

## **PROVVEDIMENTO 13 gennaio 2005**

Accordo, ai sensi dell'articolo 4 del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, tra il Ministero della salute e i presidenti delle regioni e delle province autonome, avente ad oggetto «Linee guida recanti indicazioni ai laboratori con attività di diagnosi microbiologica e controllo ambientale della legionellosi». (G.U. n. 29 del 5.02.2005)

### **LA CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI TRA LO STATO, LE REGIONI E LE PROVINCE AUTONOME DI TRENTO E DI BOLZANO**

Visti gli articoli 2, comma 1, lettera b), e 4 del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, che attribuiscono a questa Conferenza la facoltà di promuovere e sancire accordi tra il Governo e le regioni e le province autonome, in attuazione del principio di leale collaborazione, al fine di coordinare l'esercizio delle rispettive competenze e svolgere attività di interesse comune; Rilevato che le infezioni da Legionella sono sottoposte a sorveglianza speciale da parte dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), della Comunità europea in cui è operante l'European Working Group for Legionella Infections (EWGLI) e dell'Istituto superiore di sanità del nostro Paese;

Visto il proprio atto rep. n. 936 del 4 aprile 2000, recante linee-guida per la prevenzione e il controllo della legionellosi, con il quale Governo e regioni e province autonome hanno concordato sulla necessità di attivare sul territorio nazionale misure di prevenzione e controllo, ferma restando l'autonomia delle regioni e delle province autonome nell'adottare le soluzioni organizzative più idonee, in relazione alle esigenze della loro programmazione; Vista la proposta di accordo, pervenuta dal Ministero della salute il 12 ottobre 2004, nel testo predisposto dal Dipartimento di malattie infettive, parassitarie ed immunomediate dell'Istituto superiore di sanità, che tiene conto delle Linee guida di cui al citato atto rep. n. 936 del 4 aprile 2000;

Considerati gli esiti dell'incontro tecnico intervenuto sull'argomento il 18 novembre 2004, nel corso del quale i rappresentanti del Ministero della salute e delle regioni e delle province autonome hanno congiuntamente perfezionato il testo della proposta di accordo in esame;

Acquisito l'assenso del Ministro della salute e delle regioni e delle province autonome sul testo del presente accordo;

Sancisce accordo

tra il Ministro della salute e i presidenti delle regioni e delle province autonome, nei termini sotto riportati:

#### **1. Obiettivo.**

Il presente accordo:

si propone di organizzare e orientare le attività dei laboratori nel settore della diagnostica della legionellosi e del controllo ambientale di Legionella;

è rivolto agli operatori di sanità pubblica, ai microbiologi laboratoristi ed a tutto il personale comunque coinvolto nel controllo della legionellosi in Italia.

#### **2. Generalità su Legionella e legionellosi.**

2.1. Il genere Legionella è composto attualmente da 48 specie di batteri Gram-negativi che comprendono 70 distinti sierogruppi. Le legionelle sopravvivono come parassiti intracellulari nei protozoi di acqua dolce o nei biofilms.

La Legionella pneumophila, composta da 15 sierogruppi, è la specie

predominante nella patologia umana. Dagli ambienti acquatici naturali, laghi, corsi d'acqua, acque termali, la Legionella può contaminare gli ambienti acquatici artificiali, acque condottate cittadine, impianti idrici degli edifici, piscine e fontane.

2.2. L'infezione avviene principalmente per via respiratoria, mediante inalazione o microaspirazione di goccioline o particelle di polvere umida. Le vie di trasmissione sono prevalentemente tutti i sistemi generanti aerosol (docce, rubinetti, idromassaggi, fontane, sistemi di condizionamento dell'aria, torri di raffreddamento). Anche l'uso di apparecchiature per la respirazione assistita è spesso causa di infezione.

Il rischio dell'acquisizione della malattia è prevalentemente correlato a due fattori: la suscettibilità del soggetto esposto e l'intensità di esposizione (virulenza, carica batterica infettante e tempo di esposizione).

Fattori predisponenti la malattia, legati al soggetto, sono l'età avanzata, il fumo di sigaretta, la presenza di malattie croniche e l'immunodeficienza.

2.3. L'infezione da legionelle può dar luogo a due distinti quadri clinici: la febbre di Pontiac e la malattia dei Legionari:

la febbre di Pontiac è la manifestazione sintomatologica acuta non polmonare dell'infezione da Legionella. Ha un'incubazione molto breve, 36-48 ore, ed ha caratteristiche simil-influenzali;

la malattia dei Legionari ha un esordio brusco con un'incubazione da 2 a 10 giorni. Si manifesta con un interessamento polmonare lombare di discreta o notevole gravità. A volte vengono riportati sintomi extrapolmonari, quali dolori gastrointestinali, alterazione dello stato mentale e disturbi cardiaci.

Le legionelle sono responsabili dell'1-5% dei casi totali di polmonite comunitaria e del 20-30% di tutte le polmoniti nosocomiali.

Nel 2001 l'incidenza della malattia è stata pari a 5,7 casi per milione di abitanti, con una letalità totale del 13% che raggiunge il 22% nei casi nosocomiali.

### 3.I. Laboratori.

#### 3.1. Articolazione dei laboratori.

La ricerca di Legionella nei campioni clinici ed ambientali è fondamentale per il controllo della legionellosi. A tale scopo i laboratori con attività di diagnosi e controllo ambientale per Legionella si organizzano in tre livelli gerarchici, con ordine crescente di responsabilità diagnostica, attività e strutture:

- 1) laboratori di base;
- 2) laboratori regionali di riferimento;
- 3) laboratorio nazionale di riferimento.

#### 3.2. Laboratori di base.

Rappresentano la base della piramide funzionale della rete di sorveglianza della legionellosi. Essi sono distribuiti in tutto il territorio nazionale come sezione funzionale separata all'interno di un laboratorio pubblico di analisi ospedaliero o di sanità pubblica o ambientale.

##### 3.2.1. Funzioni.

I laboratori di base:

effettuano diagnosi microbiologica di legionella da campioni clinici e/o ambientali;  
comunicano al livello superiore, ovvero al laboratorio regionale di riferimento, i campionamenti effettuati e i loro risultati;

inviano i campioni clinici ed ambientali al laboratorio regionale di riferimento in caso di diagnosi dubbia e/o per l'identificazione a livello di singola specie e/o sierogruppo.

#### 3.2.2. Requisiti.

Per svolgere queste funzioni, il laboratorio di base deve possedere i seguenti requisiti:

##### 3.2.2.1. Strutture ed attrezzature:

- a) locali ed attrezzature compatibili almeno con un livello di contenimento 2, cappa a flusso laminare di classe 2 con filtri HEPA;
- b) locali confinati al solo personale autorizzato (con divieto di consumare cibi e bevande);
- c) dispositivi di protezione individuali (camici, guanti, maschere, schermi od occhiali);
- d) incubatore a 37 °C con 2,5% di CO<sub>2</sub>;
- e) bagno termostatico;
- f) autoclavi per smaltire adeguatamente campioni ambientali e biologici potenzialmente infetti;
- g) terreni di coltura per Legionella species sottoposti a controllo di qualità per ogni lotto, verificando la crescita sia di Legionella pneumophila che di Legionella bozemani;
- h) reagenti per discriminare Legionella in: Lp1, Lp2-14 e Legionella species;
- i) procedure per l'invio di campioni ambientali o biologici ai laboratori regionali di riferimento (contenitori, confezionamento, mezzi di trasporto, ecc.);
- j) kit per la determinazione dell'antigene urinario e per la determinazione del titolo anticorpale (nei laboratori dove si effettua diagnosi anche su campioni clinici);
- k) un congelatore, a - 20 °C o a - 35 °C per la conservazione dei ceppi.

##### 3.2.2.2. Personale.

Il laboratorio deve:

- a) possedere personale tecnico, laureato o diplomato, con le capacità di:
  - isolare Legionella da campioni ambientali e biologici;
  - quantificarla (nel caso di campioni ambientali);
  - identificarla a livello di specie;
- b) possedere e garantire al personale il possesso di procedure operative standard, sulla base di quelle fornite dall'Istituto superiore di sanità o da altri organismi scientifici riconosciuti a livello internazionale, per l'isolamento e la quantificazione di Legionella su campioni ambientali e/o clinici;
- c) partecipare a controlli di qualità organizzati dai laboratori regionali di riferimento;
- d) dare la possibilità al personale di ricevere formazione ed aggiornamento sull'argomento.

#### 3.3. Laboratori regionali di riferimento.

I laboratori regionali di riferimento, che devono essere individuati da ciascuna regione, costituiscono un punto di riferimento per i laboratori di base, ed operano in stretta collaborazione con il laboratorio nazionale di riferimento. Essi utilizzano metodiche aggiornate e validate, per poter confrontare i risultati con i laboratori degli altri Paesi membri della Comunità europea.

##### 3.3.1. Funzioni.

I laboratori regionali di riferimento:

- a) intervengono sempre in caso di cluster e/o di caso singolo, e ogni qualvolta i laboratori di base non sono in grado di identificare con certezza la contaminazione da Legionella o confermare la diagnosi presuntiva da campioni clinici o ambientali;
- b) verificano periodicamente le proprie capacità di isolamento, identificazione e quantificazione attraverso un controllo di qualità interno ed un controllo di qualità esterno, inviato dal laboratorio nazionale di riferimento;
- c) inviano i ceppi di Legionella al laboratorio nazionale di riferimento dell'Istituto superiore di sanità, quando richiesto;
- d) organizzano corsi di formazione per i laboratori di base, in collaborazione con il laboratorio nazionale di riferimento;
- e) agiscono anche da laboratorio di base, ove necessario o in situazioni di emergenza;
- f) trasmettono tempestivamente i risultati delle analisi all'ASL di competenza, per consentire gli interventi necessari in merito alla prevenzione della legionellosi.

#### 3.3.2. Requisiti.

Per svolgere queste funzioni, il laboratorio regionale di riferimento, oltre a tutto quanto già previsto per i laboratori di base, in termini di personale, strutture e attrezzature, deve possedere gli ulteriori seguenti requisiti:

##### 3.3.2.1. Personale:

- a) avere un responsabile o un referente.

##### 3.3.2.2. Strutture e attrezzature:

- a) tutta la strumentazione indicata per i laboratori di base corredata di registri di manutenzione, livello di contenimento di classe 2<sup>a</sup> ed una sezione dedicata alla diagnosi di Legionella;
- b) un microscopio che permetta l'osservazione in fluorescenza;
- c) un personal computer per una facile e rapida archiviazione e consultazione dei dati;
- d) reagenti (anticorpi monoclonali o policlonali) per l'identificazione di Legionella a livello di singola specie e di singolo sierogruppo.

#### 3.4. Laboratorio nazionale di riferimento.

Il laboratorio nazionale di riferimento è situato presso il Dipartimento di malattie infettive, parassitarie ed immuno-mediate dell'Istituto superiore di sanità.

##### 3.4.1. Funzioni.

Il laboratorio nazionale di riferimento svolge i seguenti compiti:

- a) tipizza i ceppi di Legionella inviati dai laboratori di riferimento regionale su base:
  - antigenica: discriminando a livello di sierogruppo e di sottotipo monoclonale;
  - genomica: mediante le opportune tecniche molecolari;
- b) mantiene una ceppoteca con tutti i ceppi ricevuti dai laboratori regionali di riferimento e confermati come Legionella. I ceppi conservati a - 80 °C sono corredati di schede informative, raccolte in una banca dati;
- c) effettua attività di ricerca, per migliorare le conoscenze ed informazioni su aspetti patogenetici, clinici, diagnostici ed ambientali della legionellosi;
- d) partecipa all'European Working Group for Legionella Infections (EWGLI);
- e) mantiene un registro nazionale della legionellosi in cui sono registrate tutte le informazioni anagrafiche, cliniche, microbiologiche ed epidemiologiche di ogni singolo caso notificato;
- f) svolge in collaborazione con altri Dipartimenti e Centri dell'Istituto superiore di sanità e del Ministero della salute, la

sorveglianza epidemiologica internazionale della legionellosi associata ai viaggi;

- g) effettua attività di formazione sulle metodiche di analisi di campioni ambientali e clinici per i dipendenti tecnici e laureati di pubbliche istituzioni (ARPA, ASL, Università);
- h) fornisce consulenze ed expertise tecnica, laddove richiesto, al Ministero della salute ed alle regioni;
- i) interviene in situazioni epidemiche particolari in supporto o in sostituzione dei laboratori regionali di riferimento;
- j) organizza insieme ai laboratori regionali di riferimento i controlli di qualità della diagnostica di Legionella.

#### 3.4.2. Requisiti.

3.4.2.1. Il laboratorio nazionale di riferimento deve avere un responsabile.

3.4.2.2. Il laboratorio nazionale di riferimento possiede tutte le strutture e le strumentazioni dei livelli inferiori ed una sezione esclusivamente dedicata alla legionellosi.

Roma, 13 gennaio 2005

Il presidente: La Loggia

Il segretario: Carpino