



# RAPPORTI ISTISAN 22|32

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

**Linee guida per la valutazione e la gestione  
del rischio per la sicurezza dell'acqua  
nei sistemi di distribuzione interni degli edifici  
prioritari e non prioritari e in talune navi  
ai sensi della Direttiva (UE) 2020/2184**

Gruppo di lavoro *ad hoc* sulla sicurezza dell'acqua  
nei sistemi di distribuzione idrica interni degli edifici e di talune navi

*Regione Puglia*

Giuseppe DI VITTORIO

*Regione Toscana*

Emanuela BALOCCHINI

*Regione Veneto, Dipartimento di Prevenzione ULSS 9 Scaligera*

Elisa FINCO, Gaia Maria GIUBILATO, Monica Lorenza MONTOLI

*Rete ferroviaria italiana SpA, Gruppo FS italiane*

Giuseppe SFIOTI, Gianluca CECCARELLI

*Servizio aziendale di igiene e sanità pubblica, Comprensorio sanitario di Bressanone, Azienda Sanitaria dell'Alto Adige*

Maria Grazia ZUCCARO

*SItI - Società Italiana Igiene Medicina Preventiva e Sanità Pubblica*

Maria Teresa MONTAGNA

*UNC - Unione Nazionale Consumatori*

Agostino MACRÌ

*Utilitalia*

Tania TELLINI

*VERITAS SpA*

Stefano DELLA SALA

*Viega Italia srl*

Ilos GATTO, Elio MIGNI

#### **Revisione ed editing**

---

*Università Cattolica del Sacro Cuore e Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli" IRCCS, Roma, Dipartimento Universitario Scienze della Vita e di Sanità Pubblica*

Sara VINCENTI

*Università Cattolica del Sacro Cuore e Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli" IRCCS, Roma, Dipartimento Universitario Scienze della Vita e di Sanità Pubblica*

Carlotta AMANTEA, Maria Francesca ROSSI

*Zadig e Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento Ambiente e Salute*

Roberta ROSSI

<b>4.</b>	<b>Valutazione e gestione dei rischi in base alla Direttiva (UE) 2020/2184 e identificazione degli edifici prioritari</b> .....	<b>28</b>
4.1.	Sicurezza dell'acqua all'interno degli edifici e accesso all'acqua .....	28
4.2.	Analisi di rischio dei sistemi di distribuzione di acqua potabile negli edifici .....	28
4.2.1.	Caratteristiche generali degli edifici .....	30
4.2.2.	Circostanze ed eventi potenzialmente pericolosi associati ai diversi tipi di edifici e alle navi .....	31
4.2.3.	Elementi di rischio generalmente associabili alla tipologia di edificio .....	37
4.3.	Criteri di valutazione e di gestione dei rischi correlati ai sistemi di distribuzione interni per diverse tipologie di edifici .....	40

## 1.3. Destinatari

Le linee guida sono rivolte, in primo luogo, a coloro che, a diverso livello, contribuiscono e concorrono a garantire la distribuzione e la qualità delle acque all'interno di edifici/locali e navi, pertanto a coloro che ricoprono il ruolo di GIDI e in special modo ai responsabili e ai professionisti coinvolti e interessati alla elaborazione del Piano di Sicurezza dell'edificio. Tra questi possono essere inclusi i responsabili e gli operatori delle reti idriche degli edifici e delle navi (come definite in § 1.2), nonché di apparecchiature collegate a impianti idrici che sono comunque a contatto con le acque potabili o possono influenzarne la qualità, considerando tutte le attività relative a progettazione, a messa in esercizio e manutenzione, ivi incluse modifiche e ristrutturazioni.

I destinatari delle linee guida sono anche le Autorità Sanitarie e Ambientali che a livello nazionale, regionale e locale (Province, Comuni e altri Enti territoriali) sono preposte alla tutela

Tabella 1. Alcuni elementi di rischio associabili a diverse tipologie di edifici

Tipologia di edificio (per destinazione d'uso)	Esposizione			Perm	Vuln	Alcuni elementi di rischio generalmente associabili alla tipologia di edificio
	IG	IA	CO			
Istituti di ricovero e cura (ospedali)	+	+	+	+	+	<ul style="list-style-type: none"> <li>o suscettibilità degli ospiti alle patologie trasmesse per via idrica, in molti casi incrementata da situazioni di multimorbosità;</li> <li>o estensione dei sistemi idrici, che possono aumentare la frequenza dei fenomeni di fermo impianto e stagnazione in reparti e stanze che non sono sempre occupati;</li> <li>o trattamenti a valle del punto di consegna della rete di distribuzione idrica esterna (es. disinfezione, dispositivi di trattamento), che possono esporre gli utenti a prodotti chimici impiegati per il trattamento (es. disincrostanti di membrana, coagulanti, disinfettanti e sottoprodotti della disinfezione);</li> <li>o flussi intermittenti o ristagni nei sistemi idrici associati ad un uso discontinuo di locali/stanze;</li> <li>o presenza nell'acqua potabile di microrganismi che, di norma, non rappresentano un pericolo per la maggior parte dei soggetti, ma che possono causare infezioni in soggetti immunosoppressi o comunque immunocompromessi (es. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Acinetobacter</i>, <i>Aspergillus</i>): l'esposizione diretta a questi agenti si correla anche all'acqua usata per lavare o irrigare ferite/ustioni, dispositivi medici (endoscopi, cateteri, ecc.) o di altro tipo (nebulizzatori, umidificatori, ecc.);</li> <li>o i sistemi di distribuzione dell'acqua calda sanitaria costituiscono ambienti particolarmente favorevoli alla crescita di agenti patogeni ambientali (alcuni patogeni ambientali, tra cui diverse specie di <i>Legionella</i>, tra cui <i>L. pneumophila</i>, crescono più rapidamente a 37°C, rispetto a temperature al di sopra dei 60°C e al di sotto dei 20°C);</li> <li>o eventuale presenza di piscine per l'idroterapia, macchine per ghiaccio, fontanelle per acqua potabile, sistemi per ossigenoterapia; possono essere anche presenti sistemi per umidificazione/deumidificazione dell'aria (a volte l'acqua immessa nei sistemi di ventilazione per umidificare l'aria crea contaminazioni potendo presentare acqua stagnante) – tali aspetti esulano dalla trattazione.</li> </ul>
Strutture e/o comunità per anziani (es. RSA, case di riposo)	+	+	+	+	+	<ul style="list-style-type: none"> <li>o suscettibilità degli ospiti alle patologie trasmesse per via idrica, in molti casi incrementata da situazioni di multimorbosità;</li> <li>o estensione dei sistemi idrici, che possono aumentare la frequenza dei fenomeni di fermo impianto e stagnazione in reparti e stanze che non sono sempre occupati.</li> </ul>
Centri riabilitativi, ambulatoriali e odontoiatrici, non in regime di degenza	+	+	+	-	+/-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o esposizione di pazienti e operatori sanitari potenzialmente vulnerabili;</li> <li>o circuiti idrici dei riuniti odontoiatrici che erogano acqua ad alta pressione e aerosol che possono essere inalati dai pazienti; potenziali rischi di retrocontaminazione per pazienti e operatori sanitari;</li> <li>o eventuale presenza di piscine per l'idroterapia, macchine per ghiaccio, fontanelle per acqua potabile, sistemi per ossigenoterapia; possono essere anche presenti sistemi per umidificazione/deumidificazione dell'aria (a volte l'acqua immessa nei sistemi di ventilazione per umidificare l'aria, creando contaminazioni come le vaschette dei fan coil che spesso presentano acqua stagnante) – tali aspetti esulano dalla trattazione.</li> </ul>

Tipologia di edificio (per destinazione d'uso)	Esposizione			Perm	Vuln	Alcuni elementi di rischio generalmente associabili alla tipologia di edificio
	IG	IA	CO			
Strutture per l'infanzia	+	+/-	+	-	+/-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o maggiore suscettibilità della prima infanzia alle patologie infettive e alle sostanze chimiche (es. piombo), la cui esposizione può essere amplificata dall'uso intermittente dell'acqua;</li> <li>o norme igieniche praticate dai bambini meno regolarmente.</li> </ul>
Strutture ricettive alberghiere	+	+	+	+/-	+/-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o possibile approvvigionamento dell'acqua da fonti autonome;</li> <li>o presenza di vasche idromassaggio utilizzate in modo discontinuo, che rilasciano aerosol;</li> <li>o utilizzo stagionale di edifici, parti di edifici e impianti annessi che possono aumentare la frequenza dei fenomeni di fermo impianto e stagnazione;</li> <li>o possono includere docce, piscine, vasche idromassaggio e/o dispositivi che liberano aerosol (<i>misting devices</i>);</li> <li>o eventuale presenza di macchine per ghiaccio, fontanelle per acqua potabile e fontane.</li> </ul>
Palestre e Centri sportivi, fitness e benessere	+	+	+	-	+/-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o possono includere docce, piscine, vasche idromassaggio e/o dispositivi che liberano aerosol (<i>misting devices</i>);</li> <li>o utilizzo stagionale di edifici, parti di edifici e impianti annessi.</li> </ul>
Serre, vivai, fiere floreali (nel caso in cui si utilizzi acqua potabile)	+/-	+/-	+/-	-	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o garden center, serre e giardini d'inverno che utilizzano tipicamente sistemi di irrigazione e fontane che possono includere serbatoi di stoccaggio e pozzetti, includono dispositivi a spruzzo e nebbia per produrre aerosol e possono, eventualmente, favorire la diffusione di organismi patogeni ambientali, soprattutto negli ambienti caldi.</li> </ul>
Istituti di istruzione e altre strutture educative	+	-	+/-	-	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o possono includere acque trattate per impieghi nei laboratori didattici scientifici e di ricerca o di formazione tecnica, dove possono essere presenti stazioni per il lavaggio degli occhi e docce di sicurezza, che - come i sistemi antincendio - sono soggette a ristagno e crescita di biofilm;</li> <li>o utilizzo stagionale degli impianti, con periodi di stagnazione negli intervalli festivi e molto prolungati durante le interruzioni estive.</li> </ul>
Istituti penitenziari e caserme	+	+	+	+	+/-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o sovraffollamento e prolungata permanenza in spazi relativamente ristretti;</li> <li>o uso promiscuo degli impianti igienico-sanitari;</li> <li>o igiene generalmente scadente, con conseguente aumento del rischio microbiologico (tubercolosi, epatite) e di trasmissione fecale-orale;</li> <li>o possibile presenza di soggetti vulnerabili.</li> </ul>
Abitazioni private e condomini	+	+	+	+	+/-	<ul style="list-style-type: none"> <li>o possibili difficoltà di manutenzione/gestione degli impianti dei tratti di rete di uso comune a valle del punto di consegna, collegati alle singole proprietà;</li> <li>o possibile esposizione al piombo negli impianti o tratti di rete interna di edifici antecedenti agli anni '60;</li> <li>o utilizzo discontinuo di edifici e locali abitati stagionalmente, che può aumentare i rischi legati a fenomeni di fermo impianto, stagnazione, corrosione;</li> <li>o utilizzo di impianti di trattamento non adeguatamente mantenuti.</li> </ul>

IG = ingestione; IA = inalazione; CO = contatto. (+) = molto rilevante; (+/-) = possibile rilevanza/occorrenza; (-) = poco rilevante.

Perm = permanenza degli utenti. (+) = >72 ore; (+/-) = 24÷72 ore; (-) = <24 ore.

Vuln = Vulnerabilità. (+) = presenza rilevante/prevalente di soggetti vulnerabili; (+/-) presenza di soggetti vulnerabili, non in misura prevalente; (-) = presenza possibile di soggetti vulnerabili.

■: rischio elevato; ■: rischio alto; ■: rischio medio

Tabella 2. Esempi, non esaustivi, di strutture prioritarie e non prioritarie, articolate per classe di priorità, e azioni associate, obbligatorie\* o raccomandate, sui sistemi di distribuzione interni, definite in base a criteri di valutazione e gestione del rischio

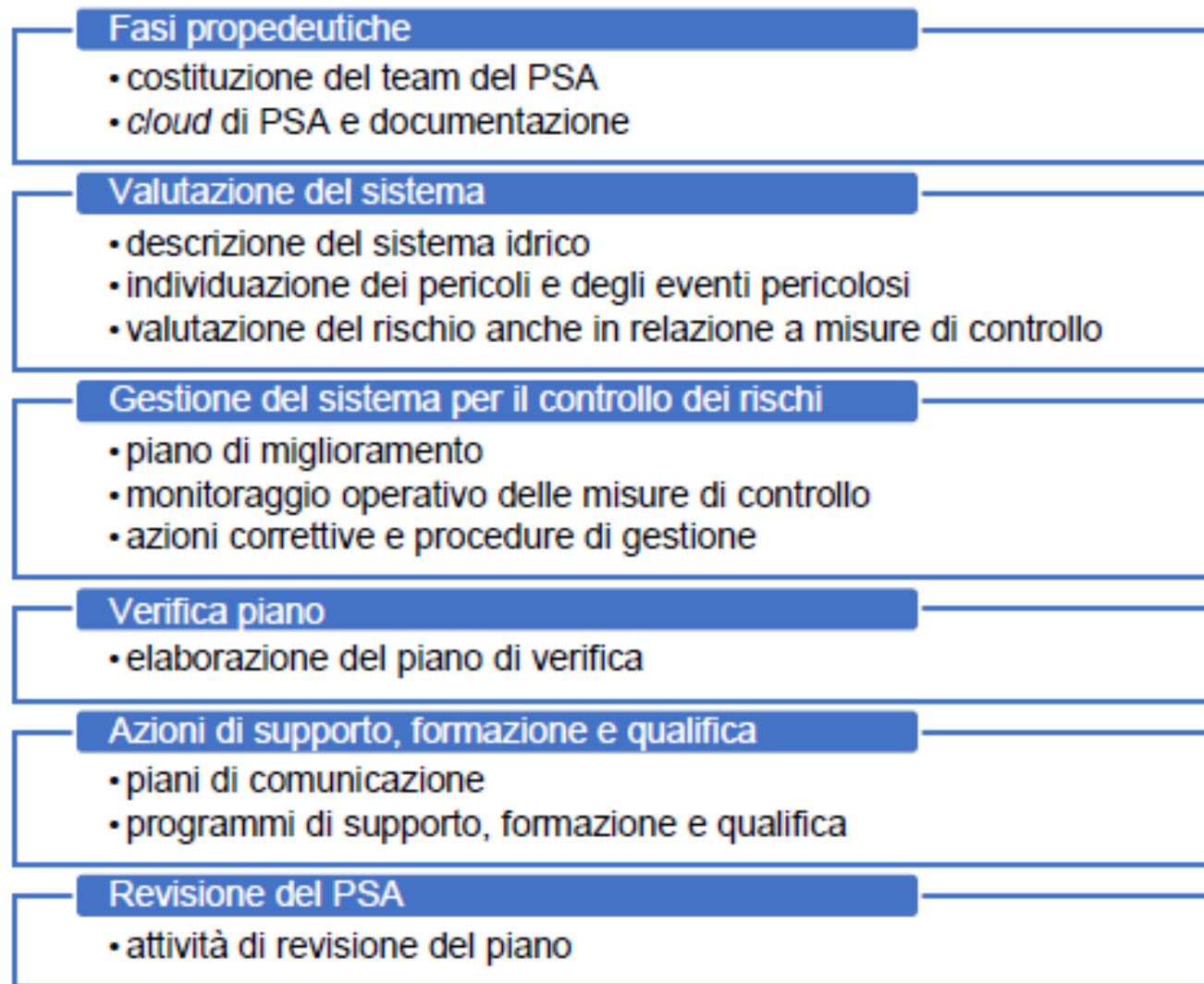
Classe di priorità	Azioni a carattere di obbligo	Azioni a carattere di raccomandazione	Parte LG
<b>Classe A</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Strutture sanitarie, socio-sanitarie e socio-assistenziali in regime di ricovero (come definite nel cap. 2)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificazione del GID.</li> <li>• PSA del sistema idrico di distribuzione interna, con particolare riguardo a piombo e <i>Legionella</i> assicurando al minimo controlli relativi a piombo e <i>Legionella</i>, in base alle prescrizioni della normativa vigente.</li> </ul> <p><i>Soggetto attuatore: team multidisciplinare presieduto dal team leader, inclusivo dei rappresentanti delle diverse unità della struttura e supportato da professionisti esperti in controlli, campionamenti e analisi,</i></p>		cap. 5

in sistemi, campionamenti e analisi, identificati dal GIDI.

## Classe B

- Strutture sanitarie, socio-sanitarie e socio-assistenziali non in regime di ricovero (come definite nel cap. 2) inclusi centri riabilitativi, ambulatoriali e odontoiatrici.
  - Identificazione del GIDI.
  - Piano di autocontrollo degli impianti idrici interni, con controllo minimo relativo a piombo e *Legionella*, in base alle prescrizioni della normativa vigente, e *L. pneumophila*.  
Soggetto attuatore: GIDI, supportato, ove necessario, da competenze multidisciplinari.
- Manuali di corretta prassi per l'implementazione dei piani di autocontrollo igienico per gli impianti idrici, elaborati generalmente da associazioni di settore o ordini professionali.

cap. 6



**Figura 2. Sintesi delle fasi di sviluppo e implementazione del PSA**



Health Topics ▾

Countries ▾

Newsroom ▾

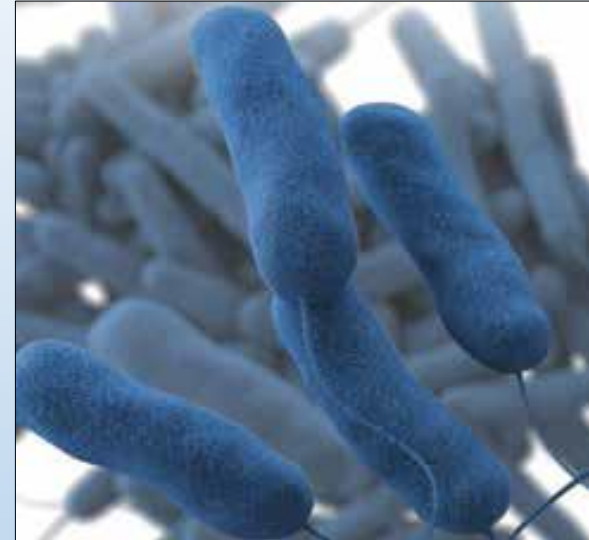
Emergencies ▾

# Legionellosis

16 February 2018

## Key facts

- The bacterium *L. pneumophila* was first identified in 1977, as the cause of an outbreak of severe pneumonia in a convention centre in the USA in 1976.
- The most common form of transmission of *Legionella* is inhalation of contaminated aerosols produced in conjunction with water sprays, jets or mists. Infection can also occur by aspiration of contaminated water or ice, particularly in susceptible hospital patients.



# Legionellosis

16 February 2018

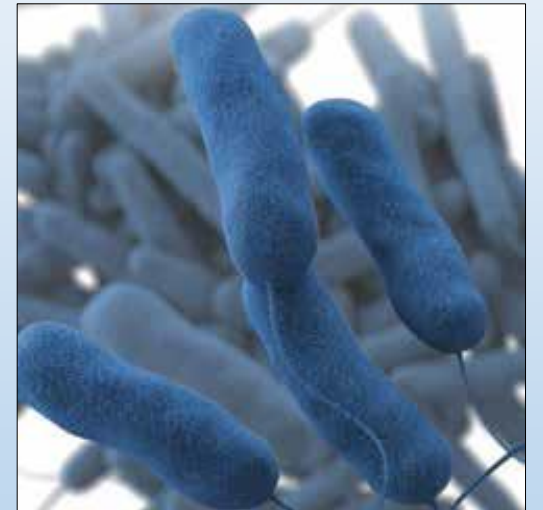
## Key facts

- Legionnaires' disease has an incubation period of 2 to 10 days (but up to 16 days has been recorded in some outbreaks).
- Death occurs through progressive pneumonia with respiratory failure and/or shock and multi-organ failure.
- Untreated Legionnaires' disease usually worsens during the first week.
- Of the reported cases 75–80% are over 50 years and 60–70% are male.



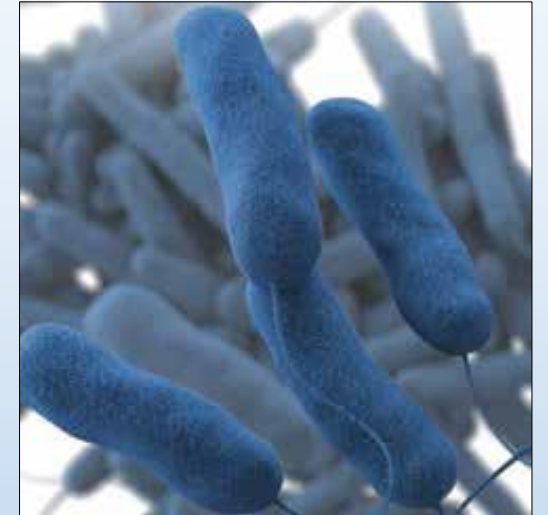
As described in Guidelines for Drinking-water Quality, (WHO, 2017):

- “ The genus *Legionella*, a member of the family *Legionellaceae*, has at least 50 species comprising 70 distinct serogroups. *Legionellae* are Gram-negative, rod-shaped, nonspore-forming bacteria that require L-cysteine for growth and primary isolation. *Legionella* spp. are heterotrophic bacteria found in a wide range of water environments and can proliferate at temperatures above 25 °C.
- (...) *Legionella* spp. are members of the natural flora of many freshwater environments, such as rivers, streams and impoundments, where they occur in relatively low numbers. However, they thrive in certain human-made water environments, such as water cooling devices (cooling towers and evaporative condensers) associated with air-conditioning systems, hot water distribution systems and spas, which provide suitable temperatures (25–50 °C) and conditions for their multiplication.
- (...) *Legionella* survive and grow in biofilms and sediments (...) and can be ingested by trophozoites of certain amoebae such as *Acanthamoeba*, *Hartmanella* and *Naegleria*, which play an important role in their persistence in water environments”.

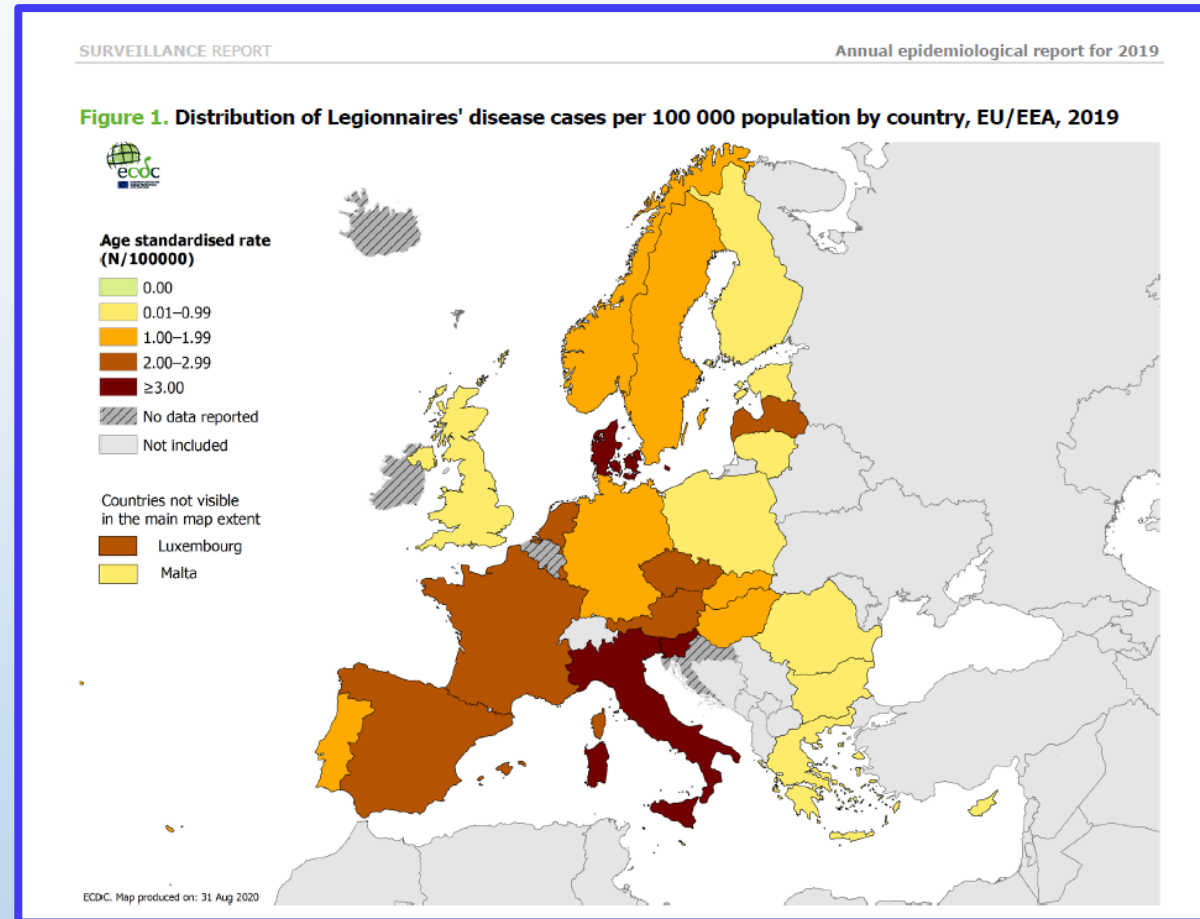


**Legionnaires' disease is a significant cause of potentially preventable morbidity and mortality in Europe.**

**ECDC will explore the possibilities to assist countries with notification rates below one per million inhabitants to improve clinical awareness, laboratory diagnosis and reporting of LD. The use of laboratory tests for diagnosis is rapidly changing, with an increasing number of PCR tests performed in several countries.**



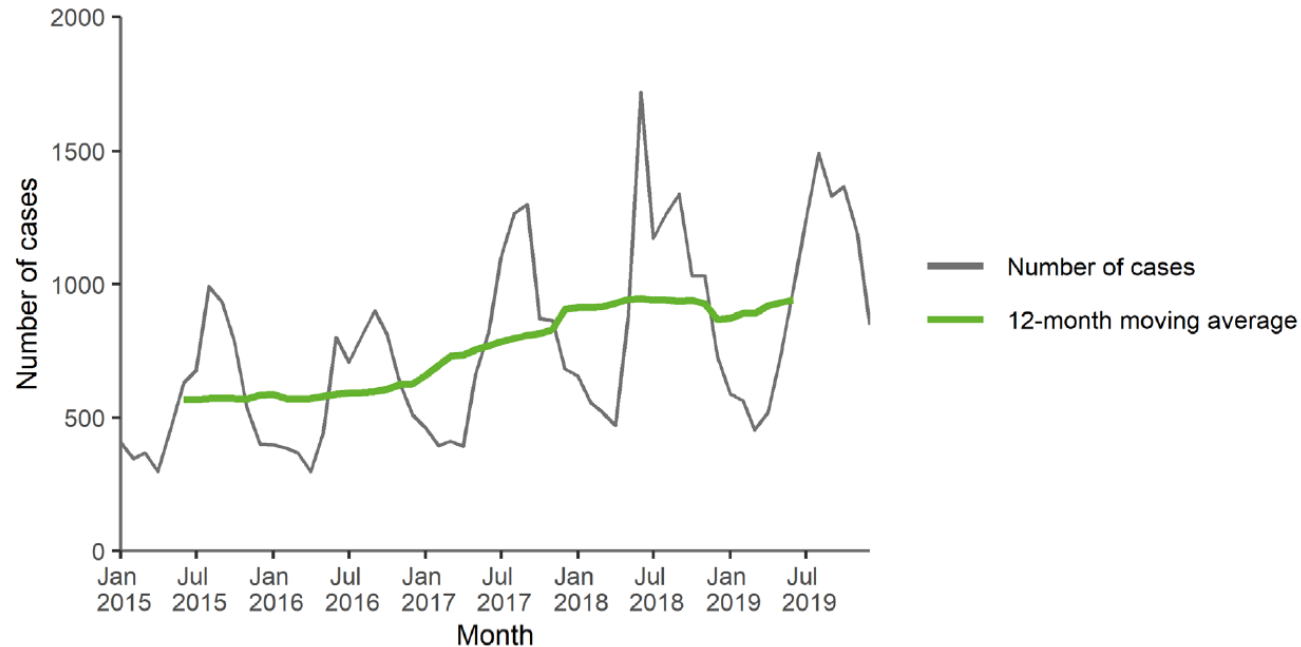
## Legionnaires' disease in Europe – Surveillance Report 2019



**“Distribution of Legionnaires’ disease cases per 100.000 population by country, EU/EEA, 2019: France Germany, Italy and Spain accounted for 71% of all notified cases although their combined population only represent approximately 50% of EU/EEU population.»**

## Legionnaires' disease in Europe – Surveillance Report 2019

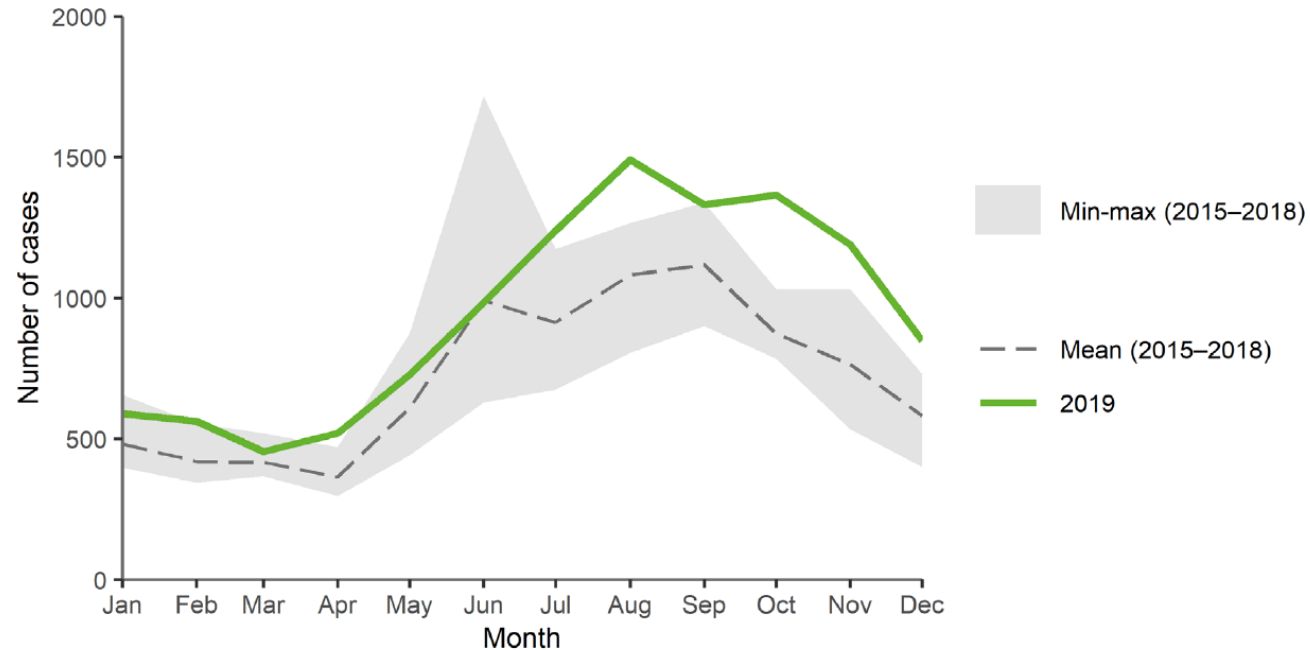
**Figure 2.** Distribution of Legionnaires' disease cases by month, EU/EEA, 2015–2019



**“During the period 2015–2019, the number of reported cases increased by 65% from 6 947 to 11 298 showing an increasing trend in recent years.”**

## Legionnaires' disease in Europe – Surveillance Report 2019

**Figure 3. Distribution of Legionnaires' disease cases by month, EU/EEA, 2019 and 2015–2018**



**“The distribution of cases by month of reporting shows that the majority (57%) occurred between June and October, similar to previous years. An increase in cases compared to the maximum in previous years (2015–2018) was observed for every month during the period July to December. The peak of 1 743 cases in June 2018 was the highest monthly number recorded to date under EU/EEA surveillance and was not reached again in 2019. No community outbreaks were reported by any EU/EEA country that could explain the shifted seasonal curve to the later summer and autumn period.”**

## Breaking news: an Hospital outbreak of *Legionella*

### Tre casi di legionella, Stella Maris evacuato

Due anziani fuori pericolo, operatrice in rianimazione. L'edificio appena restaurato



Analisi di laboratorio per comprendere l'entità del fenomeno (archivio)

**VENEZIA** – Due pazienti ricoverati all'Ospedale Civile di Venezia, una operatrice socio sanitaria in prognosi riservata a Chioggia e un intero ospedale – l'Istituto Stella Maris – sono in corso in queste ore ad opera del Dipartimento di prevenzione dell'Asl 12 che ha predisposto l'evacuazione dell'edificio, e mentre preoccupano le condizioni di

**Le prime avvisaglie di legionellosi si sono registrate quando al secondo piano della casa di riposo «Stella Maris»** acquistata e restaurata dall'Ospedale San Camillo. Date le loro condizioni di salute, sono stati subito trasferiti all'Ospedale Civile di Venezia dove sono risultati positivi al test della legionella. Ricoverati nel reparto di geriatria da giovedì scorso all'ospedale di Chioggia nel reparto di Rianimazione in prognosi riservata. Quarantatré anni, sposata e madre di due figli, la donna è una operatrice socio sanitaria. A dire qualche giorno dopo il manifestarsi della legionella nei due ospiti della struttura.

**Febbre alta, dolori muscolari e soprattutto difficoltà respiratorie** hanno indotto all'immediato ricovero in ospedale dove è stata sottoposta sia al test della legionella che al test per la tubercolosi – nel pomeriggio di venerdì scorso - il terzo caso di legionella in pochi giorni, la direzione del San Camillo ha allertato l'azienda sanitaria veneziana e fatto scattare l'evacuazione dell'edificio. «Un doveroso ringraziamento va a tutto il personale che ha dato la massima disponibilità in questa situazione delicata – dice la direzione – gli eventi sono stati gestiti con 75 ospiti. Poi il giorno dopo abbiamo cominciato l'evacuazione che si è conclusa domenica mattina. Le linee guida sono state messe in campo tutte, dallo shock termico all'uso di cloro. I primi risultati delle analisi dall'Asl che ci dirà anche quando potremo riaprire».

**Stupisce però, soprattutto fra i familiari degli anziani ospiti** dell'Istituto trasferiti in fretta e furia, che in una struttura completamente rimessa a nuovo e aperta da anni dal San Camillo con un investimento di circa dieci milioni di euro presentandosi come una struttura all'avanguardia per tecnologie e disponibilità di spazi: sei piani, ogni stanza con la comunicazione diretta con il San Camillo. Qualcosa, però, non ha funzionato. A chiedere chiarimenti ufficiali alla direzione generale sono i sindacati che lamentano

Paola Vescovi

15 settembre 2009(ultima modifica: 16 settembre 2009)© RIPRODUZIONE RISERVATA

### Accommodation site list for Legionnaires' disease



The list below shows the current accommodation sites in EU/EEA countries with which clusters of Legionnaires' disease have been identified but where the European Legionnaires' disease Surveillance Network (ELDSNet) is unable to assess the risk of *Legionella* infection, or where ELDSNet believe there may be increased risk to travellers. Please note this is not a complete list of clusters detected by the European Legionnaires' disease Surveillance Network (ELDSNet).

This list will never include accommodation sites in non EU/EEA countries, since ELDSNet cannot formally verify the risk status of the accommodation sites and the actions taken in response to the clusters.

Accommodation name	Location	Most recent case date*	Notes	Last updated**
Castello	Castellarano, Emilia Romagna, Italy	28/10/2019	An ELDSNet form B was received reporting that control measures were unsatisfactory.	24/06/2021
Auberge de Cassagne & Spa	Le Pontet, Vaucluse, France	10/02/2021	An ELDSNet form B was received reporting that control measures were unsatisfactory.	09/04/2021
Rusall	Tremezzina (Lago di Como), Lombardia, Italy	03/08/2020	An ELDSNet form B was received reporting that control measures were unsatisfactory.	24/09/2020
Hotel The Originals du Faucigny Cluses Ouest	Scionzier, Haute-Savoie, France	25/04/2020	An ELDSNet form B was received reporting that control measures were unsatisfactory.	31/07/2020
Nimotel	Nîmes, Gard, France	02/12/2019	An ELDSNet form B was received reporting that control measures were unsatisfactory.	23/01/2020
Hotel Carlo Magno	Ischia, Campania, Italy	15/10/2019	An ELDSNet form B was received reporting that control measures were unsatisfactory.	12/11/2019

\* Most recent date of disease onset among Legionnaires' disease cases reported to have stayed at this accommodation site

\*\* Depending on the accommodation site history, this could refer to: 1. Date of publication of the site; OR 2. Date of the most recent case notification; OR 3. Date of the most recent form B received.

The screenshot displays the 'Legionnaires' disease GIS tool' web application. The interface is divided into several sections:

- Control Panel (Data and Models v1.1):**
  - User support:** Includes links for 'Browse user manual', 'Download user manual (PDF)', and 'Legal notice'. A 'Clear Map' button is also present.
  - 1. Add data:** Features checkboxes for 'Cases: [0008]', 'Sources: [0000]', and 'Population data: ?'. It includes 'Import CSV' and 'Export CSV' buttons for both cases and sources, along with a 'Clear Map' button.
  - 2. Select model:** Offers four radio button options: 'Model 1: Case density', 'Model 2: Disease risk', 'Model 3: Buffer density', and 'Model 4: Buffer risk'. A 'Sample model result' button is also available.
  - 3. Model parameters:** Includes dropdown menus for 'Output cell size: 20 px', 'Search radius: 1 km', and 'Weight factor: Yes'. A 'Buffer rings distance' dropdown is set to '0.1km, 0.2km, 0.5km, 1km'.
  - 4. Execute model ?:** Contains 'Run model' and 'Delete model' buttons, and checkboxes for 'Display model', 'Display Table and Graphs', and 'Show swipe'.
  - 5. Export ?:** Includes 'Export map' and 'Map only' buttons.
- Map:** Shows a map of the Venice region with a data overlay. A red circle highlights a specific location on the map, likely representing a data point or a model result. The map includes labels for various locations such as Venezia, Murano, and Malamocco.
- Search and Legend:** A search bar is located in the top right corner. A legend and measurement tool are also visible.

The bottom of the screenshot shows the Windows taskbar with the search bar and system tray, indicating the time as 14:06 on 18/05/2021.

Legionnaires' disease GIS tool

legionnaires.ecdc.europa.eu/gistool/

App Bookmarks LabVantage Logon Accesso a IntraNews JMP > Welcome to... WHO | Drinking-wa... International SOS -... leggi italia www.who.int/empl... ecas IELTS preparation a... European Commis... Google Google >> Altri Preferiti

**Data and Models (v1.1)**

**User support**  
[Browse user manual](#)  
[Download user manual \(PDF\)](#)  
[Legal notice](#)

**1. Add data**

Cases: [0008]  Import CSV     ?

Sources: [0000]  Import CSV     ?

Population data: ?

**2. Select model**

Model 1: Case density ?  
 Model 2: Disease risk ?  
 Model 3: Buffer density ?  
 Model 4: Buffer risk ?

Sample model result:

**3. Model parameters**

Output cell size: 20 px ?

Search radius: 1 km ?

Weight factor: Yes ?

Buffer rings distance: 0.1km, 0.2km, 0.5km, 1km ?

**4. Execute model ?**

Display model  
 Display Table and Graphs  
 Show swipe

**5. Export ?**

Search:

Switch Basemap

**Legend**

**Added data**

- Cases

**Model run results**

Disease risk  
 [Cases per 1 km<sup>2</sup> per 10000 population]

- 0.0003
- 0.0004 - 0.0010
- 0.0011 - 0.0011
- 0.0012 - 0.0028
- 0.0029 - 0.0036
- 0.0037 - 0.0041
- 0.0042 - 0.0076
- 0.0077 - 0.0095
- 0.0096 - 0.0111

**Additional layer**

Population by 1skm

- Not inhabited
- 1 - 113
- 114 - 356
- 357 - 738
- 739 - 1272
- 1273 - 1966
- 1967 - 2818
- 2819 - 3837
- 3838 - 5069
- 5070 - 6584
- 6585 - 8480
- 8481 - 10922
- 10923 - 14121
- 14122 - 18580
- 18581 - 25326
- 25327 - 35334
- 35335 - 53119

Done.

Esri, HERE, Ga

Scrive qui per eseguire la ricerca

14:13  
18/05/2021

## Directive 2000/54/EC - biological agents at work

Latest update: 08/04/2021

of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC)

### ***Objective***

This Directive lays down minimum requirements for the health and safety of workers exposed to biological agents at work.

L 435/42

EN

Official Journal of the European Union

23.12.2020

Part D

Parameters relevant for the risk assessment of domestic distribution systems

Parameter	Parametric value	Unit	Notes
<i>Legionella</i>	< 1 000	CFU/l	This parametric value is set for the purposes of Articles 10 and 14. Actions provided for in those Articles could be considered even when the value is below the parametric value, e.g. in cases of infections and outbreaks. In such cases, the source of infection should be confirmed and the species of <i>Legionella</i> should be identified.

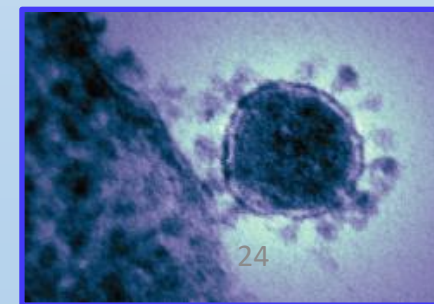
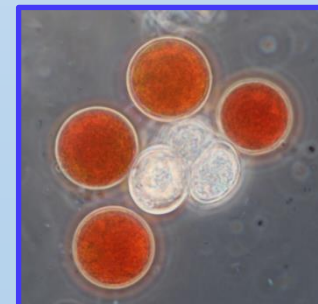
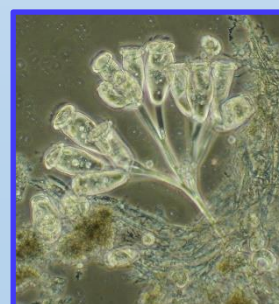
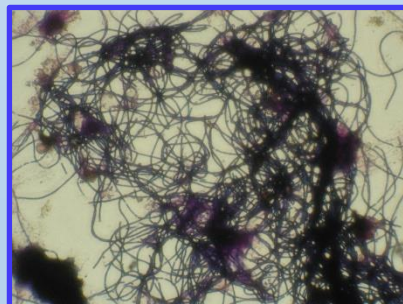
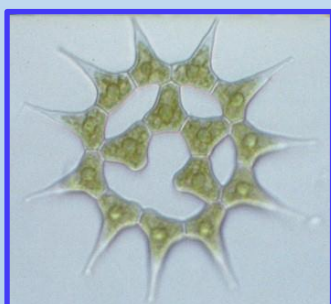
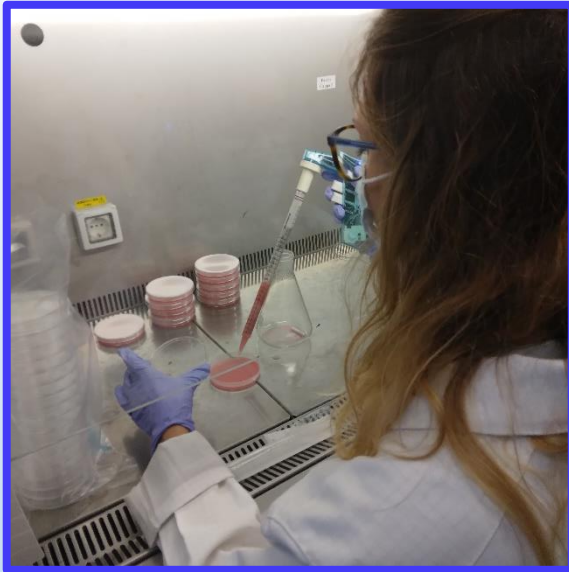
## Part A

**Microbiological parameters for which methods of analysis are specified**

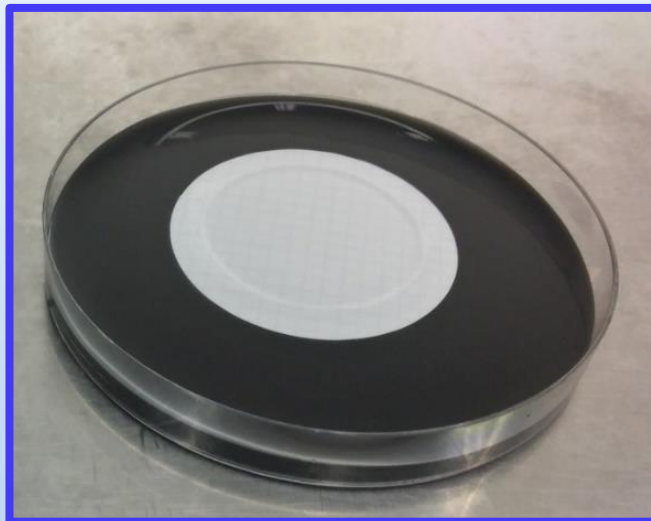
The methods of analysis for microbiological parameters are:

- (a) *Escherichia coli* (*E. coli*) and coliform bacteria (EN ISO 9308-1 or EN ISO 9308-2);
- (b) intestinal enterococci (EN ISO 7899-2);
- (c) colony count or heterotrophic plate counts at 22 °C (EN ISO 6222);
- (d) *Clostridium perfringens* including spores (EN ISO 14189);
- (e) *Legionella* (EN ISO 11731 for compliance with the value in Part D of Annex I);  
for risk-based verification monitoring and to complement culture methods, in addition methods, such as ISO/TS 12869, rapid culture methods, non-culture-based methods, and molecular-based methods, in particular qPCR, can be used;
- (f) somatic coliphages;  
for operational monitoring, Part A of Annex II, EN ISO 10705-2, and EN ISO 10705-3 can be used.

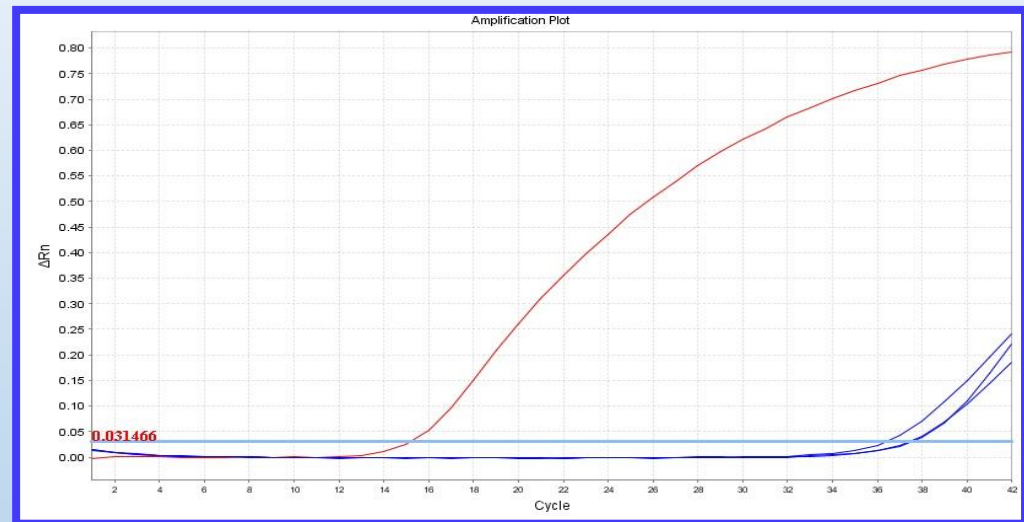
## VERITAS BIOLOGICAL LABORATORY



## RESEARCH OF *Legionella spp/ Legionella pneumophila* BY CULTURAL AND REAL-TIME PCR METHODS



Methods ISO 11731-2:2004 and  
ISO 11731:2017



Methods ISO/TS 12869:2012 and  
ISO/TS 12869:2012

## HOME CASE INVESTIGATION

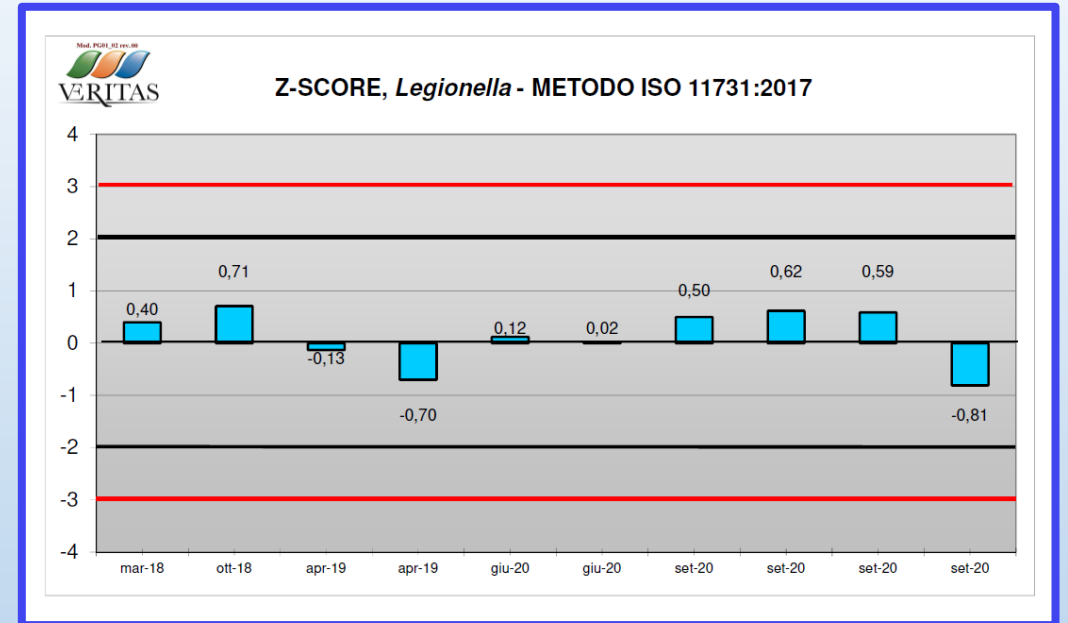
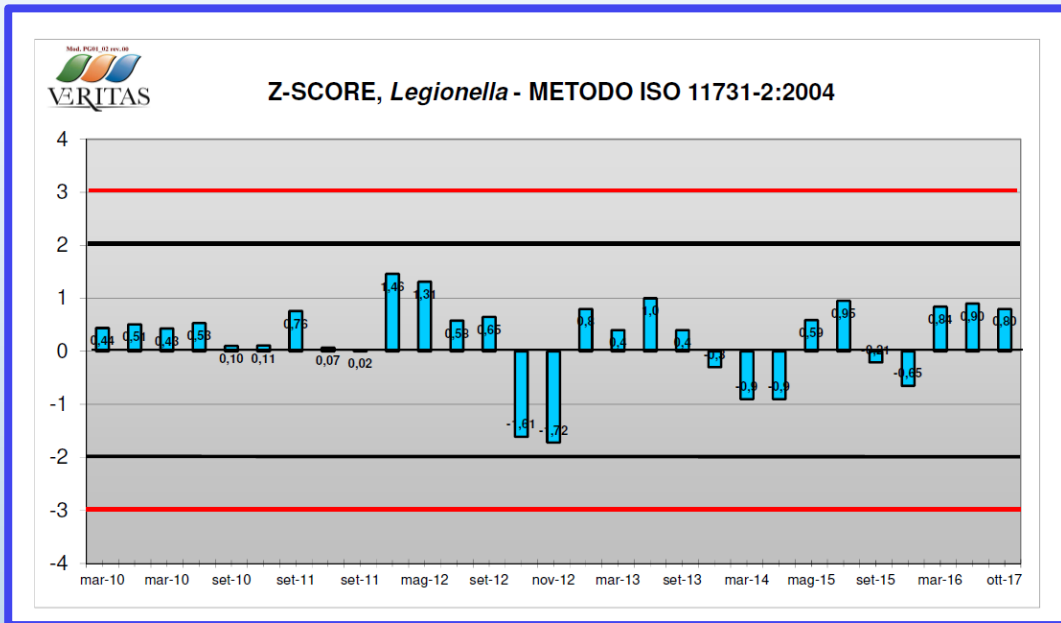
SAMPLE	DATE	MEMBRANE FILTRATION METHOD ISO 11731-2-2004	REAL TIME PCR ISO/TS 12869: 2012
shower cold water	17/04/2015	0 UFC/L	Positive
shower hot water	17/04/2015	0 UFC/L	Positive
kitchen cold water	17/04/2015	<b>4636 CFU/L</b>	Positive
kitchen hot water	17/04/2015	0 UFC/L	Positive
water meter	17/04/2015	0 UFC/L	Negative

Analytical results by culture method and by RT PCR for the detection of *Legionella* in the home of an individual with legionellosis

SAMPLE	DATE	MEMBRANE FILTRATION METHOD ISO 11731-2-2004	REAL TIME PCR ISO/TS 12869: 2012
shower cold water	17/06/2015	0 UFC/L	Negative
shower hot water	17/06/2015	0 UFC/L	Negative
kitchen cold water	17/06/2015	0 UFC/L	Negative
kitchen hot water	17/06/2015	0 UFC/L	Negative
water meter	17/06/2015	0 UFC/L	Negative

Analytical results by culture method and by RT-PCR after home sanitization.

## CULTURAL METHOD: z-score Proficiency Testing results from 2010 to 2020

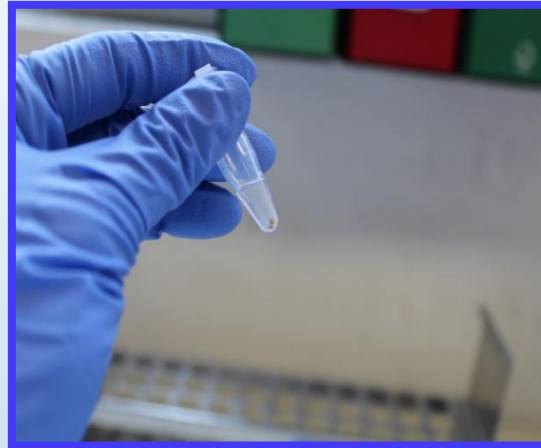


The results are all between the interval -2 and +2: « Satisfactory».

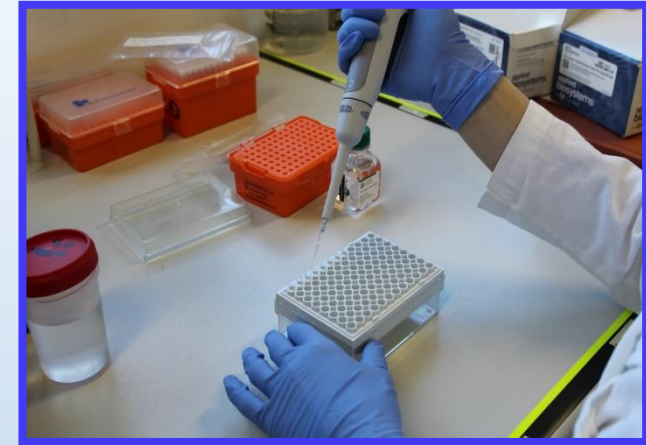
## REAL-TIME PCR PROCEDURE: DNA EXTRACTION AND AMPLIFICATION



1 L sample is filtered on a polycarbonate membrane with a nominal porosity of 0,45  $\mu\text{m}$  and then suspended with 1 ml of sterile water.

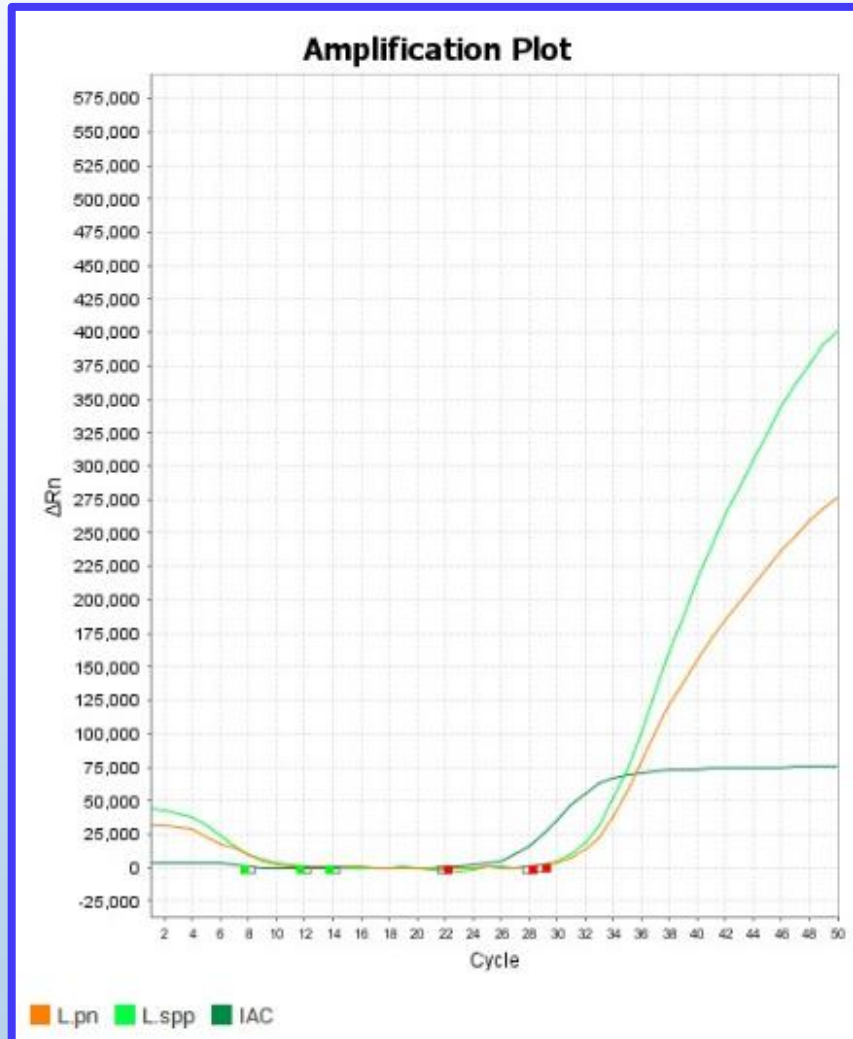


50  $\mu\text{l}$  of lysis buffer are added to the sample which is then subjected to heat shock to help lysis and centrifugated.



10  $\mu\text{l}$  of sample are transferred to a new tube with inside 15  $\mu\text{l}$  of master mix composed by all reagents necessary to amplify *Legionella* spp / *Legionella pneumophila* DNA.

## REAL-TIME PCR PROCEDURE: DNA EXTRACTION AND AMPLIFICATION



**AMPLIFICATION BY REAL -TIME PCR:**

L.spp: *Legionella* species

L.pn: *Legionella pneumophila*

IAC: Inhibition Amplification Control.

Every run has a negative amplification control to verify there's no contamination, a positive amplification control to verify that amplification occurred and an internal amplification control used to highlight a possible effect of inhibition.

settembre 2021

Cerca in Calendario (CTRL+E)

LUNEDÌ	MARTEDÌ	MERCOLEDÌ	GIOVEDÌ	VENERDÌ	SABATO	DOMENICA
30 ago	31	1 set	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20 SelectScience Webinar	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	1 ott	2	3

**The analysis by Real-Time method lasts 4 hours**

Veritas analyzed **193 drinking water samples** to detect *Legionella* spp with both membrane filtration method (**results obtained in 10-15 days**) and Real Time PCR method (**results obtained in about 4 hours**).

A statistical analysis considering the culture method as the reference method is shown below:


		Real - Time PCR		
		POSITIVE SAMPLES	NEGATIVE SAMPLES	TOTAL
C u l t u r a l m e t h o d	POSITIVE SAMPLES	9	2	11
	NEGATIVE SAMPLES	46	136	182
Sensibility =		81.82%		
Specificity =		74.73%		
TOTAL		55	138	193
<b>Negative predicted value =</b>		<b>98.55 %</b>		

Sensibility = true positives / (true positives + false negatives)

Specificity = true negatives / (true negatives + false positives)

Negative predicted value = true negatives / (true negatives + false negatives)

## REAL-TIME METHOD (QUALITATIVE DETECTION): Z-SCORE PROFICIENCY TESTING RESULTS IN 2020

		SCHEMA DI CONTROLLO DATI ANALITICI			
PERIODO:	2020				
Valutazione Z-SCORE					
Circuito:	Metodo / Parametro:	Matrice:	Operatore:	Data:	Z-score:
LGC - QWAS	ISO TS 12869:2019 <i>Legionella</i> spp	PCR	1	29/09/2020	Detected
LGC - QWAS	ISO TS 12869:2019 <i>Legionella</i> spp	PCR	2	29/09/2020	Detected
LGC - QWAS	ISO TS 12869:2019 <i>Legionella pneumophila</i>	PCR	1	30/09/2020	Detected
LGC - QWAS	ISO TS 12869:2019 <i>Legionella pneumophila</i>	PCR	2	30/09/2020	Detected
UNICHIM	ISO TS 12869:2019 <i>Legionella</i> spp	PCR	3	09/11/2020	Detected
UNICHIM	ISO TS 12869:2019 <i>Legionella pneumophila</i>	PCR	3	09/11/2020	Not Detected

\* non calcolato dal circuito in quanto il campione non conteneva l'organismo ricercato.  
**FN** non calcolato dal circuito in quanto l'organismo pur presente nel campione non è stato rinvenuto dal laboratorio (falso negativo).  
**FP** non calcolato dal circuito in quanto l'organismo è stato rinvenuto dal laboratorio ma non era presente nel campione (falso positivo).  
**Detected:** organismo presente e correttamente rilevato; **Not Detected:** organismo assente e correttamente non rilevato

The results (Detected/Non Detected) are all « Satisfactory».



VERITAS Laboratory has 2 Real –Time PCR and 1 Lamp technology instruments

Search of:

- *Legionella/ Legionella pneumophila* in drinking waters;
- *Salmonella e Shigella* in drinking water and to be intended for human consumption;
- *Salmonella* in wastewater;
- Sars-CoV-2 on indoor and outdoor surfaces.

At the moment 6 technicians are working in the laboratory. They have the competences to perform, according to UNI CEI EN ISO/IEC 17025, analyses by cultural and molecular methods: in this way it's possible to absorb the analytical load also in emergency situation.

## ***Legionella* RESEARCH PROTOCOL IN VERITAS WATER SERVICE MANAGEMENT**

**sample for cultural and Real Time PCR analyses**



**screening by Real -Time PCR**



**positive result**

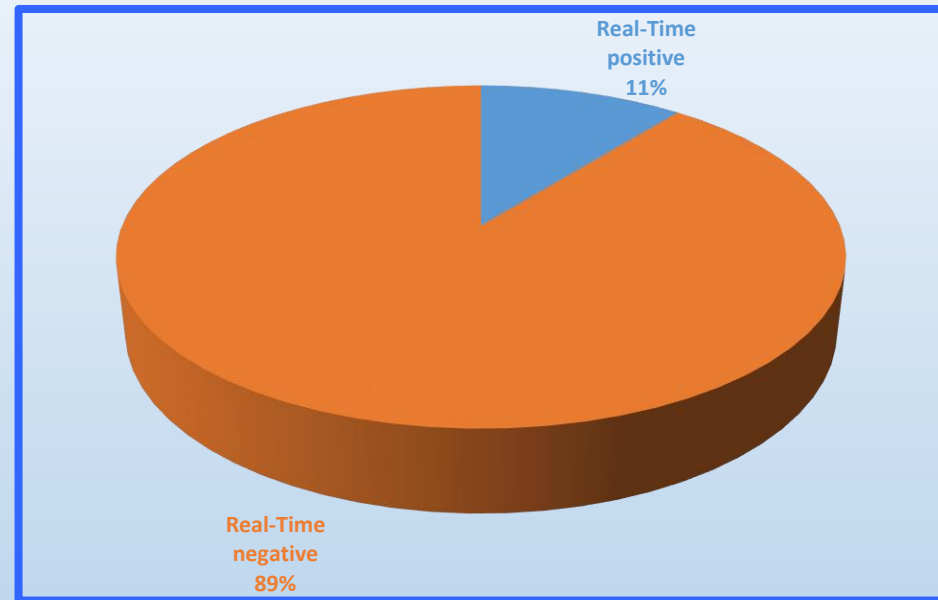


**analysis of the same sample by cultural method**

**REFERENCE: «Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi (79/CSR, 7/5/2015).»**

## *Legionella*: DRINKING WATER ANALYSIS RESULTS IN 2020

538 samples analysed by Real-Time PCR: negative/positive samples percentage.



The Real-Time positive samples (11%) have been analysed by cultural Method and only the 19% has shown a growth of *Legionella*.

Real-Time PCR Method considerably reduces the analytical times allowing an easier and more frequent monitoring of drinking water systems and networks.

## ***Legionella*: DRINKING WATER ANALYSIS RESULTS IN 2023**

- **all samples confirmed by cultural method have been found to be in a concentration lower to the limit of the new Directive (EU) 2020/2184 (1000 CFU/L);**
- **the positive samples have been concentrated in a specific area of the distribution network: it has been possible to focus on the critical area and intensify the checks (first yearly then monthly);**
- **the largest number of positive samples has been found during the end of summer and the beginning of autumn. Before 2023, some positive results were found during autumn and also spring. The monitoring plan of the distribution network is therefore scheduled over the entire calendar year.**

## SEQUENCING OF THE ISOLATED *Legionella/ Legionella pneumophila* STRAINS

- PCR from colony or genomic DNA;
- Purification of PCR products;
- 500 bp fragment sequencing of the 16S gene rRNA;
- similarity analysis.

Consensus obtained by  
Sanger Sequence assembly

### Consensus

```
>52798
ATTGAACGCTGGCGGCATGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCATAATCTAGCTTGCTAGATTGATGGCGAGTGGCG
AACGGGTGAGTAACGCGTAGGAATATGCCTTGAAGTGGGGGACAACCTGGGGAACTCAAGCTAATACCGCATAATGTCT
AAGGACGAAAGCTGGGGACCTTCGGGCTGGCGCTTTAAGATTAGCCTGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAGGGC
CTACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGGCCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGGGGAACCCGTATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTGAGGGTT
GTAAAGCACTTTCAGTGGGGAGGAGGGTTGATTGGTTAAGAGCTGATTAAGTGGACGTTACCCACAGAAGAAGCACCGGC
TAATCCGTG
```

similarity search results obtained  
by the Blast program  
(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value	Max Ident
CP029563.1 <i>Legionella anisa</i> isolate UMCG_3A chromosome	905	0.0	100%
KF680697.1 Uncultured prokaryote clone OTU037 16S ribosomal RN...	905	0.0	100%
AY744776.1 <i>Legionella anisa</i> 16S ribosomal RNA gene, partial se...	902	0.0	100%
AJ969025.1 <i>Legionella anisa</i> partial 16S rRNA gene, isolate UCS...	900	0.0	100%
AB185330.1 <i>Legionella anisa</i> gene for 16S ribosomal RNA, partia...	900	0.0	100%
KY606886.1 Uncultured Legionellaceae bacterium clone bac33-T0-...	898	0.0	100%
AJ969021.1 <i>Legionella anisa</i> partial 16S rRNA gene, isolate UCS...	887	0.0	99%
NR_119017.1 <i>Legionella anisa</i> strain ATCC 35292 16S ribosomal R...	887	0.0	99%
AJ969020.1 <i>Legionella anisa</i> partial 16S rRNA gene, isolate UCS...	885	0.0	99%
LC504039.1 <i>Legionella parisiensis</i> JCM 7561 gene for 16S riboso...	883	0.0	99%

Sequencing isolated *Legionella/ Legionella pneumophila* strains: consensus

Drinking water network  
Area 1

Consensus

```
>29590
ATTGAACGCTGGCGGCATGCTTAACACATGCAAGTGAACGGCAGCATTGTCTAGCTTGCTAGACAGATGGCGAGTGGCG
AACGGGTGAGTAACGCGTAGGAATATGCCTTGAAGAGGGGGACAACCTGGGGAACTCAAGCTAATACCGCATAATATCT
TTGGATGAAAGCTGGGGACCTTCGGGCCTGGCGCTTTAAGATTAGCCTGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAGGGC
CTACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGGCCAGCCACACTGGAAGTGAAGACAGGTCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTGAGGGTT
GTAAAGCACTTTCAGTGGGGAGGAGGATTGATAGGTTAAGAGCTGATTGATTGGACGTTACCCACAGAAGAAGCACCGGC
TAACTCCGTG
```

Drinking water network  
Area 2

Consensus

```
>30332
ATTGAACGCTGGCGGCATGCTTAACACATGCAAGTGAACGGCAGCATTGTCTAGCTTGCTAGACAGATGGCRAGTGGCG
AACGGGTGAGTAACGCGTAGGAATATGCCTTGAAGAGGGGGACAACCTGGGGAACTCAAGCTAATACCGCATAATGTCT
GAGGACGAAAGCTGGGGACCTTCGGGCCTGGCGCTTTAAGATTAGCCTGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAGGGC
CTACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACAGGTCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTGAGGGTT
GTAAAGCACTTTCAGTGGGGAGGAGGTTTRATAGGTTAAGAGCTGATTAAGTGGACGTTACCCACAGAAGAAGCACCGGC
TAACTCCGTG
```

Drinking water network  
Area 3

Consensus

```
>30770
ATTGAACGCTGGCGGCATGCTTAACACATGCAAGTGAACGGCAGCATTGTCTAGCTTGCTAGGACAGATGGCGAGTGGCG
AACGGGTGAGTAACGCGTAGGAATATGCCTTGAAGAGGGGGACAACCTGGGGAACTCAAGCTAATACCGCATAATATCT
TTGGATGAAAGCTGGGGACCTTCGGGCCTGGCGCTTTAAGATTAGCCTGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAGGGC
CTACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGGCCAGCCACACTGGAAGTGAAGACAGGTCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTGAGGGTT
GTAAAGCACTTTCAGTGGGGAGGAGGATTGATAGGTTAAGAGCTGATTGATTGGACGTTACCCACAGAAGAAGCACCGGC
TAACTCCGTG
```

## Sequencing isolated *Legionella/ Legionella pneumophila* strains: similarity research results

### Drinking water network Area 1

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value	Max Ident
LR134380.1 Legionella pneumophila subsp. pascullei strain NCTC...	905	0.0	100%
LS483412.1 Legionella pneumophila subsp. pascullei strain NCTC...	905	0.0	100%
CP014255.2 Legionella pneumophila subsp. pascullei strain F-41...	905	0.0	100%
CP021279.1 Legionella pneumophila subsp. fraseri strain F-4198...	905	0.0	100%
CP021277.1 Legionella pneumophila subsp. fraseri strain D-4058...	905	0.0	100%
CP021274.1 Legionella pneumophila strain D-4040 chromosome, co...	905	0.0	100%
CP021272.1 Legionella pneumophila strain D-5265 chromosome, co...	905	0.0	100%
CP021270.1 Legionella pneumophila strain D-7787 chromosome, co...	905	0.0	100%
CP021265.1 Legionella pneumophila subsp. fraseri strain Los An...	905	0.0	100%
CP021264.1 Legionella pneumophila subsp. fraseri strain D-5387...	905	0.0	100%

### Drinking water network Area 2

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value	Max Ident
CP048618.1 Legionella pneumophila strain ERS1305867 chromosome...	898	0.0	100%
CP045974.1 Legionella pneumophila strain AUSMDU00010536 isolat...	898	0.0	100%
CP040987.1 Legionella pneumophila strain FDAARGOS_779 chromoso...	898	0.0	100%
LR134176.1 Legionella pneumophila strain NCTC12179 genome asse...	898	0.0	100%
LR133933.1 Legionella pneumophila strain NCTC12180 genome asse...	898	0.0	100%
LR134332.1 Legionella pneumophila strain NCTC11193 genome asse...	898	0.0	100%
CP021286.1 Legionella pneumophila subsp. pneumophila strain Al...	898	0.0	100%
CP021283.1 Legionella pneumophila subsp. pneumophila strain Al...	898	0.0	100%
CP021281.1 Legionella pneumophila subsp. pneumophila strain Fl...	898	0.0	100%
CP021268.1 Legionella pneumophila subsp. pneumophila strain Bi...	898	0.0	100%

### Drinking water network Area 3

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value	Max Ident
CP021274.1 Legionella pneumophila strain D-4040 chromosome, co...	905	0.0	100%
CP021272.1 Legionella pneumophila strain D-5265 chromosome, co...	905	0.0	100%
CP021261.1 Legionella pneumophila strain NY23 (D-7705) chromos...	905	0.0	100%
CP021260.1 Legionella pneumophila strain NY24 (D-7706) chromos...	905	0.0	100%
LR134380.1 Legionella pneumophila subsp. pascullei strain NCTC...	900	0.0	100%
LS483412.1 Legionella pneumophila subsp. pascullei strain NCTC...	900	0.0	100%
CP014255.2 Legionella pneumophila subsp. pascullei strain F-41...	900	0.0	100%
CP021279.1 Legionella pneumophila subsp. fraseri strain F-4198...	900	0.0	100%
CP021277.1 Legionella pneumophila subsp. fraseri strain D-4058...	900	0.0	100%
CP021270.1 Legionella pneumophila strain D-7787 chromosome, co...	900	0.0	100%

**Watson e Crick**  
**NOBEL MEDICINA 1962: DNA discovery**



