolution of Vertebrates Healthcare (Basel) 2014; 2(4):516-26.
39. Thorn RMS, Lee SWH, Robinson GM, Greenman J, Reynolds DM. Electrochemically activated solutions: evidence for antimicrobial efficacy and applications in healthcare environments. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(5):641-53.
40. Totaro M, De Vita E, S Giorgi, Profeti, Porretta SA, Gallo Antonio, Frendo L, Casini B, Valentini P, Privitera G, Baggiani A. Comparison of Anolyte and Chlorine Dioxide for a Continuous Hot Water Disinfection in Nursing Home: A Two Years Legionnaires' Disease. *Prevention Journal of Water Resource and Protection* 2019;11233-43.
41. Coniglio MA, Stefano M, Mohamed HY. Monochloramine for controlling Legionella in biofilms: how much we know? *J Nat Sci* 2015;1(2):e44.
42. Turetgen I. Induction of Viable but Nonculturable (VBNC) state and the effect of multiple subculturing on the survival of Legionella pneumophila strains in the presence of monochloramine. *Ann. Microbiol* 2008;58:153-6.
43. Pryor M, Springthorpe S, Riffard S, Brooks T, Huo Y, Davis G, Sattar SA. Investigation of opportunistic pathogens in municipal drinking water under different supply and treatment regimes. *Water Sci Technol* 2004;50(1):83-90.
44. Moore MR, Pryor M, Fields B, Lucas C, Phelan M, Besser RE. Introduction of monochloramine into a municipal water system: impact on colonization of buildings by Legionella spp. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(1):378-83.
45. Baron JL., Vikram A, Duda S, Stout JE, Bibby K. Shift in the microbial ecology of a hospital hot water system following the introduction of an on-site monochloramine disinfection system. *PLoS One* 2014;9(7):e102679.
46. American Water Works Association. *Manual M56. Nitrification Prevention and Control in Drinking Water*. Denver, CO: AWWA; 2013.
47. Walker JT, Mackerness CW, Mallon D, Makin T, Williets T, Keevil CW. Control of Legionella pneumophila in a hospital water system by chlorine dioxide. *J Ind Microbiol* 1995;15(4):384-90.
48. Hamilton E, Seal DV, Hay J. Comparison of chlorine and chlorine dioxide disinfection for control of Legionella in a hospital potable water supply. *J Hosp Infect* 1996;32(2):156-60.
49. Domingue EL, Tyndall RL, Mayberry WR, Pancorbo OC. Effects of three oxidizing biocides on Legionella pneumophila serogroup 1. *Appl Environ Microbiol* 1988;54(3):741-7.

50. Liu Z, Stout JE, Tedesco L, Boldin M, Hwang C, Diven WF, Yu VL. Controlled evaluation of copper-silver ionization in eradicating *Legionella pneumophila* from a hospital water distribution system. *J Infect Dis* 1994; 169(4):919-22.
51. Rohr U, Senger M, Selenka F. Effect of silver and copper ions on survival of *Legionella pneumophila* in tap water. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1996;198(6):514-21.
52. Lin Yu-Sen E, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of *Legionella pneumophila*. *Water Res* 1996;30(8):1905-13.
53. Walraven N, Pool W, Chapman C. The dosing accuracy of copper and silver ionisation systems: separate high purity copper and silver electrodes versus copper/silver alloys. *J Water Process Eng* 2015;8(9):119-25.
54. Lin YE, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(6): 2711-5.
55. Lin YE Vidic RD. Possible phosphate interference with copper-silver ionization for *Legionella* control. *J Hosp Infect* 2006;62(1):119.
56. Lin YE, Stout JE, Yu VL. Controlling *Legionella* in hospital drinking water: an evidence-based review of disinfection methods. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011.32(2):166-73.