

UNITÀ DI RICERCA DI SASSARI

SEDE: Istituto di Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi di Sassari – Via Padre Manzella, 4 – 07100 - SASSARI

RESPONSABILE SCIENTIFICO:

Elena Muresu

Professore Ordinario di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228467

Fax: 079 228472

E-mail: muresu@uniss.it

COLLABORATORI:

Ida Mura

Professore Ordinario di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228466

Fax: 079 228472

E-mail: idamura@uniss.it

Paolo Castiglia

Professore Ordinario di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228032

Fax: 079 228472

E-mail: castigli@uniss.it

Antonio Azara

Professore Straordinario di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228470

Fax: 079 228472

E-mail: azara@uniss.it

Andrea Piana

Professore Associato di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228470

Fax: 079 228472

E-mail: piana@uniss.it

Giovanni Sotgiu

Ricercatore, Università di Sassari

Tel: 079 228032

Fax: 079 228472

E-mail: igiene@uniss.it

Maria Dolores Masia

Professore Associato di Igiene, Istituto di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228469

Fax: 079 228472

E-mail: mdmasia@uniss.it

Stefano Posadino

Collaboratore Tecnico, Dottore di ricerca, Istituto di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228471

Fax: 079 228472

E-mail: igiene@uniss.it

Maria Grazia Deriu

Collaboratore Tecnico, Dottore di ricerca, Istituto di Igiene, Università di Sassari

Tel: 079 228471

Fax: 079 228472

E-mail: igiene@uniss.it

COMPETENZE

Presso l'Istituto di Igiene e Medicina Preventiva afferisce il Servizio di epidemiologia, ecologia e prevenzione ospedaliera per le cliniche universitarie e convenzionato con l'Azienda Unità Sanitaria Locale n. 1 di Sassari, nell'ambito del quale viene correntemente eseguito il controllo microbiologico mediante indagini qualitative (*isolamento e sierotipizzazione di Legionella spp.*) e quantitative (*valutazione della carica microbica nell'acqua*).

Presso il suddetto Istituto è stata da tempo allestita una ceppoteca con tutti gli stipiti isolati da materiale ambientale. La loro identificazione viene effettuata su base antigenica (discriminando specie e sierogruppi mediante anticorpi mono-policlonali) e su base genomica, mediante amplificazione del DNA con reazione polimerasica a catena (PCR) e analisi dei frammenti di digestione enzimatica del DNA genomico separati mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE). È particolarmente attivo presso l'Istituto un laboratorio di igiene ambientale prevalentemente orientato all'analisi chimica, chimico-fisica e microbiologica di acque potabili e minerali nell'ambito del quale possono essere verificate l'efficacia ed efficienza dei disinfettanti impiegati e sperimentati nuovi metodi di disinfezione mirati alle specifiche caratteristiche degli impianti idrici colonizzati. Sono inoltre in corso studi sulla associazione tra Entamoeba e legionelle in ambito ospedaliero.

Inoltre, sta per essere formalizzata la richiesta all'Assessorato dell'Igiene e Sanità della Regione Sardegna come Laboratorio di Riferimento Regionale per il controllo della legionellosi.

È infatti in grado di svolgere i seguenti compiti:

- collaborare con i reparti ospedalieri per l'individuazione dei casi di malattia e con i SISP per la notifica e la compilazione della scheda di sorveglianza;
- coordinare e concordare con i PMP territorialmente competenti i piani di sorveglianza ambientale e le modalità di raccolta dei campioni da sottoporre a controlli microbiologici (compresa la ricerca di *P. aeruginosa*, *Aeromonas* e carica microbica totale);
- programmare controlli di qualità con i laboratori periferici;
- svolgere sorveglianza ambientale: monitoraggio degli impianti idrici di strutture pubbliche (ospedali, case di cura, alberghi, impianti sportivi etc.) e private (abitazioni);
- in collegamento funzionale con i reparti interessati, effettuare una sorveglianza attiva sulle polmoniti comunitarie e nosocomiali per l'individuazione dei casi di legionellosi. La diagnosi viene effettuata mediante isolamento e sierotipizzazione di *Legionella spp* da materiale biologico, ricerca di antigene urinario (EIA), titolazione degli anticorpi specifici (IFA).

PUBBLICAZIONI

- MONITORAGGIO E CONTROLLO DI MICRORGANISMI EMERGENTI: LE LEGIONELLE IN AMBIENTE OSPEDALIERO. *L'Igiene Moderna*, 100 1261-1272, 1993. (Muresu E., Mura I., Castiglia P., Palmieri A.)
- MONITORAGGIO E CONTROLLO DI LEGIONELLE IN AMBIENTE OSPEDALIERO. *VII Conferenza Nazionale di Sanità Pubblica, Bari, 11-13 ottobre 2001*. Pag. 318. (Piana A., Maida I., Sotgiu G., Giacconi A., Melis A., Deriu M.G., Azara A., Mura I.)
- MONITORAGGIO DELLA CONTAMINAZIONE DI RETI IDRICHE OSPEDALIERE DA LEGIONELLA PNEUMOPHILA MEDIANTE TECNICHE MOLECOLARI. *Panorama della Sanità*, suppl. al n. 31/2002: *Atti 40° Congresso Nazionale S.It.I., Cernobbio (Como), 8-11 settembre 2002. Vol. II, Abstract, pag. 177*. (Piana A., Azara A., Orrù M., Maida I., Are B.M., Pesapane L., Sotgiu G., Mura I.)
- PREVENTION OF TRAVEL ASSOCIATED INFECTION DUE TO LEGIONELLA: MICROBIOLOGIC ANALYSIS IN LINERS AND CRUISE SHIPS. *European Journal of Public Health*, 13, 4, 2003. Supplement *Atti 11th Annual EUPHA Conference 2003. Globalisation and health in Europe: Harmoning public health practices*. (Azara A., Maida I., Sotgiu G., Mura I., Casu C., Campo P., Piana A., Muresu E.)
- LEGIONELLA E RIUNITI ODONTOIATRICI: RISULTATI DI UNO STUDIO MULTICENTRICO. *Sanità e Sicurezza*, 1: 84-88, 2002. (Montagna M.T., Tato' D., Napoli C., Castiglia P., Liguori G., Petti S., Tanzi M.I., Veronesi L., Tarsitani G. & Gruppo di Lavoro SItI "L'Igiene in Odontoiatria").

Riassunto delle pubblicazioni

MONITORAGGIO E CONTROLLO DI LEGIONELLE IN AMBIENTE OSPEDALIERO. VII Conferenza Nazionale di Sanità Pubblica, Bari, 11-13 ottobre 2001. Pag. 318. (Piana A., Maida I., Sotgiu G., Giacconi A., Melis A., Deriu M.G., Azara A., Mura I.)

Lo studio, condotto nell'ambito dell'attività di monitoraggio delle condizioni di rischio dei reparti del complesso Ospedale – Università di Sassari, si pone come obiettivo quello di verificare la presenza di *Legionella* negli impianti idrici di alcune strutture sanitarie, valutandone il rischio sanitario correlato sia alla carica batterica del microrganismo sia alle destinazioni d'uso dei locali considerati e, sulla base dei risultati ottenuti, predisporre articolati piani di bonifica.

Sono state prese in considerazione 4 strutture ospedaliere e, nell'ambito di queste, 14 locali, individuando, nel complesso, 36 punti di prelievo. Dei 64 campioni di acqua analizzati, è risultato positivo per *Legionella* il 62,5%, di cui l'82,5% è rappresentato da stipti di *Legionella* 2-14, il 5% da *Legionella* spp ed il restante 12,5% da entrambe. La distribuzione percentuale delle classi di carica batterica riscontrate evidenziano nelle strutture A, B e C valori compresi tra 10^3 e superiori a 10^4 UFC, mentre, nella struttura D non sono mai state isolate Legionelle. Circa il 50% dei locali esaminati ha evidenziato una stima del rischio sanitario di acquisizione dell'infezione particolarmente elevata. Dopo il trattamento di iperclorazione shock si evidenzia una persistenza di contaminazione da Legionella.

Dall'analisi dei risultati ottenuti nel corso dell'indagine emerge la diffusa presenza di Legionella nei reparti, in carica batterica piuttosto elevata. I primi interventi di bonifica effettuati hanno messo in evidenza la difficoltà nell'eradicazione del germe dagli impianti idrici presumibilmente per la complessità e lo stato di usura della rete di distribuzione (incrostazioni calcaree, biofilm), nonché per la difficoltà nel far affluire l'acqua iperclorata contemporaneamente in tutti i locali delle strutture. Gli elevati valori di carica batterica riscontrati nelle strutture esaminate, peraltro, non devono allarmare sul reale significato sanitario, in assenza di casi clinici riscontrati.

Tuttavia, il riscontro di elevate cariche batteriche in locali adibiti al ricovero di pazienti immunodepressi, sottende l'impellente necessità di adottare in tali strutture interventi focali e di monitoraggio periodico in modo tale da far sì che il rischio "teorico" di infezione da Legionella non si tramuti in "reale".

MONITORAGGIO DELLA CONTAMINAZIONE DI RETI IDRICHE OSPEDALIERE DA LEGIONELLA PNEUMOPHILA MEDIANTE TECNICHE MOLECOLARI. Panorama della Sanità, suppl. al n. 31/2002: *Atti 40° Congresso Nazionale S.It.I., Cernobbio (Como), 8-11 settembre 2002. Vol. II, Abstract, pag. 177.* (Piana A., Azara A., Orrù M., Maida I., Are B.M., Pesapane L., Sotgiu G., Mura I.).

La legionellosi è una malattia infettiva ad elevata letalità ed il riscontro di recenti casi in nosocomi italiani evidenzia la costante necessità di adottare interventi per la prevenzione.

Gli obiettivi di questo studio sono stati: a) valutare la presenza di Legionella nell'acqua utilizzata in strutture sanitarie sia con tecniche di amplificazione genica che con metodiche colturali; b) caratterizzare genotipicamente gli stipiti isolati.

Per la reazione di amplificazione sono stati utilizzati primers specifici per il gene 16S rRNA, zona altamente "conservata" da eventuali mutazioni. Al fine di delineare un profilo genotipico dei microrganismi isolati e confrontare tra loro i patterns ottenuti, sono state adottate la PCR-based R.A.P.D. e la P.F.G.E..

Dei 64 campioni di acqua analizzati, il 62,5% è risultato positivo per Legionella sia con l'esame colturale che con la PCR. L'analisi molecolare mediante RAPD ha evidenziato un modesto grado di polimorfismo con pattern caratterizzati da 4 a 18 bande con peso molecolare compreso tra 117 e 1300 pb. Risultati sovrapponibili sono stati ottenuti anche con la PFGE. Da un'analisi più particolareggiata dei tracciati elettroforetici sono state evidenziate differenze genomiche tra ceppi appartenenti allo stesso sierotipo e isolati nella stessa struttura.

Dai risultati ottenuti emerge da un lato, la rapidità, sensibilità e specificità della PCR nella ricerca del microrganismo direttamente da campioni ambientali e, dall'altro, l'utilità di adottare le tecniche di caratterizzazione molecolare nelle inchieste epidemiologiche ospedaliere, per la loro capacità di identificare gli specifici cloni responsabili di episodi infettivi e per programmare mirati interventi di profilassi.

PREVENTION OF TRAVEL ASSOCIATED INFECTION DUE TO LEGIONELLA: MICROBIOLOGIC ANALYSIS IN LINERS AND CRUISE SHIPS. *European Journal of Public Health*, 13, 4, 2003. Supplement *Atti 11th Annual EUPHA Conference 2003. Globalisation and health in Europe: Harmoning public health practices.* (Azara A., Maida I., Sotgiu G., Mura I., Casu C., Campo P., Piana A., Muresu E.).

Legionella infection is found to be one of the most common cause of nosocomial infections; epidemiological world data show an increasing trend of travel-associated community infection linked to globalization and tourist traffic; people aged more than 55 are the most affected.

Diagnosis of Legionella infection remains a challenge for the clinical difficulty to distinguish legionellosis from other causes of pneumonia and for the shortcomings of diagnostic tests. Environmental surveillance of Legionella spp. spread represents an important prevention measure.

To evidence the presence of Legionella spp. in the water distribution system of liners and cruise ships in order to assess health risk for travellers.

Methods: During 2002 nine ships landed on Sardinian seaports were evaluated. In a first phase critical targets, related to water supply and distribution systems, were analysed. In a second phase, physical and chemical tests were performed (pH, temperature, active free and total residual chlorine), followed by collection of two water samples, for every critical targets, in order to identify the qualitative and quantitative presence of Legionella spp., markers of faecal contamination and total bacterial load (at 22 and 37°C).

90 water samples were examined: 42.2% was contaminated by Legionella spp.; half of the investigated cabins (50%) had at least one contaminated water point and 54.5% of the showers were contaminated. *L. pneumophila* (95.5%) was the most isolated microorganism followed by *L.*

micdadei (4.5%); serogroup 6 was identified in 50% of the samples, followed by 2-14 (47.3%), 5 (7.9%), 3 (5.3%); 77.8% of the water samples showed high bacterial burden ($>10^4$ CFU/l), while 22.2% between 10^3 and 10^4 CFU/l.

Results were communicated to the executives of ship companies; disinfection and prevention measures were planned because of high bacterial burden.

Risultato delle indagini svolte

Sono stati condotti studi miranti ad acquisire informazioni epidemiologiche inerenti il livello di contaminazione esistente in ambito regionale per quanto riguarda sia il contesto nosocomiale sia il contesto comunitario.

In particolare, dall'analisi dei risultati ottenuti nel corso di indagini condotte in ambito **nosocomiale** emerge la diffusa presenza di Legionella in reparti, con carica batterica piuttosto elevata. Gli interventi di bonifica effettuati, sulla base di tali rilevazioni, hanno messo in evidenza la difficoltà nell'eradicazione del germe dagli impianti idrici presumibilmente per la complessità e lo stato di usura della rete di distribuzione (incrostazioni calcaree, biofilm), nonché per la difficoltà nel far affluire l'acqua iperclorata contemporaneamente in tutti i locali delle strutture. Il riscontro di elevate cariche batteriche in locali adibiti al ricovero di pazienti immunodepressi, sottende l'impellente necessità di adottare in tali strutture interventi focali e di monitoraggio periodico in modo tale da minimizzare il rischio.

Inoltre sono state condotte indagini mediante l'utilizzo di metodiche diagnostiche molecolari sia per evidenziare la presenza di Legionella nell'acqua utilizzata in strutture sanitarie sia per caratterizzare genotipicamente gli stipiti isolati al fine di identificare con esattezza i cloni responsabili della contaminazione ed intraprendere così adeguati interventi di prevenzione.

In ambito **comunitario** sono stati condotti studi per verificare la presenza di Legionella in navi di linea e da crociera attraverso la ricerca nel sistema idrico. In particolare, l'indagine è stata svolta su 9 navi che nel 2002 hanno fatto scalo in porti della Sardegna; in una prima fase conoscitiva, in relazione al sistema di approvvigionamento idrico ed alla destinazione d'uso dei locali, sono stati identificati specifici "punti critici" e si è quindi proceduto a determinazioni *in loco*. Circa il 50% dei campioni esaminati è risultato positivo per Legionella; la specie più frequentemente isolata è *L. pneumophila* (95,5%) seguita da *L. micdadei* (4,5%). I risultati ottenuti sono stati comunicati ai responsabili delle compagnie di navigazione che hanno evidenziato ampia disponibilità sia alla prosecuzione delle indagini sia all'adozione di interventi di bonifica.