UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE, METABOLICHE E NEUROSCIENZE - SEZIONE DI SANITÀ PUBBLICA

Trattamenti di disinfezione. Criteri di valutazione alla base della scelta, efficacia sul campo dei diversi metodi, valutazione della corretta gestione del sistema di disinfezione adottato

Paola Borella
Professore Ordinario di Igiene Generale ed Applicata
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia
Coordinatore Gruppo Multicentrico di Studio sulle Infezioni da Legionella

www.legionellaonline.it

Stato di applicazione delle LG Regionali sulla legionellosi. Focus su aspetti peculiari della DRG 828/2017 nell'ambito del Dipartimento di Sanità, Bologna 29.10 e 14.11.2018

6. SISTEMI DI DISINFEZIONE

In base alle conoscenze attuali, nessun metodo di disinfezione è in grado di lavorare adeguatamente per tutte le strutture e in tutte le circostanze. Questo perché vi sono molte differenze tra un sito e l'altro per qualità chimica e microbiologica dell'acqua in ingresso, per la progettazione e manutenzione dei sistemi distributivi dell'acqua nelle strutture, per numero di uscite periferiche dell'acqua, per compatibilità dei materiali o strumenti che utilizzano l'acqua verso alcuni sistemi di disinfezione, per le competenze del personale che si occupa della manutenzione, per le modalità di utilizzo dell'acqua e la vulnerabilità degli utenti della struttura.
In sostanza, le diverse strutture richiedono differenti soluzioni: spetta al gruppo di gestione del rischio Legionella e al personale che supervisiona il sistema idrico individuare qual è il metodo più appropriato sulla base dei dati dei fabbricanti, dei rapporti pubblicati, dei consigli di esperti indipendenti e della propria conoscenza ed esperienza. A causa della variabilità nei sistemi e la natura mutevole degli stessi nel tempo, ciò può comportare tentativi ed errori, o richiedere soluzioni diverse nel tempo e per le diverse parti del sistema (Borella et al., 2016).
In termini generali, esistono trattamenti sistemici applicabili in continuo o periodicamente o in modo spot a tutto e/o parti del sistema idrico e trattamenti localizzati solo in alcuni punti, per esempio radiazioni UV applicate all'acqua fredda in ingresso o filtri utilizzati ai punti d'uso in aree dove risiedono persone ad alto rischio. Nelle strutture sanitarie, dove il livello di rischio dei pazienti è noto e può variare da un reparto all'altro, occorre valutare l'opportunità di una combinazione di trattamenti sistemici e locali in punti specifici della rete distributiva dell'acqua (Marchesi et al., 2011; Casini et al., 2014).

Quando *Legionella* spp entra in un sistema idrico, la sua eradicazione risulta difficile per vari motivi:

- scarsa conoscenza dei circuiti idrici e creazione di rami morti a seguito di interventi di ristrutturazione degli impianti

- presenza di biofilm

- **resistenza del germe ai disinfettanti**

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

La resistenza di *Legionella* spp ai disinfettanti dipende dalle condizioni di crescita

Crescita in laboratorio	→	Resistenza bassa
Crescita in acqua naturale (batteri liberi)	→	Resistenza medio-bassa
Crescita associata a biofilm (batteri sessili)	→	Resistenza media
Crescita associata a protozoi (amebe)	→	Resistenza alta
Crescita associata a cisti amebiche	→	Resistenza molto alta

Misure di disinfezione della contaminazione da *Legionella*

- Nelle LG RER è presente un elenco di sistemi di disinfezione fisici e chimici che si possono adottare per il controllo della contaminazione.
- I metodi a disposizione sono numerosi e differiscono per efficacia, modalità di applicazione, costi e gestione.
- La scelta della metodica deve essere attentamente valutata e dipende dalle caratteristiche dell'acqua, dell'impianto idrico e della struttura in cui si intende operare. Per es. un reparto a rischio di un ospedale presenta problematiche diverse rispetto ad uno stabilimento termale o ad un albergo
- La complessità ed il materiale di costruzione delle tubazioni possono impedire l'azione di un disinfettante, così come pH, temperatura e torbidità dell'acqua possono ridurne l'efficacia.

Linee guida regionali per la sorveglianza e il controllo della Legionellosi 19-6-2017 - Bollettino Ufficiale della Regione Emilia-Romagna - Parte Seconda - N. 167

contaminazione SIGNIFICATIVA dell'impianto

SCELTA DEL METODO DI BONIFICA

INFORMAZIONI struttura dell'impianto idrico

Schemi, disegni, caratteristiche dei serbatoi, dei bollitori, dei componenti idraulici, materiali utilizzati per le linee di distribuzione e le linee di scarico.

Soltanto con queste informazioni è possibile scegliere il metodo più appropriato all'impianto esistente

6.1 Linee guida alla disinfezione nei sistemi di distribuzione dell'acqua per il controllo della contaminazione da *Legionella* spp.

- per affrontare il problema *Legionella,* la disinfezione non può essere l'unica soluzione, ma occorre attuare un sistema integrato di interventi che comprenda la manutenzione degli impianti, la formazione del personale, la diagnosi precoce dei casi;

- prima di ogni decisione se installare o meno sistemi di disinfezione o eseguire trattamenti *spot*, effettuare un piano di valutazione preventiva del rischio completo e aderente al contesto;

- se non emergono rischi di contaminazione e/o quando la ricerca di legionelle nel sistema ha dato esito negativo all'esame colturale, o alla qPCR, non vi è necessità di introdurre sistemi di disinfezione, meglio monitorare costantemente l'assenza di contaminazione;

- per le persone ad alto rischio (quali trapiantati e immunodepressi importanti) si consiglia comunque di evitare l'esposizione all'acqua corrente data anche la possibile presenza di altri germi potenzialmente pericolosi.

6.1 Linee guida alla disinfezione nei sistemi di distribuzione dell'acqua….

- se il piano del rischio ha evidenziato criticità non risolvibili, decidere quale/quali sistemi di disinfezione adottare sulla base della **contaminazione degli impianti, parametri chimico-fisici dell'acqua, e caratteristiche dei frequentatori;**

- ciascun trattamento di disinfezione presenta **limitazioni nell'uso e nell'efficacia** es. a causa di rami morti o percorsi lunghi e tortuosi;

- la presenza di **biofilm e depositi di calcare, la corrosione, i materiali della rete idrica** e le caratteristiche chimiche e chimico-fisiche dell'acqua possono interferire con il metodo di disinfezione adottato;

- le sostanze da utilizzare per la disinfezione dell'acqua devono essere sottoposte a **valutazione e autorizzazione da parte del Ministero della Salute**;

- le buone pratiche per la **sperimentazione di nuove sostanze** dovrebbero prevedere studi di efficacia *in vitro* seguito da studi sul campo di media/lunga durata in una o più strutture.

6.1 Linee guida alla disinfezione nei sistemi di distribuzione dell'acqua….

- sia per gli impianti di disinfezione in continuo che per eseguire trattamenti *spot* rivolgersi a **persone e/o ditte esperte del settore**, disciplinando le attività con un contratto che eventualmente individui anche le responsabilità in caso di mancato raggiungimento degli obiettivi;

- per ogni disinfettante, disporre, oltre che della **scheda di sicurezza**, di una **scheda tecnica** che indichi con chiarezza i disinfettanti utilizzati, la modalità di preparazione, la concentrazione all'immissione e ai punti periferici e i sistemi di allarme;

- verificare preliminarmente la **compatibilità con i materiali** degli impianti (es. tubazioni, giunti, rubinetteria, ecc.) e valutare l'utilizzo di sistemi anticorrosione chimici (filmanti selezionati tra quelli a uso alimentare) o fisici (elettromagnetici); per tenere sotto controllo la corrosione;

- evitare **eccessive concentrazioni** del biocida e/o la sovrapposizione tra più disinfettanti;

6.1 Linee guida alla disinfezione nei sistemi di distribuzione dell'acqua….

- i trattamenti di disinfezione possono rendere **l'acqua non conforme ai requisiti di qualità** richiesti dalla normativa sulle acque destinate al consumo umano; nel caso in cui ciò si verifichi controllare periodicamente la potabilità dell'acqua;

- le **buone pratiche di manutenzione dell'impianto idrico**, (flussaggi ripetuti, sostituzione di parti deteriorate, periodica decalcificazione/disinfezione dei terminali), può contribuire a mantenere sotto controllo la contaminazione;

- tutte queste procedure devono essere **sostenibili per l'impegno economico e di personale** e devono essere documentate in appositi registri;

- coloro a cui spetta monitorare la disinfezione e la manutenzione devono essere **adeguatamente formati**;

- la **comunicazione costante e scritta** tra le persone responsabili della salute dei pazienti/lavoratori e i tecnici e la collaborazione con gli organi istituzionali (Dipartimenti di Sanità Pubblica) è alla base del successo del sistema di controllo del rischio legionella.

La nostra esperienza nell'ospedale

Misure di controllo della contaminazione da *Legionella*

- Iperclorazione (ipoclorito 5 ppm+ trattamento termico T>70°C)

- Iperclorazione shock (ipoclorito 20-50 ppm)

- Trattamento termico: innalzamento temperatura > 70°C

- Boiler elettrici a T > 60°C in stanze con pazienti a rischio elevato

- Biossido di cloro : in continuo dosaggio medio 0,30 mg/l

- Monoclorammina in continuo dosaggio medio 2-3 mg/l

- Perossido di idrogeno in continuo dosaggio medio 15-20 mg/l

- Filtri ai terminali in reparti con pazienti a rischio elevato

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Metodi di disinfezione

Fisici Calore
Filtrazione
Raggi UV

Chimici

<u>Agenti ossidanti</u> (cloro, acido peracetico, bromo, iodio, clorammine, ozono, H_2O_2,)

<u>Ioni metallici</u> (rame, argento)

<u>Agenti non ossidanti</u> (chetoni, guanidine, tiocarbammati, aldeidi, amidi, amine, tiocianati, ecc.)

Nuove tecnologie sperimentali

Metodi elettrochimici

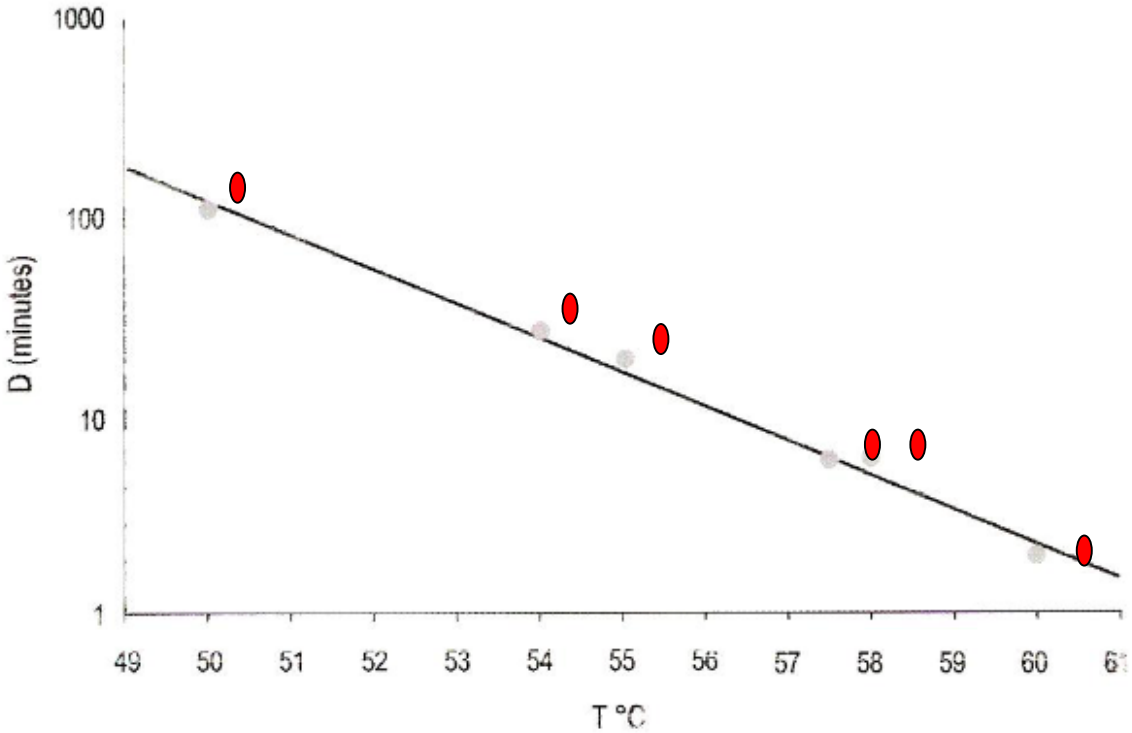
Ultrasuoni

Oli essenziali ecc..

Metodi Fisici: TRATTAMENTO TERMICO

Aumento della T dell'acqua calda nell'impianto di distribuzione dell'acqua

Figure 3.3 Decimal reduction times for *L. pneumophila* serogroup 1 at different temperatures



Decimal reduction time (D) = time in minutes to kill 90% of the population of *Legionella*

Source: data combined from Dennis, Green & Jones (1984); Schulze-Robbecke, Rodder & Exner (1987)

La temperatura inattiva le legionelle in modo proporzionale al tempo di esposizione

Crescita di *Legionella* spp in rapporto alla temperatura

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

25-42°C = intervallo ideale per la proliferazione delle legionelle nell'ambiente

Sotto i 25°C sopravvive in stato quiescente.

In laboratorio, la moltiplicazione rallenta intorno ai 45°C, a partire da 50°C non si moltiplica più, e a temperature maggiori di 60°C viene ucciso.

Su questa base, come misure di prevenzione per la riduzione del rischio da esposizione a *Legionella* le LG Nazionali ed Internazionali (OMS) prevedono:

- evitare temperature tra 25 e 45°C;
- idealmente, mantenere costante l'acqua fredda ad una T° **<20°C**

Verifiche: controllare il mantenimento di una temperatura acqua fredda in entrata ed ai siti distali a 20°C (coibentazione dei tubi, scorrimento in parallelo tubi acqua calda e fredda);

- idealmente, mantenere costante l'acqua calda alla uscite a una **T° >50°C**

Verifiche: mantenimento di un T° in uscita dal serbatoio non <60°C; se l'impianto è dotato di ricircolo, la temperatura di ritorno deve essere >50°C

da Linee Guida Nazionali ed Europee

Trattamento termico: Metodo I

Shock termico: .

innalzamento a 70-80 C°della temperatura nel punto di produzione dell'acqua calda per tre giorni consecutivi e lo scorrimento di acqua da ogni rubinetto per 30 minuti al giorno con una temperatura a tutte le uscite (rubinetti, docce) di almeno 60C° (65°C - EWGLI, 2005). Se questa temperatura non viene raggiunta e mantenuta la procedura non fornisce garanzie.
Maggior efficacia su singoli settori o in strutture di piccole dimensioni.

Le LGN suggeriscono, sulla base di altre esperienze, di svuotare preventivamente i serbatoi dell'acqua calda, di pulirli ed effettuare una decontaminazione con cloro (100 mg/L per 12-14 h).

È uno dei trattamenti più usati nelle emergenze in presenza di contaminazioni massiva degli impianti sia nelle strutture sanitarie che turistico-alberghiere

Vantaggi

- non richiede particolari attrezzature e quindi può essere messo in atto immediatamente;
- utile nelle emergenze;
- basso costo;
- buona efficacia ma solo nel breve periodo

Svantaggi

- può innescare processi di corrosione sulle tubazioni zincate richiedendo in alcuni casi la sostituzione di gran parte della rete di distribuzione a distanza di breve tempo;
- può essere attuato solo con reti di distribuzione interamente realizzate in rame, acciaio inossidabile o materiali multistrato;
- richiede tempo e personale qualificato;
- richiede avvisi e protezioni per evitare ustioni;
- è necessario controllare la T dell'acqua ai terminali e nei serbatoi e il tempo di scorrimento dell'acqua;
- modalità di disinfezione temporanea in quanto la colonizzazione dell'impianto idrico può verificarsi in alcune settimane/mesi dal trattamento se la T dell'acqua circolante ritorna al di sotto dei 50°C.

Nella pratica questa procedura è tecnicamente difficile da attuare

- l'innalzamento della temperatura dell'acqua a 70-75°C richiede efficienze di scambio termico superiori alle potenzialità della maggior parte delle centrali termiche;

- mancato raggiungimento delle alte T per il tempo necessario in tutti i punti degli edifici di grandi dimensioni;

- la presenza di depositi calcarei, possedendo un basso coefficiente di scambio termico, impedisce all'acqua di raggiungere con una temperatura idonea le colonie di *Legionella* annidate nelle porosità del calcare;

- l'innalzamento della temperatura accelera i processi di precipitazione del calcare all'interno dell'impianto.

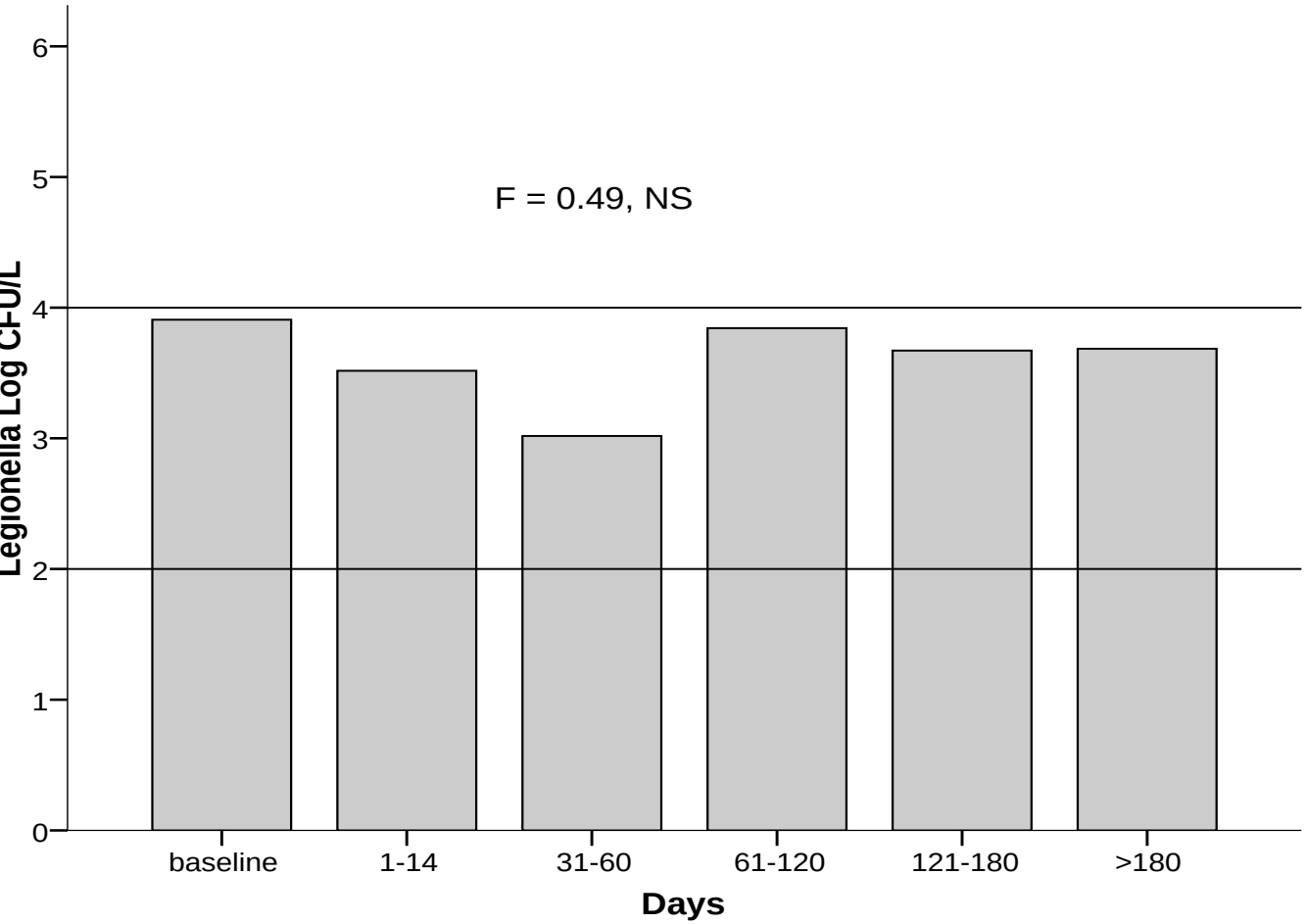
Mouchtouri et al. Am J Infect Control **(2007).** Thermal disinfection of hotels,hospitals, and athletic venues hot water distribution systems contaminated by *Legionella* species.

Chen et al. Am J Infect Control **(2005).** Abbreviated duration of superheat-andflush and disinfection of taps for *Legionella* disinfection: lessons learned from failure.

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

La nostra esperienza in ospedale

Shock termico (T >70°C)



Nessuna efficacia, anche nel breve periodo

da Linee Guida Nazionali ed Europee

Trattamento termico: Metodo II

Trattamento in continuo: mantenimento costante della temperatura tra 55-60°C all'interno della rete ed a monte della miscelazione con acqua fredda.

A 60°C nella rete, la T° ad ogni uscita deve raggiungere almeno i 50°C e preferibilmente i 55°C entro un minuto dall'apertura del rubinetto (LG Italia 2005 e EWGLI).

Attenzione il DPR 412/93 prescrive un limite di 48°C ± 5°C per la produzione di acqua calda centralizzata negli edifici pubblici.

Vantaggi: **non è inquinante, no prodotti chimici, facile realizzazione, buona efficacia**

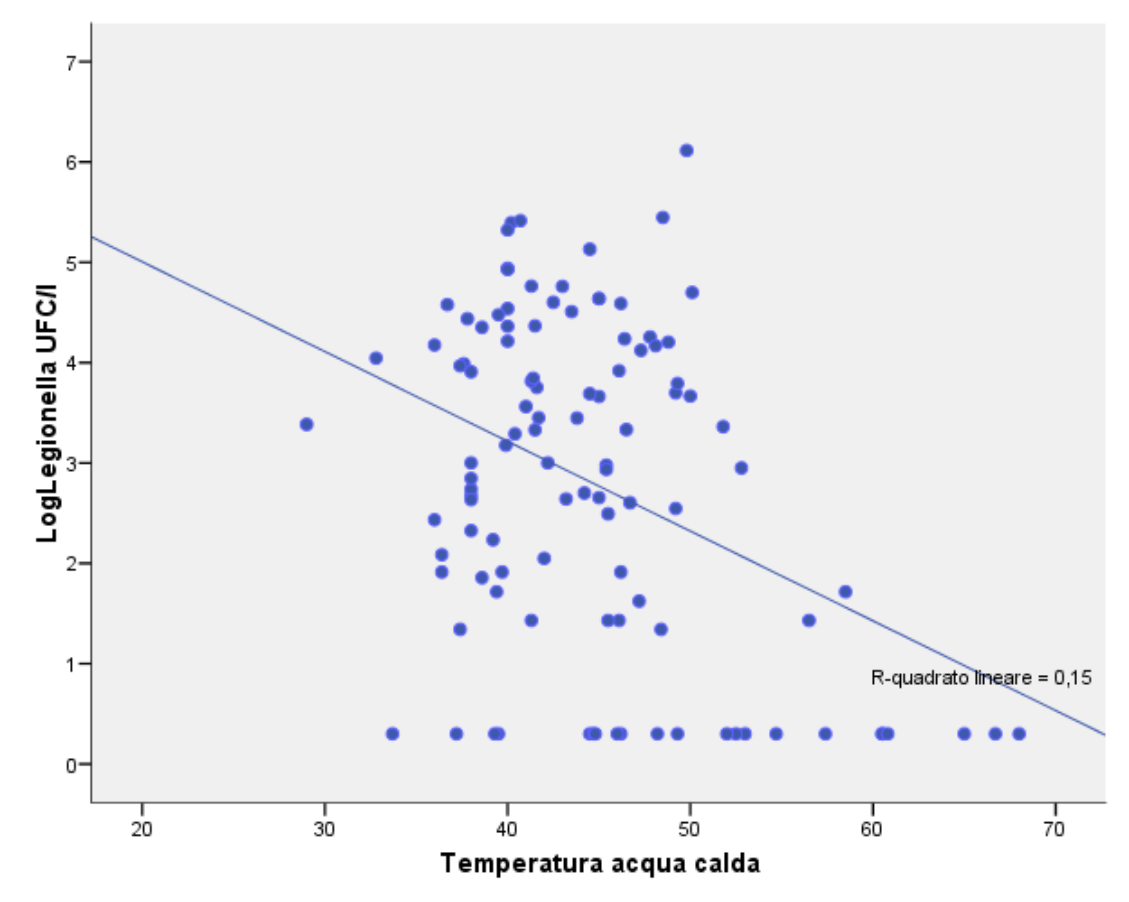
Svantaggi: **presenta l'inconveniente degli elevati consumi energetici e di conseguenza di costi elevati; rischio di ustione per gli utenti.**

Nelle LG Regione Emilia: flussaggio periodico (ogni quanto?) acqua calda a 50-60°C come misura associata al mantenimento costante di T>50°C

Blanc et al. J Hospital Inf **(2005). Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: seven years of experience in a university teaching hospital.**

Trattamento termico in continuo

I boiler collegati alla linea dell'acqua fredda sono risultati raramente contaminati: **5/57 campioni (8,8%)** positivi con cariche di *L. pneumophila* comprese tra 40 e 5.3 x 10^3 ufc/L quando l'acqua aveva una temperatura di **40-42°C**.



contaminazione da *L. pneumophila* in funzione della temperatura dell'acqua

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

frontiers in Microbiology

MINI REVIEW
published: 19 July 2017

Legionella Persistence in Manufactured Water Systems: Pasteurization Potentially Selecting for Thermal Tolerance

Harriet Whiley, Richard Bentham and Melissa H. Brown*

College of Science and Engineering, Flinders University, Bedford Park, SA, Australia

Questo lavoro mette in evidenza che la pastorizzazione dell'acqua (>70° C) non è efficace nell'eliminare *Legionella pneumophila* perché il germe riesce a resistere a queste elevate temperature in forma *viable but non culturable* (VBNC)

Questo dimostra che:

- **Si possono selezionare ceppi resistenti alle alte temperature**
- **L'analisi culturale classica e la qPCR non sono metodi sufficienti a dare informazioni sui rischi per la salute.**

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Ig Sanita Pubbl. 2018 Jan-Feb;74(1):25-34.

Determination of the effective water temperature for the reduction of Legionella spp. contamination in health facilities.

Fusaroli P[1], Ravaioli C[1], Caroli M[2].

Abstract

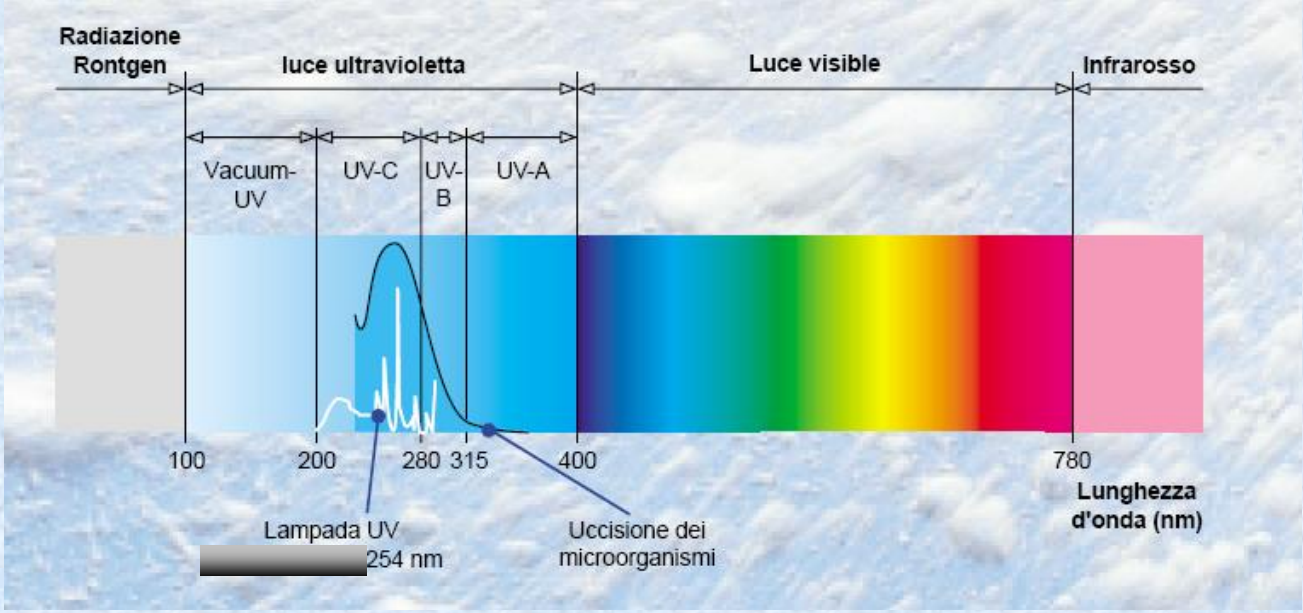
In order to find the optimal value of the hot water temperature to be reached so that there is no Legionella spp. at the dispensing points, 920 samples of water at temperature between 54 and 60 °C were analyzed at the Lugo and Faenza hospitals (Ravenna). The results indicate that the temperature required is close to 60 °C but as it's difficult to maintain in old plants, a careful patient's risk assessment needs to be carried out and therefore install antibacterial membrane filters at the dispensers.

Mezzi Fisici: Raggi ultravioletti (UV)

La porzione di spettro elettromagnetico con una lunghezza d'onda tra 100 a 400 nm è chiamata radiazione ultravioletta; gli UV-c fanno parte di un sottointervallo con lunghezze d'onda tra 100 e 280 nm.

Nel trattamento dell'acqua potabile, gli UV-c sono da tempo riconosciuti come una valida alternativa alla disinfezione con prodotti chimici.

Max attività a 254 nm



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Raggi ultravioletti

Ci sono lampade in grado di operare fino a 65-70°C munite di un sensore in grado di monitorare in continuo la qualità dell'emissione UV. Una lampada **UV** di buona qualità va sostituita dopo 8000 ore d'esercizio (circa 1 anno).

L'apparecchio dovrebbe essere vicino al punto di utilizzo.

L'acqua scorre in una parte della camera idraulica e l'esposizione alla luce ultravioletta generata da lampade a bassa pressione contenenti vapori di mercurio la disinfetta (LG 2000).

La quantità di radiazione necessaria alla distruzione dei microrganismi è funzione delle caratteristiche strutturali e metaboliche dei microrganismi stessi. Nel caso di *Legionella pneumophila il dosaggio UV deve essere tra 0,5-3 mJ/cm2 (Antopol and Ellner, 1979;)*

REQUISITI PER UN BUON FUNZIONAMENTO

- **acque limpide;**
- **solidi sospesi totali inferiori a 20 mg/l per non avere il fenomeno dello "scattering" (deviazione delle radiazioni provocata da particelle sospese);**

- **Fe e Mn nell'acqua non devono superare 0,2 mg/l e 0,05 mg/l rispettivamente;**
- **Il flusso dell'acqua sottoposta all'azione dei raggi deve avere uno spessore di pochi cm (fino a 3 cm).**

Mezzi Fisici: Raggi ultravioletti

Vantaggi:

- facili da installare; oggi anche di facile manutenzione
- efficaci in pochi secondi
- privi di effetti avversi sulle tubature
- non alterano l'odore e il sapore dell'acqua e non producono sottoprodotti
- raggi UV possono prevenire la formazione del biofilm ma solo se questi sistemi sono messi in funzione nel momento in cui l'acqua entra per la prima volta nei tubi

Svantaggi:

- mancanza di potere residuo
- da soli non sono sufficienti a controllare la presenza di *Legionella*
- interferenza con biofilm, torbidità, incrostazioni
- il flusso di acqua deve avere uno spessore limitato (max 3 cm)
- scarsamente efficaci sui protozoi, specie nella acqua calda

Hall et al. (Infection Control and Hospital Epidemiology, **2003).**
Ultraviolet light disinfection of hospital water for preventing nosocomial Legionella infection: a 13-year follow-up.

Original article

European Journal of Microbiology and Immunology 7 (2017) 2, pp. 146–149
DOI: 10.1556/1886.2017.00006

PHOTOINACTIVATION OF *LEGIONELLA RUBRILUCENS* BY VISIBLE LIGHT

J. Schmid[1], K. Hoenes[1], M. Rath[1], P. Vatter[1], B. Spellerberg[2], M. Hessling[1,*]

In this study, the photoinactivation of *Legionella* by visible light is investigated. The success of this approach would offer new prospects for technical water disinfection and maybe even for therapeutic measures in cases of *Legionella* infections. Therefore, *Legionella rubrilucens* was dispensed on buffered charcoal yeast extract medium agar plates and illuminated with different doses of violet light generated by 405 nm light-emitting diodes (LEDs). A strong photoinactivation effect was observed. A dose of 125 J/cm^2 reduced the bacterial concentration by more than 5 orders of magnitude compared to *Legionella* on unirradiated agar plates. The necessary dose for a one log-level reduction was about 24 J/cm^2. These results were obtained for extracellular *L. rubrilucens*, but other *Legionella* species may exhibit a similar behavior.

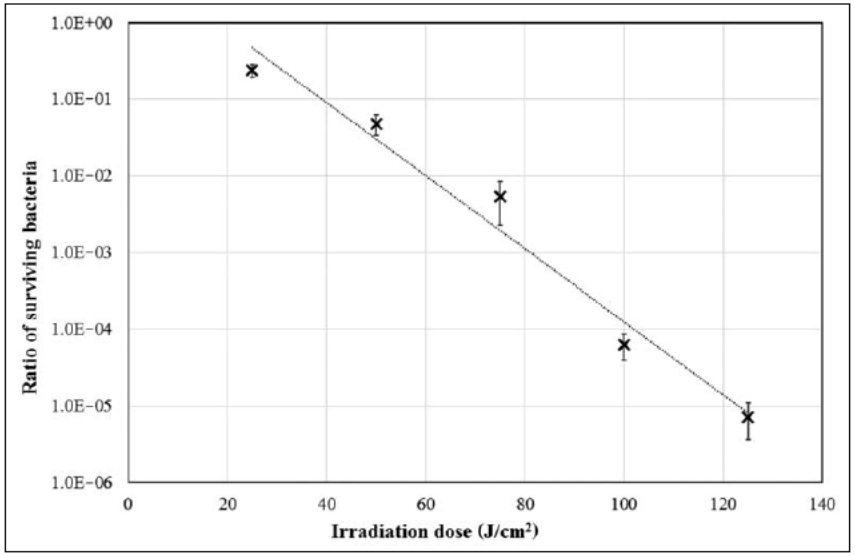


Fig. 1. Bacterial reduction for *L. rubrilucens* during 405 nm irradiation. Error bars depict the standard deviation of the average of three independent measurements

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Mezzi Fisici: Filtrazione

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Impiego di filtri da applicare ai punti distali di utilizzo dell'acqua (rubinetti, docce) in grado di trattenere il microrganismo fornendo acqua esente da *Legionella* spp e altri germi (*Pseudomonas*, micobatteri)

- Sono utilizzati soprattutto in ambito ospedaliero per la protezione di pazienti a rischio laddove il sistema idrico è contaminato
- ***Vantaggi:*** efficaci al 100% perché agiscono come barriera meccanica, no aggiunta di prodotti chimici
- ***Svantaggi:*** costo elevato, azione solo locale, il particolato presente nell'acqua può ridurre il flusso e la vita dei filtri, rischio di rottura, necessità di sostituzione periodica.

Sheffer et al. ***Efficacy of new point-of-use water filter for preventing exposure to Legionella and waterborne bacteria.*** Am J Infect Control. 2005;33(5 Suppl 1):S20-5.

Salvatorelli G et al. ***Effectiveness of installing an antibacterial filter at water taps to prevent Legionella infections.*** J Hosp Infect 2005;61(3):270-1.

Sono allo studio nuovi tipi di filtri con uno strato di argento sulla membrana filtrante per diminuire la crescita del biofilm ed aumentare i tempi d'uso.

Daeschlein et al. *BMC infectious Diseases* **(2007). Hygienic safety of reusable tap water filters (germlyser) with an operating time of 4 or 8 weeks in a haematological oncology transplantation unit**.

Vonberg et al. *BMC infectious Diseases* ***(2008).*** **Impact of a silver layer on the membrane of tap water filters on the microbiological quality of filtered water.**

- RISULTATI CONTRADDITORI: problema della contaminazione batterica retrograda per schizzi d'acqua dal lavandino o per contatto diretto con mani contaminate e abiti sporchi del personale addetto alle pulizie.

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Journal of Hospital Infection 96 (2017) 172—176

Experimental comparison of point-of-use filters for drinking water ultrafiltration

M. Totaro [a], P. Valentini [a], B. Casini [a], M. Miccoli [b], A.L. Costa [a], A. Baggiani [a,*]

Background: Waterborne pathogens such as *Pseudomonas* spp. and *Legionella* spp. may persist in hospital water networks despite chemical disinfection. Point-of-use filtration represents a physical control measure that can be applied in high-risk areas to contain the exposure to such pathogens. New technologies have enabled an extension of filters' lifetimes and have made available faucet hollow-fibre filters for water ultrafiltration.
Aim: To compare point-of-use filters applied to cold water within their period of validity.
Methods: Faucet hollow-fibre filters (filter A), shower hollow-fibre filters (filter B) and faucet membrane filters (filter C) were contaminated in two different sets of tests with standard bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa* DSM 939 and *Brevundimonas diminuta* ATCC 19146) and installed at points-of-use. Every day, from each faucet, 100 L of water was flushed. Before and after flushing, 250 mL of water was collected and analysed for microbiology.
Findings: There was a high capacity of microbial retention from filter C; filter B released only low *Brevundimonas* spp. counts; filter A showed poor retention of both micro-organisms.
Conclusion: Hollow-fibre filters did not show good micro-organism retention. All point-of-use filters require an appropriate maintenance of structural parameters to ensure their efficiency.

Metodi chimici di disinfezione: agenti ossidanti

- **Agenti ossidanti (cloro, bromo, iodio, clorammine, ozono, H_2O_2, acido peracetico)**
- **Ioni metallici (rame, argento)**
- **Agenti non ossidanti (chetoni, guanidine, tiocarbammati, aldeidi, amidi, amine, tiocianati, ecc.)**

Clorazione con ipoclorito

Iperclorazione shock = immissione di ipoclorito per avere 20-50 ppm di Cl residuo in tutto il sistema inclusi i punti distali, tempo di contatto di 1-2 h, svuotamento dell'impianto poi si fa scorrere nuova acqua fino ad avere 0,5-1ppm di Cl residuo

Iperclorazione continua = iniezione continua per avere 1-3 ppm Cl libero ai rubinetti

Vantaggi: costo moderato

Svantaggi:

1. **corrosione** del sistema idrico (tubi e materiali)

2. formazione di sottoprodotti organici della clorazione (**trialometani**) tossici per l'uomo

3. odore e sapore sgradevoli

4. **ricolonizzazione** nel lungo periodo: riduce ma non eradica *Legionella* (biofilm, amebe)

5. difficoltà di applicazione

Esempi di applicazione dell'iperclorazione shock con ipoclorito

Articolo	Metodi	Durata	Risultati
Valutazione dell'efficacia di interventi di disinfezione di impianti idrici ospedalieri contaminati da legionella. Ditommaso S.et al. GIIO 2000 .	▪25 mg/l 3h ▪50 mg/l 4 ore No Sorveglianza clinica	16 mesi	Efficacia a breve termine Ricolonizzazione impianto dopo 15-30 gg dal trattamento
Long-term persistence of a single Legionella pneumophila strain possessing the mip gene in a municipal shower despite repeated cycles of chlorination. Cooper I et al. J Hosp Infect. 2008	▪5 cicli 50 mg/l 1h	2 aa 1/2	Continua ricolonizzazione dell'impianto

García MT et al **(2008)**. **Persistence of chlorine-sensitive Legionella pneumophila in hyperchlorinated installations**. J Appl Microbiol 105(3):837-47.

Tutti gli autori riportano un'efficacia solo temporanea

Esempi di applicazione iperclorazione continua con ipoclorito

Articolo	Metodi	Durata	Risultati
Legionnaires' disease associated with a hospital water system. A five-year progress report on continuous hyperchlorination Helms CM et al. JAMA. 1988 *	▪Posti letto 940 ▪ 8 mg/; 3-5 mg/l ▪Sorveglianza clinica	5 aa	Prima: 29 % punti positivi 16 casi in anno Dopo: <5% punti positivi 4 casi in 5 anni
Reduction in Legionella pneumophila through heat flushing followed by continuous supplemental chlorination of hospital hot water Snyder MB et al. J Infect Dis. 1990*	▪Posti letto 900 ▪2 -5mg/l ▪Sorveglianza clinica	17 mesi	Prima: 37 % punti positivi 7 casi 5 mesi Dopo: 7% positivi dopo 6 mesi andamento fluttuante nessun caso in 17 mesi
Continuous Hyperchlorination of a Potable Water System for Control of Nosocomial Legionella pneumophila Infections Massanari RM et al 1984 Proceedings of the Second Int. Symposium	▪Posti letto 1076 ▪8 mg/l ▪Sorveglianza clinica	16 mesi	Prima: 21 % punti positivi 3 casi in un mese Dopo: 2 punti positivi/400 nessun caso in 16 mesi
Colonization of a water system by Legionella organisms and nosocomial legionellosis: a 5-year report from a large Italian hospital. Ditommaso S. et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006	▪Posti letto 1400 ▪2-3 mg/l ▪Sorveglianza clinica	5 aa	Prima: 47 % punti positivi 9 casi in un anno Dopo: 6% punti positivi dopo 16 mesi 10 casi

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Effect of chlorine and temperature on free-living protozoa in operational man-made water systems (cooling towers and hot sanitary water systems) in Catalonia

Oriol Canals · Alejandra Serrano-Suárez · Humbert Salvadó · Javier Méndez · Sílvia Cervero-Aragó · Vicenç Ruiz de Porras · Jordi Dellundé · Rosa Araujo

Environ Sci Pollut Res (2015) 22:6610–6618

Table 2 Number of samples in which FLP were detected using both PCR and culture methods and list of the protozoan taxa in the cooling towers

	Cooling towers (n=47)	
	Low-chlorine (n=16) *	High-chlorine (n=31) **
FLP detection (PCR+culture)	10 (62.5 %)	7 (22.6 %)
FLP detection by PCR	8 (50 %)	2 (6.5 %)
FLP detection by culture	8 (50 %)	2 (6.5 %)
Free-living amoebae	8 (50 %)	2 (6.5 %)
Acanthamoeba spp.	1	2
Vermamoeba spp.	2	–
Non identified	5	–
Flagellates	4 (25 %)	1 (3.2 %)
Bodo spp.	3	–
Non identified	2	1
Ciliates	4 (25 %)	0 (0 %)
Colpoda steinii	3	–
Non identified	1	–

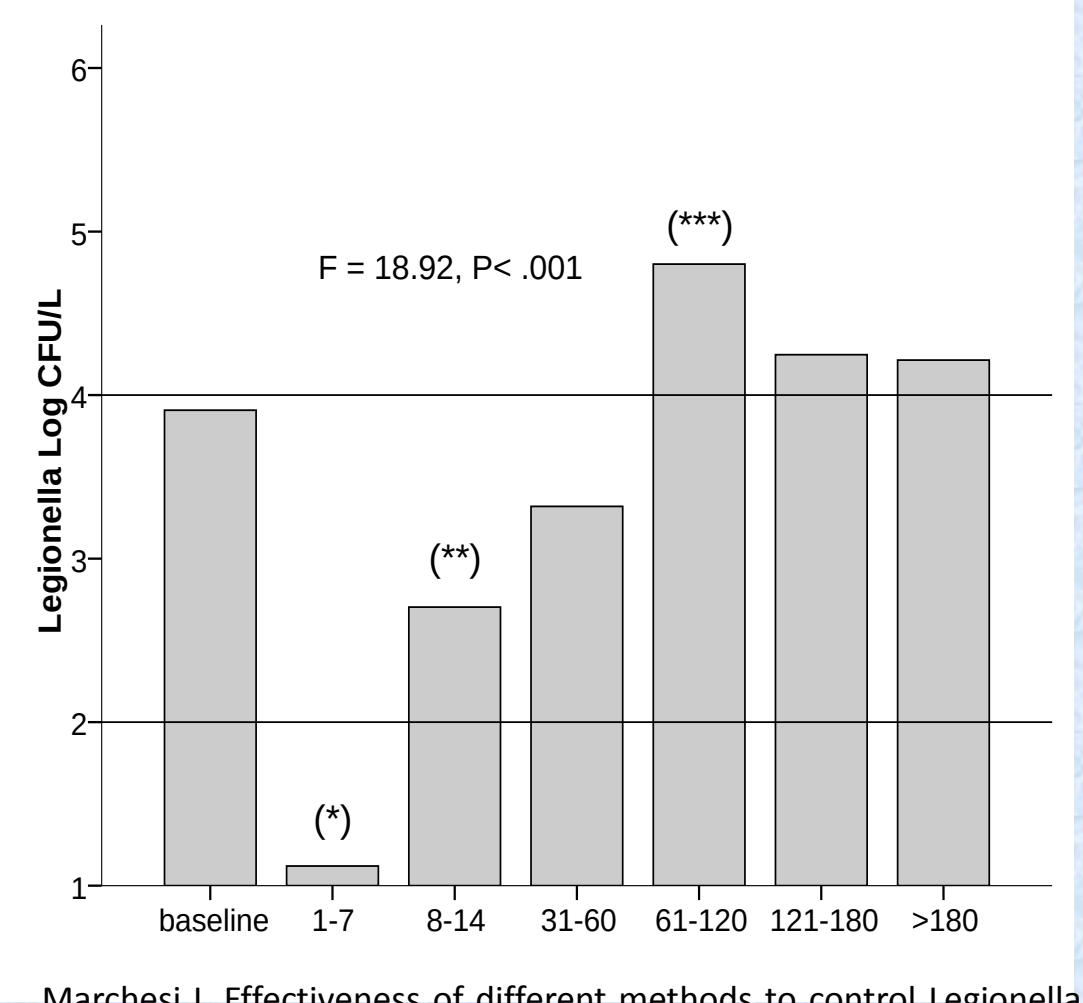
n Number of samples; *mean chlorine concentration of 0.04 mg L^{-1}; **mean chlorine concentration of 7.5 mg L^{-1}

Table 4 Number of samples in which FLP were detected using both PCR and culture methods and list of the protozoan taxa in hot sanitary water systems

	Hot sanitary water systems (n=124)	
	Cold HSWS (n=63) *	Hot HSWS (n=61) **
FLP detection (PCR+culture)	30 (47.6 %)	18 (29.5)
FLP detection by PCR	19 (30.2)	13 (21.3 %)
FLP detection by culture	28 (44.4 %)	10 (16.4 %)
Free-living amoebae	28 (44.4 %)	10 (16.4 %)
Acanthamoeba spp.	4	1
Vermamoeba spp.	5	1
Vahlkampfia spp.	5	1
Vannella spp.	1	–
Non identified	15	8
Flagellates	5 (7.9 %)	2 (3.3 %)
Bodo spp.	1	–
Chrysomonadida	1	1
Paratretamitus spp.-like	1	–
Non identified	3	1
Ciliates	0 (0 %)	0 (0 %)

n Number of samples, *mean temperature of 27.8 °C, **mean temperature of 53.1 °C

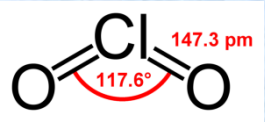
Iperclorazione shock con ipoclorito di sodio (20-50 ppm di cloro)

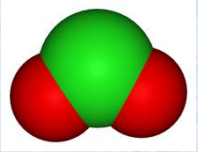


Dopo due settimane, la contaminazione ritorna a livelli uguali o superiori al pre-trattamento

Marchesi I, Effectiveness of different methods to control Legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital. Journal of Hospital Infection 2011

Biossido di Cloro ClO_2





Gas usato per la disinfezione delle acque potabili sia in Europa che negli USA

VANTAGGI:

- ✓ Non determina formazione di clorofenoli maleodoranti
- ✓ Minor corrosione rispetto all'ipoclorito
- ✓ Maggior efficacia nel ridurre i biofilm già esistenti e nel prevenirne la formazione di nuovi rispetto al cloro

SVANTAGGI:

- ✓ Formazione di cloriti
- ✓ Problemi di sicurezza dipendenti dal metodo di produzione del biossido
- ✓ Problemi di corrosione

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

BIOSSIDO DI CLORO

Studi in vitro

Articolo	Metodi	Risultati
Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. Exner M, et al Am J Infect Control. 2005.	Impianto pilota 0.2 mg/l	70 gg distruzione batteri 60-170 gg distruzione biofilm

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

BIOSSIDO DI CLORO

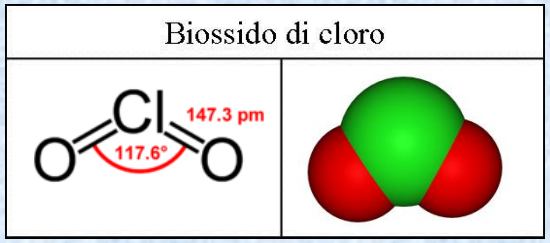
Articolo	Metodi	Durata	Risultati
Comparison of chlorine and chlorine dioxide disinfection for control of Legionella in a hospital potable water supply. Hamilton E. et al. J Hosp Infect. 1996	▪793 posti letto ▪1 reparto 0.5 –1 mg/l di cloro (in entrata) ▪1 reparto 0.5 mg/l di biossido di cloro (in entrata)	6 mesi	Dopo 6 mesi: 28% punti positivi 12% punti positivi
A 17-month evaluation of a chlorine dioxide water treatment system to control Legionella species in a hospital water supply. Srinivasan A et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 2003.	▪154 posti letto (chirurgia, oncologia, trapianti) ▪0.8 mg/l ▪Sorveglianza clinica	17 mesi	Prima: 41% punti positivi Dopo: 4% punti positivi No casi
Point-of-care controls for nosocomial legionellosis combined with chlorine dioxide potable water decontamination: a two-year survey at a Welsh teaching hospital. Hosein IK et al. J Hosp Infect. 2005	▪1000 posti letto ▪0.5 mg/l ▪Sorveglianza clinica	2 anni	Prima: 40% punti positivi Dopo: 50% punti positivi Riduzione conta 2 casi trasmissione microaspirazione
Safety and efficacy of chlorine dioxide for Legionella control in a hospital water system. Zhang Z. et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 2007	▪364 posti letto ▪0.5–0.7mg/ l(in entrata) ▪0.1–0.7mg/ l(in uscita)	30 mesi	Prima: 60% punti positivi Dopo: 10% punti positivi

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

BIOSSIDO DI CLORO

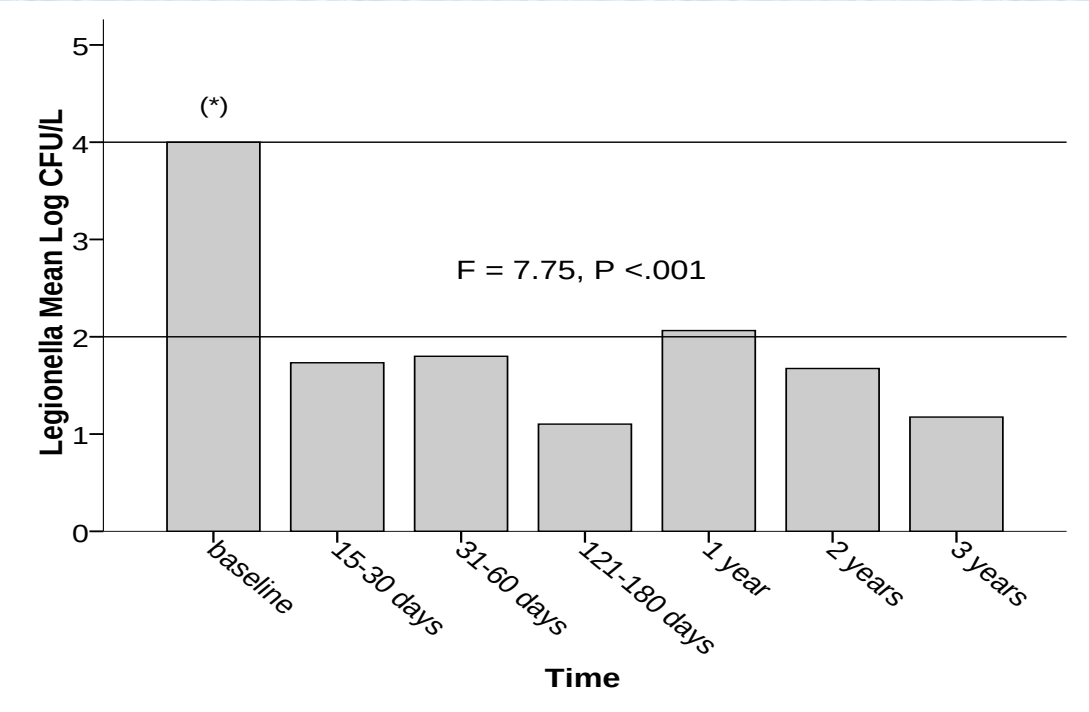
Articolo	Metodi	Durata dello studio	Risultati
Persistence of the same strain of Legionella pneumophila in the water system of an Italian hospital for 15 years. Scaturro M et al Infect Control Hosp Epidemiol. 2007	▪0.4-0.5 mg/l ▪Sorveglianza clinica	4 anni	▪No riduzione della cotaminazione ▪6 casi
Molecular epidemiology of Legionella pneumophila serogroup 1 isolates following long-term chlorine dioxide treatment in a university hospital water system. Casini B et al.J Hosp Infect. 2008	▪0.2–0.5mg/ l(in uscita)	5 anni	Prima: 67% punti positivi Dopo: 14% punti positivi

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA



BIOSSIDO DI CLORO ClO_2

- 2 impianti in due diverse sottocentrali del monoblocco principale in funzione dal 2005
- Gas prodotto *in situ* in un generatore che dosa acido cloridrico e clorito di sodio



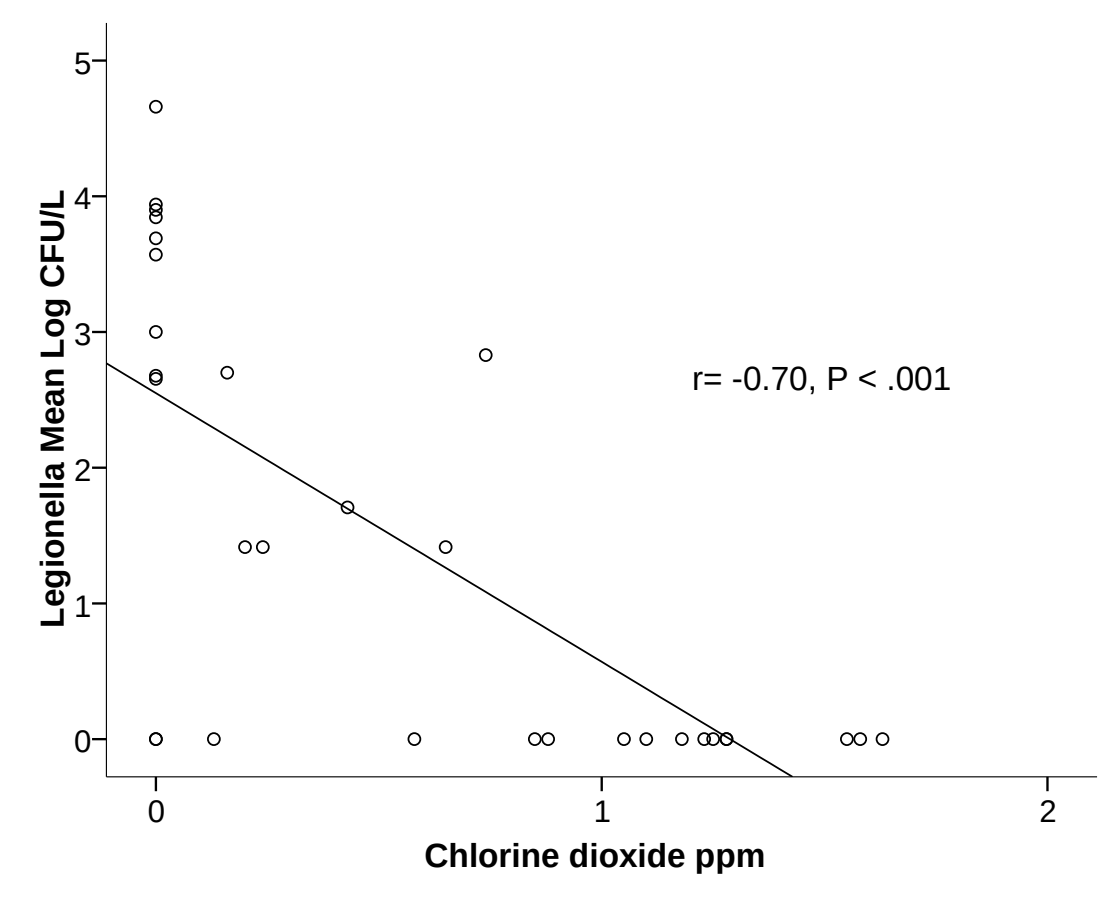
(*) P < 0.05

contaminazione da *Legionella* in presenza di biossido di cloro

Riduzione significativa della contaminazione nel lungo periodo (3 anni)

Effetto dei trattamenti di disinfezione

Carica media di *Legionella* in relazione alla concentrazione di biossido di cloro

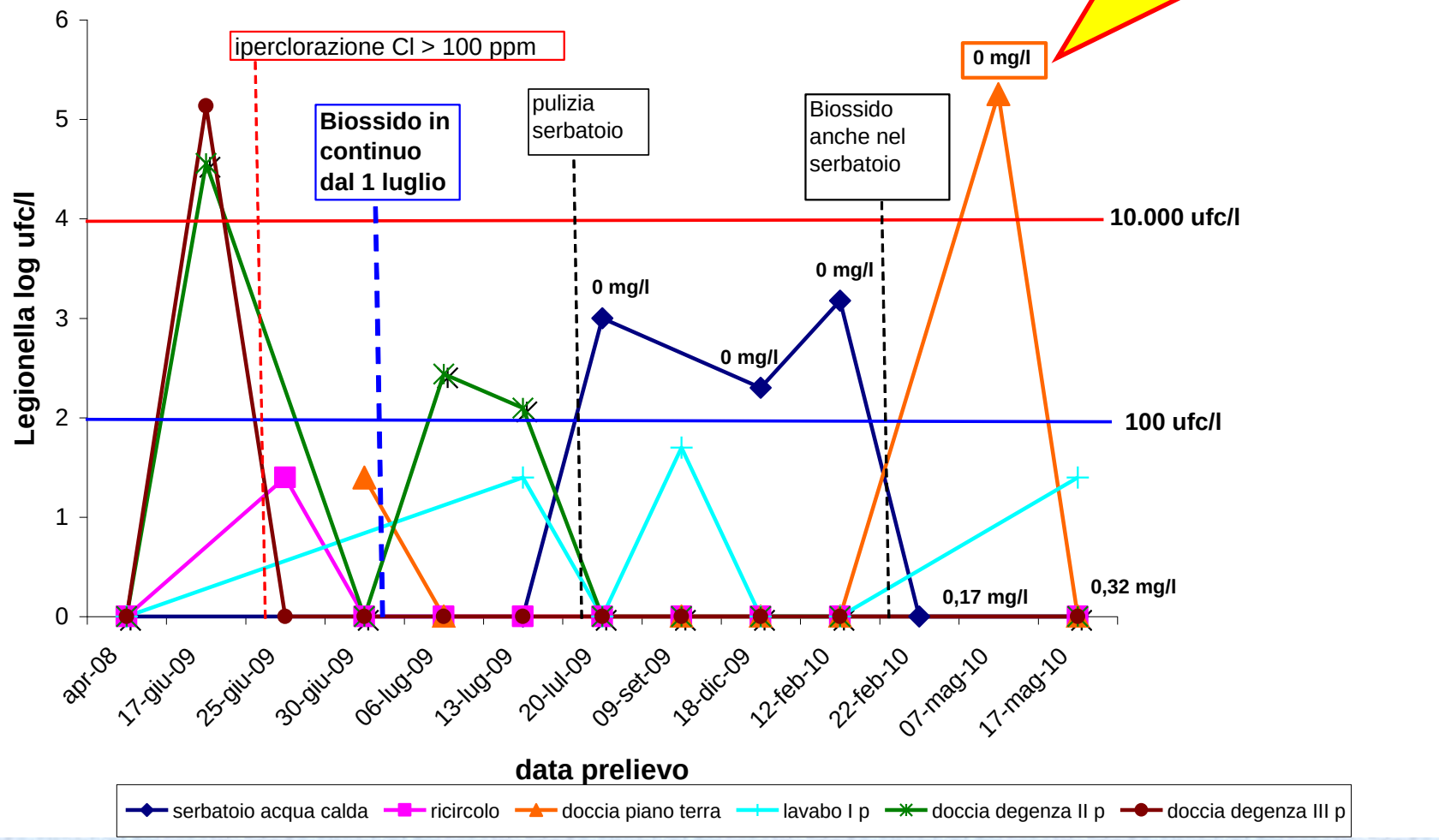


UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Esempio di funzionamento di un impianto al biossido

Blocco impianto per 24h

Legionella > 10^5 ufc/l



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Agenti ossidanti: Ozono
Studi in vitro

Articolo	Metodi	Risultati
Comparative Assessment of Chlorine, Heat, Ozone, and UV Light for Killing Legionella pneumophila within a Model Plumbing System Muraca P. et al. 1987 Appl Environ Microbiol	Impianto pilota 1-2 mg/l x 3h	Riduzione di 5 log.
Effects of three oxidizing biocides on Legionella pneumophila serogroup 1. Domingue EL et al 1988 Appl Environ Microbiol	0.1-0.3 mg/l x 5' Cercare metodo	Riduzione di 2 log.

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Ozono

Articolo	Metodi	Durata	Risultati
Efficacy of ozone in eradication of Legionella pneumophila from hospital plumbing fixtures. Edelstein PH et al. Appl Environ Microbiol. 1982	▪In vitro 0.32- 0.47- 0.63 mg/l per 20min. ▪3 gg 1 +-0.3 mg/l ▪3 settimane 0.5+- 0.2 mg/l	2 mesi	0.32 mg/l riduzione 3 log Efficace sui punti terminali ma contemporanea riduzione delle cariche di legionella anche nei reparti non trattati
Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control Legionella: seven years of experience in a university teaching hospital. Blanc DS, J Hosp Infect. 2005.	▪tempo di contatto 18min ▪0.3 mg/l ozono residuo	2 anni	No riduzione % siti positivi

Nessuna efficacia

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Ozono

Articolo	Metodi	Durata	Risultati
Efficacy of ozone in eradication of Legionella pneumophila from hospital plumbing fixtures. Edelstein PH et al. Appl Environ Microbiol. 1982	▪In vitro 0.32- 0.47- 0.63 mg/l per 20min. ▪3 gg 1 +-0.3 mg/l ▪3 settimane 0.5+- 0.2 mg/l	2 mesi	0.32 mg/l riduzione 3 log Efficace sui punti terminali ma contemporanea riduzione delle cariche di legionella anche nei reparti non trattati
Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control Legionella: seven years of experience in a university teaching hospital. Blanc DS, J Hosp Infect. 2005.	▪tempo di contatto 18min ▪0.3 mg/l ozono residuo	2 anni	No riduzione % siti positivi

Nessuna efficacia

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Agenti ossidanti: ACIDO PERACETICO

L'acido peracetico è raccomandato per la bonifica di impianti idrici soltanto dalle linee guida francesi (Gestion du risque lié aux légionelles, 2001).

Come per l'iperclorazione shock anche i trattamenti shock con acido peracetico non consentono di mantenere 'impianto bonificato per tempi lunghi (Ditommaso S et al.).

Leoni e coll. hanno utilizzato il prodotto in una spa con scarsi risultati (efficace sull'acqua di ricircolo ma inefficace sulla distribuzione finale (nebulizzatori e irrigatori nasali).

Articolo	Metodi	Durata	Risultati
Peracetic acid in the disinfection of a hospital water system contaminated with Legionella species. Ditommaso S et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005	▪Studio in vitro 50 mg/l per 5' ▪Studio sul campo 50 mg/l per 30 1000 mg/l per 30'	2 anni	Efficace subito (dopo una settimana) Ricolonizzazione dopo in mese
Control of Legionella pneumophila contamination in a respiratory hydrotherapy system with sulfurous spa water. Leoni E et al Infect Control Hosp Epidemiol. 2006	20 mg/l per 12 ore	3 mesi	efficace sul ricircolo no nei punti terminali (nebulizzatori)

IONIZZAZIONE RAME-ARGENTO

La ionizzazione è realizzata tramite elettrolisi: passaggio di corrente elettrica attraverso gli elettrodi di rame e di argento, che determina la liberazione di ioni caricati positivamente, la cui concentrazione dipende dalla potenza applicata.

Meccanismo d'azione

Gli ioni Cu^{2+} e Ag^{+} alterano la permeabilità della membrana cellulare con conseguente lisi e morte della cellula batterica.

Effetto sinergico del Cu e dell'Ag

Le concentrazioni degli ioni utilizzate nei diversi studi sono variabili:
Cu: da 200 a 800 µg/L Ag: da 20 a 80 µg/L

Le concentrazioni devono tener conto del rispetto dei livelli di Cu e Ag per l'acqua potabile

In Italia

Cu: 1 mg/L (DL 31/01)
Ag: 10 µg/L CMA 80 µg/L (DPR 236/88)

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

IONIZZAZIONE RAME-ARGENTO

Vantaggi

- Buon effetto residuo con disinfezione a lungo termine e protezione da ricontaminazione se gli ioni arrivano ai livelli stabiliti
- Non dà prodotti secondari
- Non corrosivo
- Non è influenzato dalla temperatura dell'acqua

Svantaggi

- **Richiede una costante manutenzione della rete idrica**

È difficile mantenere le concentrazioni efficaci nell'acqua in ogni punto se le reti sono complesse e vetuste e il consumo di acqua è discontinuo

Rimozione e pulizia degli elettrodi per il deposito di sedimenti vari, con una frequenza che dipende dalla qualità dell'acqua (durezza, ecc.) o dalle caratteristiche del flusso (es: erosione per velocità eccessiva)

- **Controllo del ph intorno a valori di neutralità**

pH = 9 precipitazione dell'Ag, efficacia 10 volte inferiore su *Legionella*

pH = 6 precipitazione di complessi di Cu insolubili, non più disponibili per la disinfezione

- **Controllo dei livelli di cloro e nitrati**

Il cloro ed i nitrati reagiscono facilmente con i cationi argento presenti nell'acqua, diminuendo la loro disponibilità e l'effetto biocida

- **Interferenza con materiali delle tubature**

Lo zinco produce inattivazione degli ioni argento

- **Rischio di superamento dei valori ammissibili nell'acqua in uscita**
- **Comparsa di ceppi di *Legionella* resistenti**

Alcuni autori suggeriscono che le legionelle siano in grado di sviluppare resistenza nei confronti degli ioni Cu, ma ciò resta da verificare (Rohr U et al 1999)

Esperienze di utilizzo negli ospedali

Luogo di applicazione	Durata	Concentrazioni Rame e Argento	Risultati
16 Ospedali USA *Stout et al 2000*	Da 5 a 7 anni	Non riportate	INIZIO: • Tutti positivi • 6/13 ospedali con >30% dei siti positivi DOPO TRATTAMENTO: • Nessun ospedale con >30% dei siti positivi • **7/16 ospedali (44%) negativi**
Ospedale Finlandia *Kusnetsov et al 2001*	4 anni	[Cu] da 84 a 120 µg/L [Ag] da 0,3 a 7 µg/L	INIZIO: Legionella specie $3,5X10^2$ - 2x104 cfu/l DOPO TRATTAMENTO: • **Assenza di legionella con livelli di Ag > 3 µg/L**
Ospedale Svizzera *Blanc et al 2005*	3 anni	[Cu] da 300 µg/L [Ag] ~ 22 µg/L	INIZIO: 90% di campioni positivi da siti periferici, 62% dai tamponi ai rubinetti DOPO TRATTAMENTO: • 93% di campioni positivi da siti periferici, 60% dai tamponi ai rubinetti • **nessuna riduzione della contaminazione**

Luogo di applicazione	Durata	Concentrazioni Rame e Argento	Risultati
Ospedale Spagna *Mòdol et al 2007*	Ottobre 1999-gennaio 2004	[Cu] da 100 a >300 µg/L [Ag] da 10 a > 30µg/L	INIZIO: • Tasso di positività per *L. pneumophila* sg 1 del 57%, con una conta media di 11.972 cfu/l DOPO TRATTAMENTO: • Tasso di positività del 21% con una conta media pari a 758 cfu/l • **Ulteriore riduzione della positività (16%) con concentrazioni di Cu e Ag > di 0,3 e 0,03 mg/l rispettivamente**
Ospedale Taiwan *Chen et al 2008*	1 anno	[Cu] 200 µg/L [Ag] 20 µg/L	INIZIO: • 30% di campioni positivi dai reparti (*L. pneumophila* 1-6-7-10), 40% dall'Unità di cura intensiva DOPO TRATTAMENTO : **Negativi i campioni dai reparti, 5% positivi dall'Unità di cura intensiva**

1596 • CID 2015:60 (1 June) •

The Importance of Clinical Surveillance in Detecting Legionnaires' Disease Outbreaks: A Large Outbreak in a Hospital With a *Legionella* Disinfection System—Pennsylvania, 2011–2012

Alicia Demirjian,[1,2] Claressa E. Lucas,[2] Laurel E. Garrison,[2] Natalia A. Kozak-Muiznieks,[2] Stanley States,[3] Ellen W. Brown,[2] Jonathan M. Wortham,[1,2] Amanda Beaudoin,[1,4] Megan L. Casey,[5] Chandra Marriott,[6] Alison M. Ludwig,[1,7] Ali F. Sonel,[8,9] Robert R. Muder,[8,9] and Lauri A. Hicks[2]

Results. We identified 5 definite and 17 probable healthcare-associated LD cases; 6 case patients died. Of 25 locations (mostly potable water) where environmental samples were obtained for *Legionella*-specific culture, all but 2 showed *Legionella* growth; 11 isolates were identical to 3 clinical isolates by sequence-based typing. Mean copper and silver concentrations were at or above the manufacturer's recommended target for *Legionella* control. Despite this, all samples where copper and silver concentrations were tested showed *Legionella* growth.

Conclusions. This outbreak was linked to the hospital's potable water system and highlights the importance of maintaining a high index of suspicion for healthcare-associated LD, even in the setting of a long-term disinfection program.

Table 1. Copper and Silver Ion Concentration Measurements and *Legionella* Growth

Location	Copper	Silver	*Legionella* Growth
Patient room A sink	**0.22**	**0.02**	Detected
Patient room B sink	**0.27**	**0.02**	Detected
Patient room C sink	0.18	0.01	Detected
Patient room D sink	**0.40**	**0.02**	Detected
Patient room E sink	0.19	0.03	Detected
Sink in operating theater area	0.14	0.00	Detected
Prior to entry into Cu-Ag unit A	**0.35**	**0.02**	Detected
Immediately after Cu-Ag unit B	**0.38**	**0.04**	Detected
Prior to entry into Cu-Ag unit C	**0.27**	**0.02**	Detected
Immediately after Cu-Ag unit C	**0.32**	**0.07**	Detected
Sterilization machine water tank	0.28	0.01	Detected
Mean	**0.30**	**0.02**	

Water Research 102 (2016) 1–10

Copper-silver ionization at a US hospital: Interaction of treated drinking water with plumbing materials, aesthetics and other considerations

Simoni Triantafyllidou [a,*], Darren Lytle [b], Christy Muhlen [b], Jeff Swertfeger [c]

Tap water sampling and surface analysis of copper pipe/bathroom porcelain were performed to explore the fate of copper and silver during the first nine months of copper-silver ionization (CSI) applied to cold and hot water at a hospital in Cincinnati, Ohio. Ions dosed by CSI into the water at its point of entry to the hospital were inadvertently removed from hot water by a cation-exchange softener in one building (average removal of 72% copper and 51% silver). Copper at the tap was replenished from corrosion of the building's copper pipes but was typically unable to reach 200 μg/L in first-draw and flushed hot and cold water samples. Cold water lines had >20 μg/L silver at most of the taps that were sampled, which further increased after flushing. However, silver plating onto copper pipe surfaces (in the cold water line but particularly in the hot water line) prevented reaching 20 μg/L silver in cold and/or hot water of some taps. Aesthetically displeasing purple/grey stains in bathroom porcelain were attributed to chlorargyrite [$AgCl_{(s)}$], an insoluble precipitate that formed when CSI-dosed Ag^+ ions combined with Cl^- ions that were present in the incoming water. Overall, CSI aims to control *Legionella* bacteria in drinking water, but plumbing material interactions, aesthetics and other implications also deserve consideration to holistically evaluate in-building drinking water disinfection.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

American Journal of Infection Control 44 (2016)

Are there effective interventions to prevent hospital-acquired Legionnaires' disease or to reduce environmental reservoirs of *Legionella* in hospitals? A systematic review

Dejanira Almeida MSc [a,*], Elisabete Cristovam MSc [a], Daniel Caldeira MD [b,c], Joaquim J. Ferreira MD, PhD [b,c], Teresa Marques MD, PhD [a]

Background: Legionnaires' disease (LD) is recognized as an important hospital-acquired disease. Despite the several methods available, the optimal method to control hospital-acquired LD is not well established and their overall efficacy requires further evaluation.

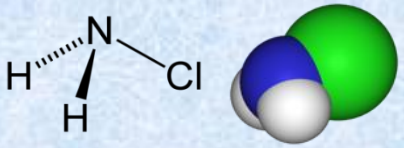
Objective: To systematically review all controlled trials evaluating the efficacy of interventions to prevent hospital-acquired LD in patients at high risk of developing the disease and its effects on environmental colonization.

Methods: A database search was performed through PubMed and the Cochrane Central Register of Controlled Trials (inception-November 2014). Eligible studies included all controlled studies evaluating interventions to prevent hospital-acquired LD in patients at high risk or evaluating the effect on environmental colonization. Both individual and pooled risk estimates were reported using risk ratio (RR) and 95% confidence intervals (95% CIs).

Results: There were no studies evaluating the risk reduction in hospital-acquired LD, but 4 studies evaluated the influence of copper-silver ionization and ultraviolet light in the reduction of environmental reservoirs of *Legionella*. The meta-analysis showed a significant 95% risk reduction of *Legionella* positivity in environmental samples using copper-silver ionization (RR, 0.05; 95% CI, 0.01-0.17) and 97% risk reduction with ultraviolet light (RR, 0.03; 95% CI, 0.002-0.41).

Conclusions: The best available evidence suggests that copper-silver ionization and ultraviolet light are effective in reducing *Legionella* positivity in environmental samples. Nevertheless, the low quality of evidence weakens the robustness of conclusions.

Monoclorammina NH_2Cl



- Disinfettante usato negli USA per il trattamento dell'acqua potabile
- Vietato l'uso in alcuni paesi (Germania, Svizzera)

VANTAGGI:

- ❑ No formazione di trialometani
- ❑ Minore alterazione del gusto e dell'odore
- ❑ Maggiore penetrazione nel biofilm
- ❑ Minor effetto corrosivo sulle tubature
- ❑ Maggiore persistenza
- ❑ Facile da produrre e dosare

Rispetto al cloro libero

SVANTAGGI:

- ❑ Nitrificazione dell'acqua (metaemoglobinemia nei neonati)
- ❑ Effetto lesivo sui componenti in gomma
- ❑ Tossicità per alcuni pesci
- ❑ Non utilizzabile per l'acqua in emodialisi

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

In letteratura: studi sul campo

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Nelle città USA dove l'acqua condottata è trattata con monoclorammina negli ospedali il rischio di casi di legionellosi nosocomiale è ridotto, gli impianti idrici degli ospedali sono privi di contaminazione rispetto agli ospedali presenti in municipalità che usano il cloro

- Kool JL et al. **Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' disease**. Lancet 1999; 353:272-77.
- Kool JL et al. **Hospital characteristics associated with colonization of water systems by Legionella and risk of nosocomial legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals.** Infect Control Hosp Epidemiol 1999;20(12):798-805.
- Heffelfinger JD et al. **Risk of hospital-acquired legionnaires' disease in cities using monochloramine versus other water disinfectants.** Infect Control Hosp Epidemiol 2003;24(8):569-74.
- Borella et al. **Control of *Legionella* contamination in a hospital water distribution system by monochloramine**. Am. J. Infection Control 40:279-81, 2011.
- Borella et. Al. **Monochloramine and chlorine dioxide for controlling *Legionella pneumophila* contamination: biocide levels and disinfection by-products (DBPs) formation in hospital water networks**. J of Water Health, 2013 11(4):738-47

La sanificazione con clorammine

✓Dal 2009 è installato un apparecchio che distribuisce in modo continuo monoclorammina su una rete di distribuzione dell'acqua calda

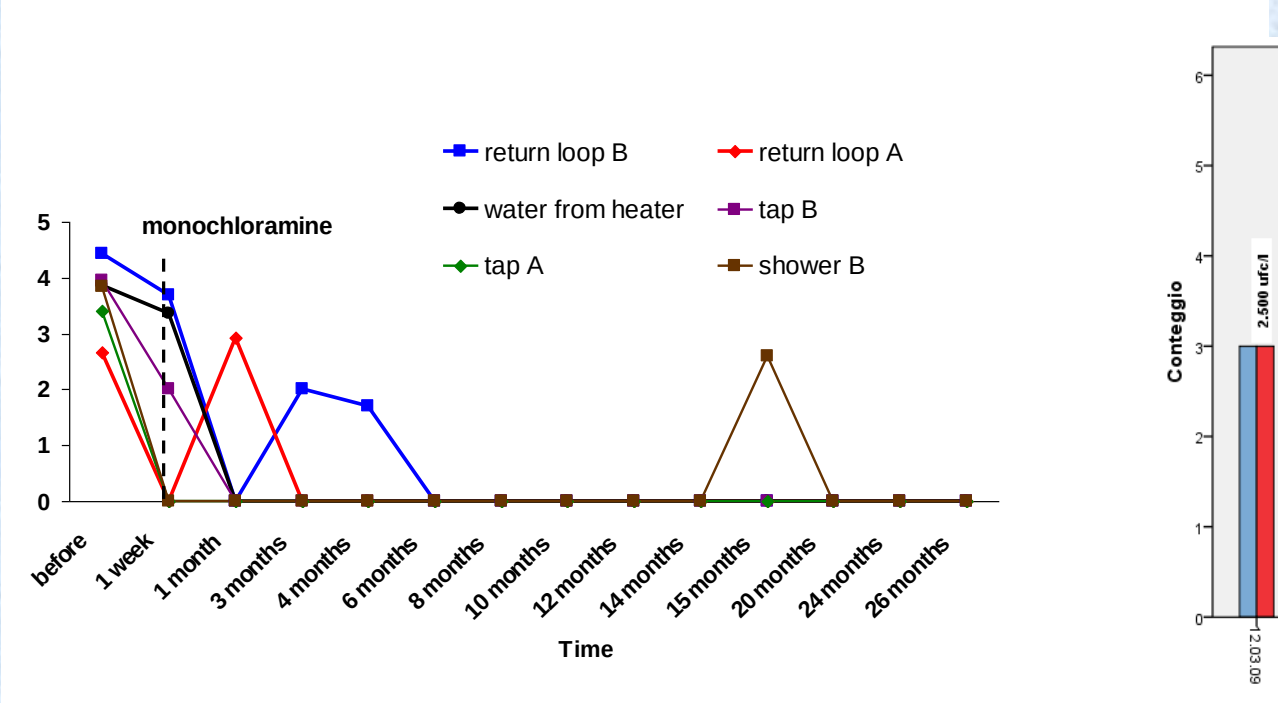
✓La monoclorammina è prodotta *in situ* a partire da una soluzione di cloro stabilizzato e da un precursore dell'ammoniaca in soluzione minimizzando la eventuale formazione di ammonio e altri sottoprodotti della clorazione..

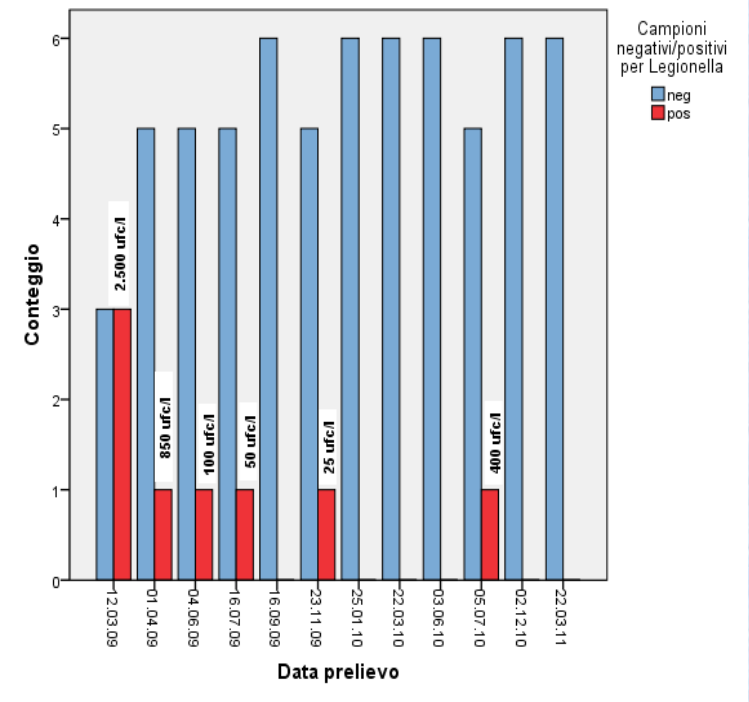
✓ A intervalli regolari sono stati raccolti campioni di acqua per valutare la concentrazione del disinfettante, la presenza di *Legionella*, usando metodi colturali standardizzati secondo le norme ISO.

✓Nel secondo anno è stata valutata la formazione di sottoprodotti della disinfezione nelle sottocentrali dotate di impianti in continuo (monoclorammina e biossido di cloro) e in una sottocentrale non trattata per confronto.

✓Studi di corrosione delle tubazioni ancora in corso

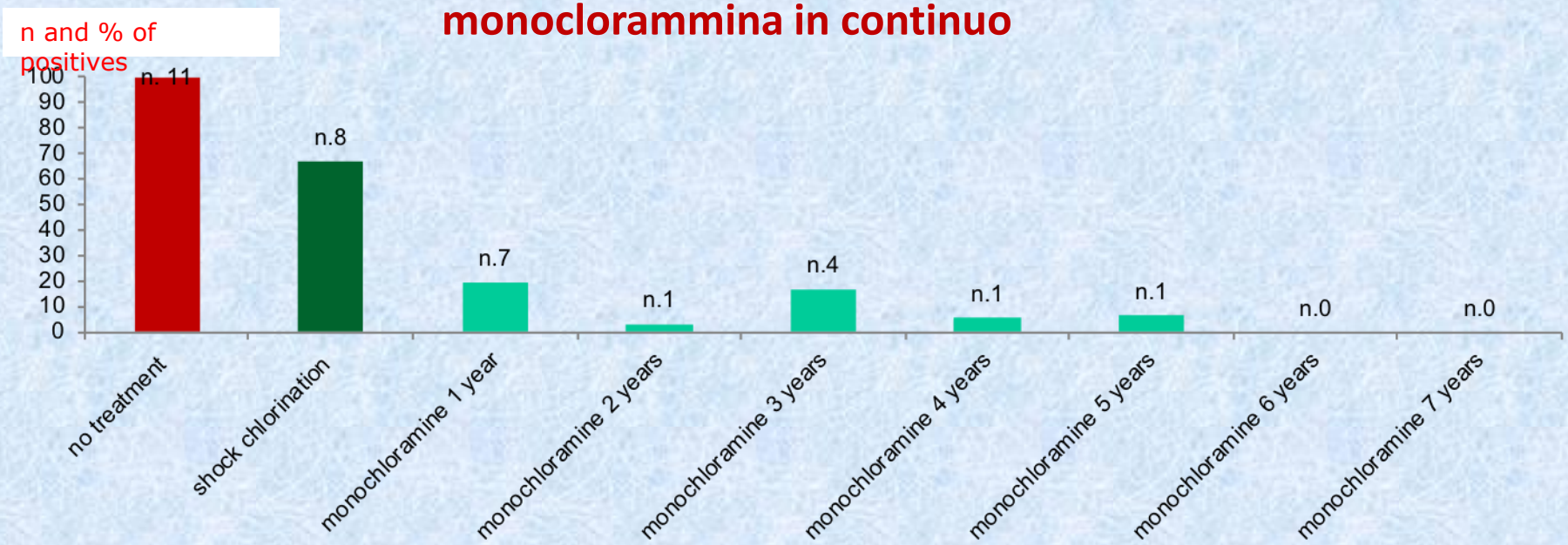
Andamento della contaminazione da *L. pneumophila* nel tempo nella sottocentrale trattata con monoclorammina





Marchesi I, Monochloramine and chlorine dioxide for controlling *Legionella pneumophila* contamination: biocide levels and disinfection by-products (DBPs) formation in hospital water networks. J of Water Health, 2013

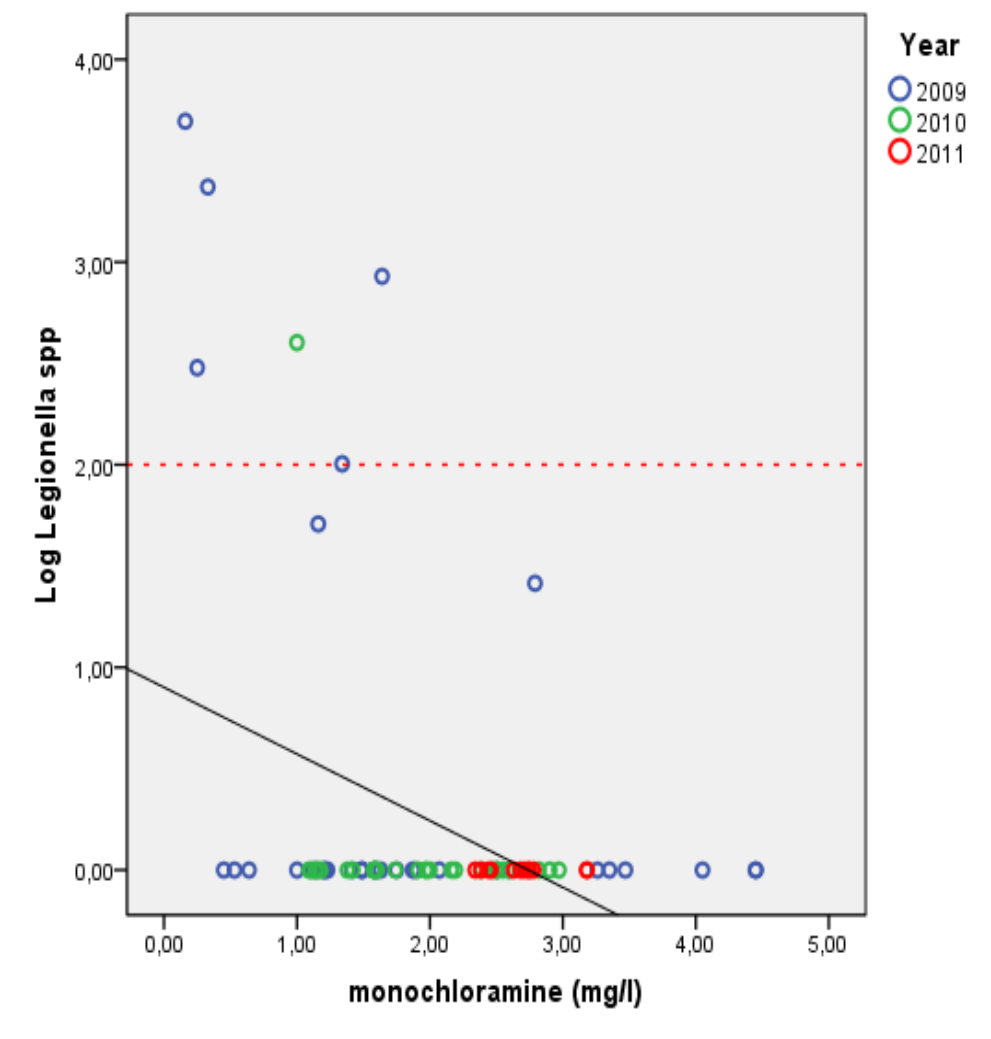
Legionella spp prima e dopo sette anni di utilizzo di monoclorammina in continuo



Treatment	1-100 CFU/l	101-1000 CFU/l	1001-10000 CFU/l	>10000 CFU/l
	n. of positives			
no treatment	0	**1**	0	**10**
shock chlorination	**2**	**1**	**4**	**1**
monochloramine 1 year	**3**	**2**	**2**	0
monochloramine 2 years	**1**	0	0	0
monochloramine 3 years	**1**	**2**	**1**	0
monochloramine 4 years	0	0	0	**1**
monochloramine 5 years	0	0	**1**	0

Legionella è stata isolata solo occasionalmente
In un solo campione è stata evidenziata la presenza di *Legionella* a concentrazione $>10^4$ ufc/l

Controllo della contaminazione da *Legionella* in rapporto alla concentrazione di monoclorammina ai terminali



r = - 0.543, p<0.001, n=78

2 mg/l= livelli <100 CFU/l
3 mg/l= contaminazione <25 CFU/l

Nessuna variazione nei livelli di nitriti e nitrati è stata osservata durante lo studio.

Concentrazione media nitriti: 0,01 mg/l, range 0 – 0,07 mg/l.

Int. J. Environ. Res. Public Health **2018**, *15*, 1594; doi:10.3390/ijerph15081594

Preventing Healthcare-Associated Legionellosis: Results after 3 Years of Continuous Disinfection of Hot Water with Monochloramine and an Effective Water Safety Plan

Maria Anna Coniglio [1,2,*], Margherita Ferrante [2] and Mohamed H. Yassin [3]

Table 2. *Legionella pneumophila* sg5 contamination of the drinking and hot water distribution systems (WDS) before and after the start of continuous disinfection with monochloramine (2–3 mg/L).

Water Distribution System	Positive > 10^3 cfu/L N (%)	
	Before	After
Cold water	0/8 (0%)	0/8 (0%)
Hot water		
Taps	221/221 (100%)	0/221 (0%)
Showers	220/220 (100%)	0/220 (0%)
Storage tanks	32/32 (100%)	0/32 (0%)

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

N - nitrosammine **limite 0,10 µg/l**

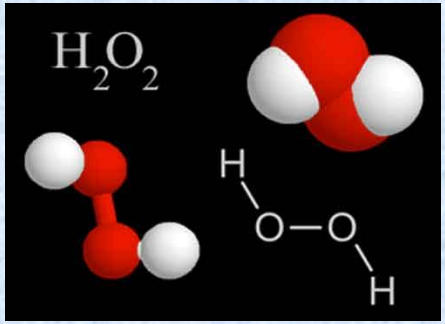
(WHO Guidelines for Drinking-water Quality, 2011)

	N-nitrosammine (µg/l)	rete trattata con monoclorammina	rete non trattata	acqua fredda in ingresso
T1	NDPA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDBA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDEA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDMA	0,04	<0,04	<0,04
	NMOR	0,04	<0,04	<0,04
	NPIP	<0,04	<0,04	<0,04
	NPYR	<0,04	<0,04	<0,04
T2	NDPA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDBA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDEA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDMA	<0,04	0,04	<0,04
	NMOR	<0,04	<0,04	<0,04
	NPIP	<0,04	<0,04	<0,04
	NPYR	<0,04	<0,04	<0,04
T3	NDPA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDBA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDEA	<0,04	<0,04	<0,04
	NDMA	<0,04	<0,04	<0,04
	NMOR	<0,04	<0,04	<0,04
	NPIP	<0,04	<0,04	<0,04
	NPYR	<0,04	<0,04	<0,04

solo 3/63 (4,8%) campioni positivi con concentrazione minima rilevabile

Tutti entro il limite

Perossido di idrogeno (H_2O_2)



- Soluzione acquosa a concentrazioni (m/m) tra il 20% e il 70%
- Liquido incolore, odore leggermente pungente
- Potente ossidante: azione dovuta alla produzione di O_2 libero e del radicale idrossilico libero capace di ossidare il DNA e altri componenti cellulari essenziali dei microrganismi con un'azione
  - ❑ battericida (Seymour S. Block, 1991),
  - ❑ virucida (Mentel R and Schmidt J, 1973; Tuladhar et al, 2012),
  - ❑ sporicida (Curran H et al, 1940; Otter JA and French GL, 2009),
  - ❑ fungicida (Fitzpatrick MS et al, 1995; Szymańska J, 2006)
  - ❑ antiprotozoaria (Kilvington S. et al,1991; Hughes R and Kilvington S, 2001)
- Prodotto versatile, utilizzato come decolorante, sbiancante, disinfettante in molti campi: medico-farmaceutico, nei riuniti dentistici, in zootecnia, nell' industria agroalimentare

• UNI EN 902:2002 (Prodotti chimici usati per il trattamento di acqua destinate al consumo umano. Perossido di idrogeno) è il recepimento della norma europea EN 902:1999

• Si applica al perossido di idrogeno usato per il trattamento di potabilizzazione dell'acqua destinata al consumo umano, ne descrive le caratteristiche, ne specifica i requisiti ed i corrispondenti metodi di prova.

Utilizzo

Funzione

Le sue funzioni nel trattamento delle acque sono ossidante per l'eliminazione delle impurezze ossidabili e disinfettante. Per questi scopi il perossido di idrogeno può essere impiegato da solo o congiuntamente ad altri sistemi (per esempio ozono, luce ultravioletta, o qualsiasi sistema attivante), quale generatore di radicali idroperossidici.

Forma nella quale è utilizzato

È utilizzato in soluzione acquosa.

Dose di trattamento

La dose di trattamento può arrivare fino a 17 mg/l di H_2O_2 (espressa come perossido di idrogeno al 100%), a seconda della qualità dell'acqua grezza.

Mezzi di applicazione

È applicato utilizzando una pompa dosatrice.

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

VANTAGGI

- Prodotto ecologico completamente biodegradabile, convertendosi in acqua e ossigeno
- Agisce sul biofilm provocandone il distacco

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$$

- Maneggevole; i trattamenti shock possono essere effettuati durante il giorno, segnalando che l'acqua non è potabile ma l'uso igienico non è vietato;

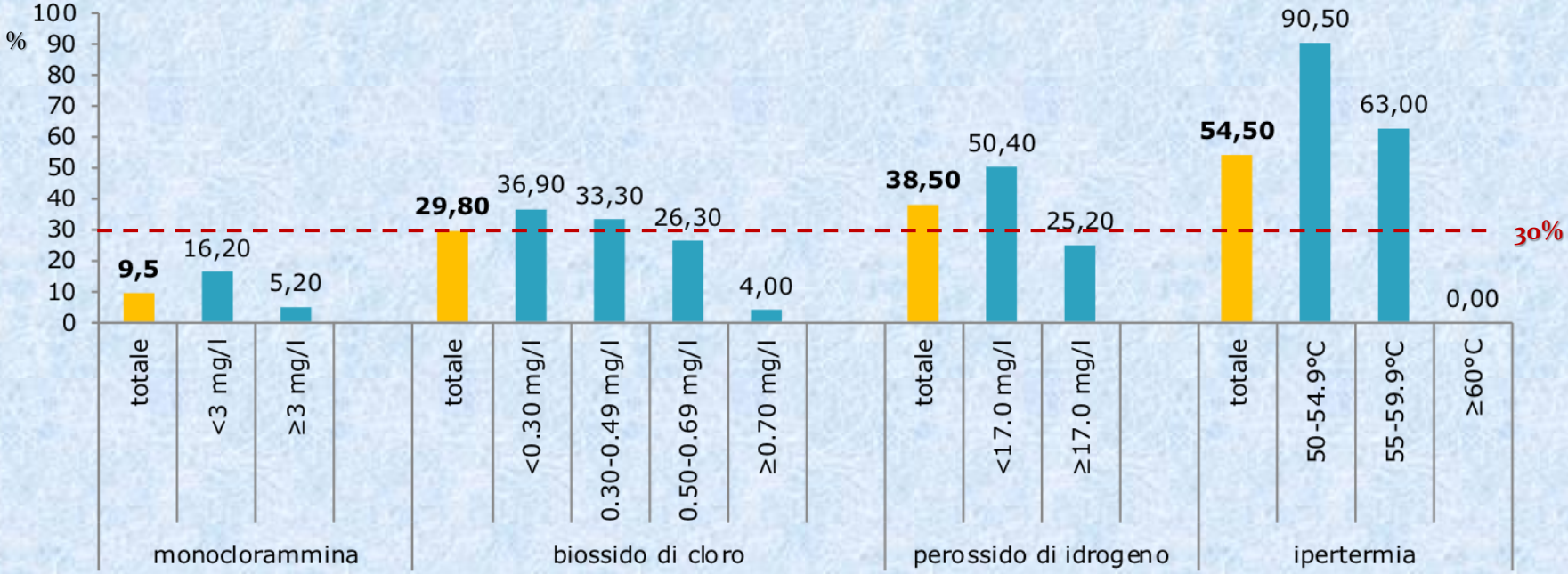
SVANTAGGI

- Deve essere stabilizzato per evitarne la rapida decomposizione
- Come tutti i sistemi in continuo, richiede un attento controllo del funzionamento dell'impianto per mantenere costante e continuo il dosaggio del prodotto

Confronto con cloro e derivati

- Non porta alla formazione di sottoprodotti pericolosi (DBPs)
- Non conferisce odore o sapore sgradevole all'acqua anche ad alte concentrazioni
- Non è influenzato dalla durezza dell'acqua (il cloro può formare sali insolubili in acque dure)

Percentuale di campioni positivi a Legionella spp nelle rete idriche trattate con diversi disinfettanti



La monoclorammina aveva la più bassa percentuale di positivi, seguita da biossido di cloro, perossido di idrogeno e ipertermia ($\chi 2 = 104,385$, $p < 0,001$).

Monoclorammina → indipendentemente dalla concentrazione non si supera mai la soglia del 30% di positività

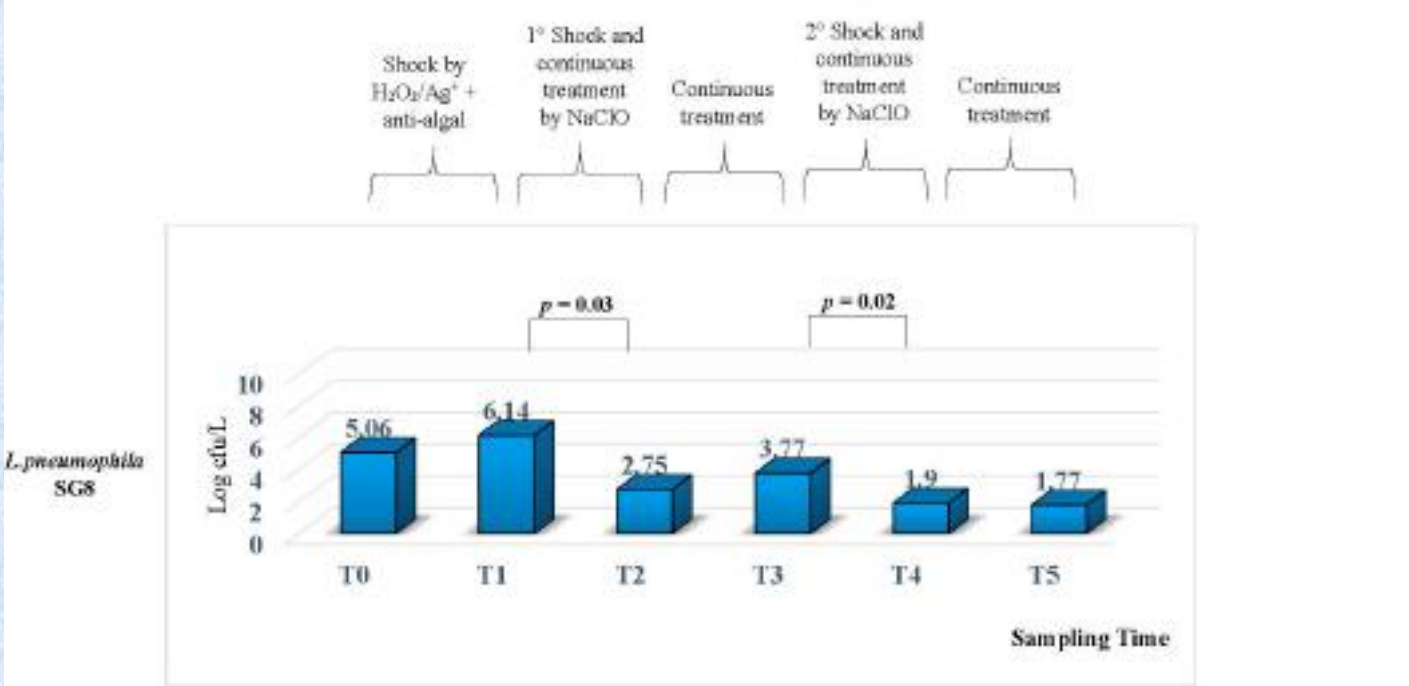
Biossido di cloro e perossido di idrogeno → la % di positivi scende sotto il 30% con biocida ≥ 0,50 mg/l e ≥ 17 mg/l rispettivamente

Ipertermia → T ≥ 60°C è necessaria per non avere positivi

Int. J. Environ. Res. Public Health **2017**, *14*, 1125; doi:10.3390/ijerph14101125

Industrial Cooling Tower Disinfection Treatment to Prevent *Legionella* spp.

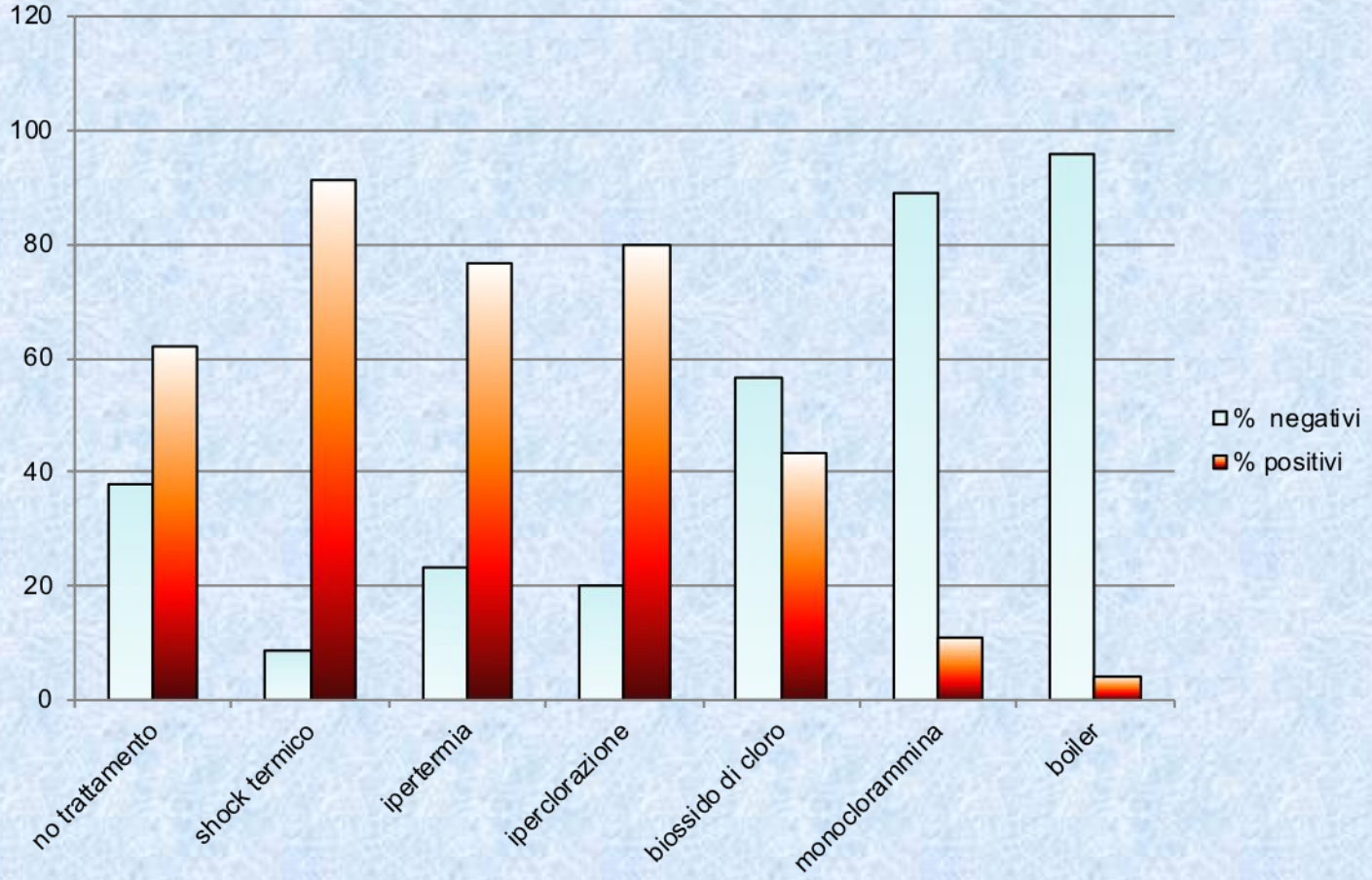
Matteo Iervolino, Benedetta Mancini and Sandra Cristino *



The results obtained from T1 suggested that a replacement of the H_2O_2/Ag^+ device would be required as well as the introduction of a second disinfection treatment based on NaClO at a shock concentration of 50 mg/L for two hours. After the shock treatment, the CTS circuit was washed and continuously treated with NaClO at a concentration of 2–3 mg/L.

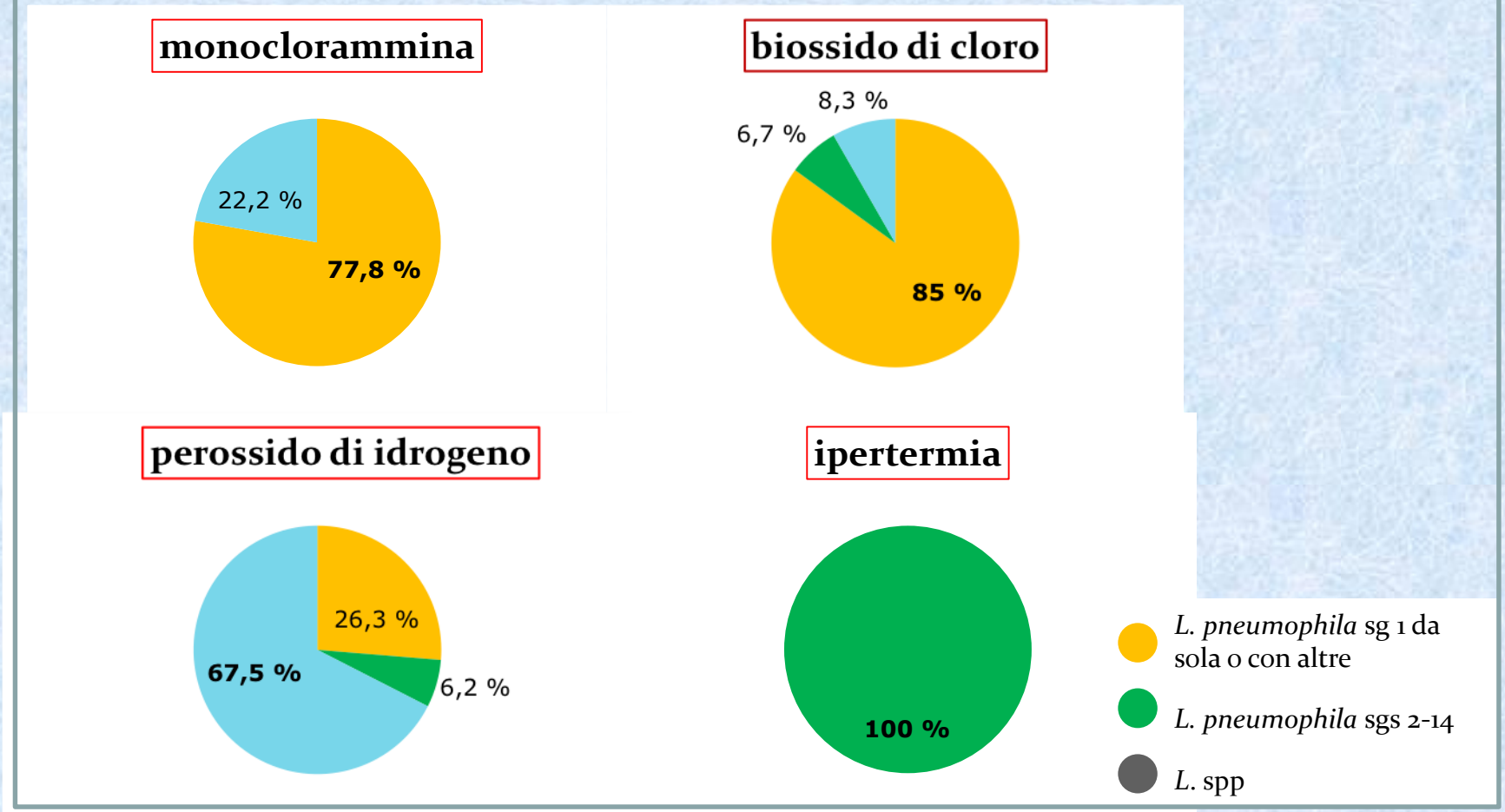
UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Percentuale di campioni positivi per *Legionella* in relazione ai trattamenti applicati



I campioni prelevati **prima** di qualsiasi intervento erano principalmente contaminati da ***L. pneumophila*** **sierogruppo 2-14**

Legionella specie e sierogruppi in relazione al trattamento



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Ricerca di *Legionella* spp con i metodi molecolari

88 **campioni di acqua NEGATIVI ALLA CULTURA**,
sono stati analizzati con metodi molecolari

	n (%) positivi	
	qPCR	**EMA-qPCR**
monoclorammina	11/22 (50,0)	0/22 (0,0)
biossido di cloro	9/22 (40,9)	0/22 (0,0)
perossido di idrogeno	10/22 (45,4)	0/22 (0,0)
ipertermia	21/22 (95,4)	12/22 (54,5)
	χ^2=15,246; P < 0,005	χ^2=27,957; P < 0,001

biocidi → **circa 50% di positivi con qPCR**
chimici → **nessun positivo con EMA-qPCR**

→ solo cellule morte

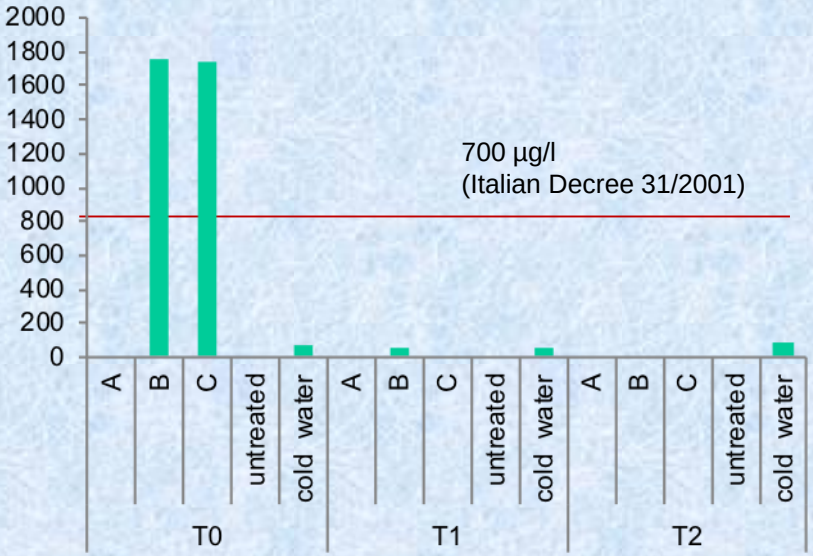
calore → **quasi totalità dei positivi con qPCR**
→ **50% di positivi con EMA-qPCR**

→ cellule morte + cellule VBNC

Mansi A , Legionella spp. survival after different disinfection procedures Comparison between conventional culture, qPCR and EMA–qPCR. Microchemical Journal 2014

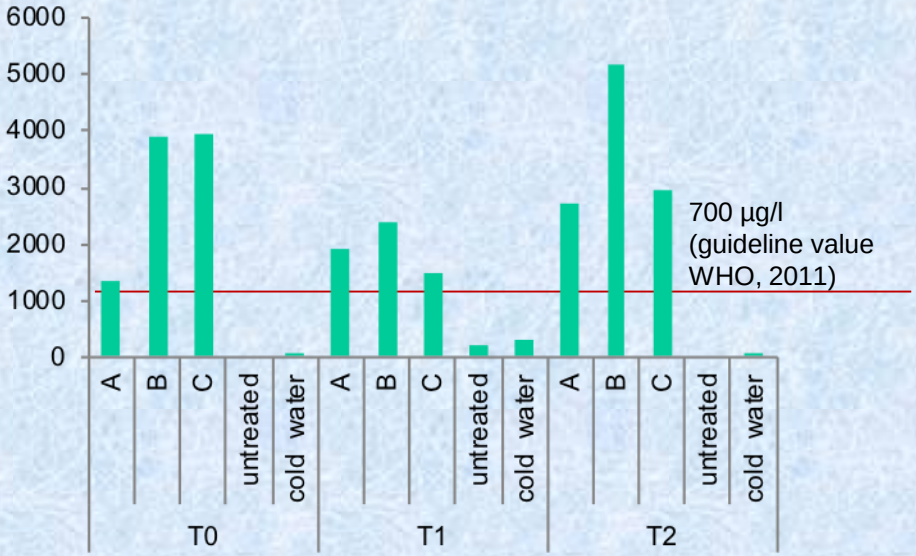
Sottoprodotti della disinfezione con cloro

Cloriti (µg/l)



Cloriti >700 µg/l osservati nelle sottocentrali B e C solo con il trattamento con biossido di cloro

Clorati (µg/l)



Clorati >700 µg/l osservati in tutte le sottocentrali trattate con biossido di cloro o monoclorammina

Azioni correttive

I clorati sono scesi sotto 700 µg/l pulendo le taniche e sostituendo il reagente a base di cloro utilizzato per la produzione di monoclorammina

Legenda
T_0 = prima del trattamento
T_1 = dopo 15 gg
T_2 dopo un mese

Morfologia della corrosione

Coupons exposed to waters treated with hydrogen peroxide and chlorine dioxide: prevalence of localized corrosion and creation of small holes (**pitting corrosion**)

Perossido di idrogeno

Biossido di cloro

Coupons untreated and exposed to monochloramine: prevalence of **general corrosion** that occurs uniformly over the whole surface

Nessun trattamento

Monoclorammina

Marchesi I, et al Control of *Legionella* contamination and risk of corrosion following various disinfecting procedures in hospital water networks Appl Environ Microbiol. 2016

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Considerazioni

La nostra esperienza conferma l'efficacia della disinfezione chimica in continuo nel controllo della contaminazione da *Legionella* spp in ambito ospedaliero, anche se questi sistemi devono essere attentamente monitorati perché nessun biocida è in grado di eradicare le legionelle dai sistemi idrici (Casini et al., 2014; Lin et al., 2011).

Biossido di cloro: i livelli necessari per controllare la contaminazione possono causare formazione di cloriti.

Monoclorammina: ha dato i migliori risultati nella ridurre la contaminazione, senza portare alla formazione di sottoprodotti tossici come le N – nitrosammine.

Perossido di idrogeno: potrebbe essere una promettente alternativa, ma sono necessari studi ulteriori sul campo per confermare la sua efficacia.

Ipertermia: sconsigliata per la presenza di legionelle vitali anche a T≥55°C

Borella P.Hospital-acquired Legionella infections: an update on the procedures for controlling environmental contamination. Ann Ig. 2016

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Corrosive effect on various pipe materials following different treatments for *Legionella* spp control in hospital water systems

Dr. Isabella Marchesi

PhD in Public Health

Research group: Stefania Paduano, Roberto Giovanardi, Massimiliano Bononi, Luca Sircana, Elena Vecchi, Annalisa Bargellini and Paola Borella

The 9th International Conference on Legionella

Rome, 26th-30th September 2017

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Risultati – coupons di acciaio zincato

Analisi con stereo microscopio

Treatment	3 months	6 months
Monochloramine		
Chlorine dioxide		
Hydrogen peroxide		

Not treated coupons	
3 months	zinc coating intact
6 months	zinc coating slightly damaged

- Questi coupons presentavano una corrosione severa già dopo 3 mesi con formazione di uno spesso strato di prodotti a base di ferro;

- I biocidi a base di cloro avevano rimosso completamente lo strato di zinco, mentre I campioni esposti all'azione del perossido di idrogeno presentavano ancora regioni con presenza di zinco

Galvanized steel coupons after 6 months of exposure

Risultati – coupons di acciaio inox

Treatment	Time (months)	Initial weight (g)	Final weight (g)	Thickness loss (mm)
No treatment	3	57.959	57.959	0.0000
Monochloramine	3	56.9618	56.9614	0.0000
Chlorine dioxide	3	55.5769	55.5767	0.0000
Hydrogen peroxide	3	55.2110	55.2109	0.0000
No treatment	6	57.2757	57.2733	0.0001
Monochloramine	6	55.9273	55.9246	0.0002
Chlorine dioxide	6	56.8039	56.8015	0.0001
Hydrogen peroxide	6	56.7246	56.7225	0.0001

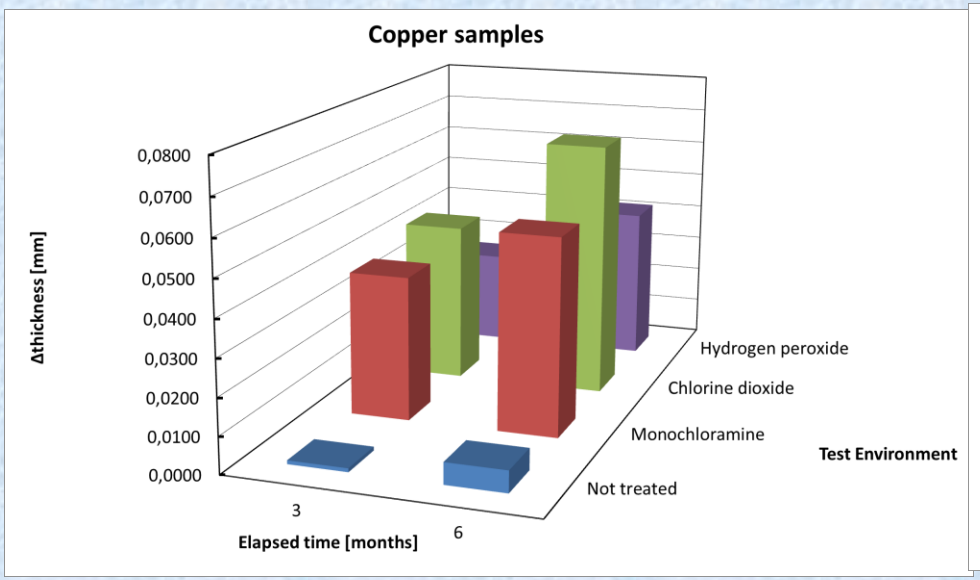
Coupon vergine

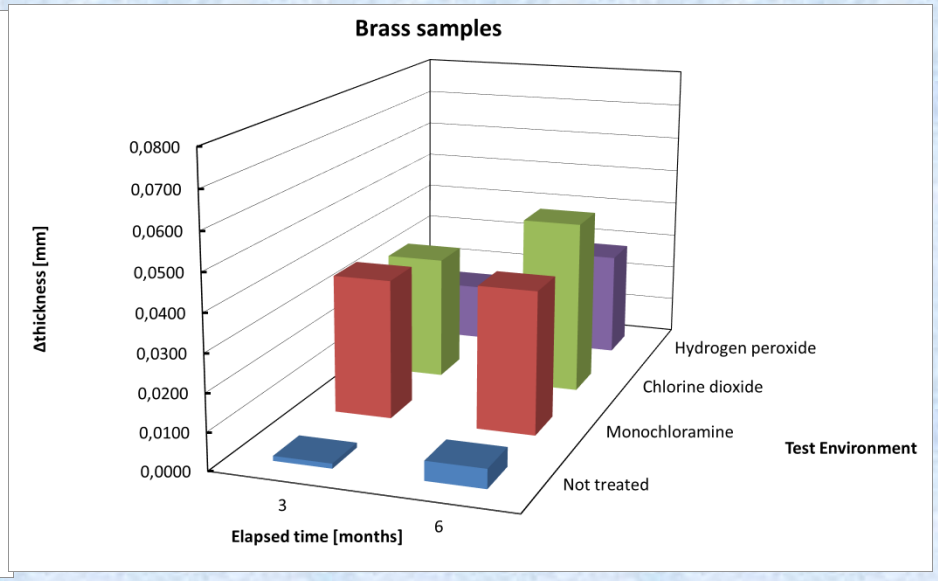
6 mesi di esposizione

Nessun effetto corrosivo è stato osservato dopo 6 mesi di esposizione ai diversi biocidi (perdita irrilevante di spessore)

Risultati – coupons di rame e ottone

Perdita di spessore





- ✓ Dopo 3 mesi, sia i coupons di rame che di ottone mostrano perdita di spessore in tutte le reti.
- ✓ Dopo 6 mesi la corrosione era rallentata e nel caso della monoclorammina rimaneva costante nei coupons di ottone

In sostanza la corrosione iniziale aveva formato un film (fenomeno di passivazione) che potrebbe proteggere dalla corrosione successiva

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

ENVIRONMENTAL Science & Technology

ACS Publications
© 2013 American Chemical Society
Critical Review

pubs.acs.org/est

Probiotic Approach to Pathogen Control in Premise Plumbing Systems? A Review

Hong Wang,[†] Marc A. Edwards,[†] Joseph O. Falkinham, III,[‡] and Amy Pruden[†,*]

[†]Department of Civil and Environmental Engineering, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia 24061, United States

Natural antimicrobial substances to control proliferation of *L. pneumophila*

Authors Berjeaud JM, Loiseau C, Portier E, Depayras S, Rouxel M, Corre MH, Verdon J.

Université de Poitiers, Ecologie et Biologie des Interactions
UMR CNRS 7267 - équipe Microbiologie de l'Eau

ABSTRACT BOOK

The 9th International Conference on
Legionella
Rome, 26th - 30th September 2017

Efficacia e costi dei metodi adottati nell'ospedale

Metodo	Modalità di utilizzo	Efficacia Riduzione % punti positivi	Efficacia Riduzione % punti ≥ 10^4 cfu/L	Costi €/anno/100 punti acqua
Filtri ai terminali	sostituzione mensile	-100%	-100%	16.000
Boiler elettrico uno per stanza	sostituzione ogni 2-5 anni T >58°C	-94.3%	-100%	8.000
Monocloramina in continuo	2-3 ppm ai terminali	-86,3%	-100%	3.650
Biossido di cloro in continuo	0,3 ppm ai terminali	-46.2%	-82.3%	3.063
Iperclorazione shock	mensile per 1-2h 20-50 ppm Cl ai terminali	-3.8%	-83.5%	7.526
Shock termico	mensile per 2 gg >60 °C ai terminali	+30.5%	-17.9%	3.710

Marchesi et al 2010. Effectiveness of different methods to control water *Legionella* contamination: ten-year experience at an Italian university hospital. J. Hosp Inf. 2011.

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Costi in € degli interventi di prevenzione ambientale AOU di Modena (750 posti letto, 40.000 ricoveri l'anno)

Anno	Metodologia	Manutenzione ordinaria	Manutenzioni straordinarie	Microbiologia (n.prelievi)	Totale Costi
2008	Temperatura Biossido di cloro Iperclorazione	14.500	22.000 centrale biossido di cloro	62.500 n.127	99.000
2009	Temperatura Biossido di cloro Monoclorammina	17.000	27.000 centrale biossido di cloro	60.500 n.118	104.500
2010	Temperatura Biossido di cloro Monoclorammina	20.000		56.500 n.244	76.500
2011	Temperatura (shock e mantenimento) Biossido di cloro Monoclorammina	18.000	75.000 Ristrutturazione rete idrica	41.500 n . 225	134.500
2012	Temperatura (shock e mantenimento) Biossido di cloro Monoclorammina	24.000	69.000 2 centrali monoclorammina	47.000 n. 331	140.000
2013	Temperatura Biossido di cloro Monoclorammina	30.000		43.500 n. 295	73.500
2014	Temperatura Biossido di cloro Monoclorammina	31.500		44.000 n.239	75.500

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

Test utilizzati per la diagnosi di legionellosi nell'ospedale (2015)

MATERIALE	METODICA	TOTALI N. % pos Tutti comunitari	COSTI in euro
URINA	Ag EIA	1749 **30 pos 1,7%**	**12.800** **(426 x caso)**
URINA	Ag IMMUNO CROMATOGRAFIA	316 **17 pos 5,4%**	**6.550** **(385 x caso)**
BAL	COLTURALE	270 2 pos **0,74%**	**18.000** **(1.800 x caso)**
ESS.BRONCH.	COLTURALE	11 **1 pos 9%**	
ESPETTORATO	COLTURALE	112 **6 pos 5,3%**	
ALTRO MATERIALE	COLTURALE	9 **1 pos 11,1%**	
SIERO	IgM e IgG EIA	571	**5.600**

Totale 43.000 €
pari a
1.430 € x ogni
caso diagnosticato

Conclusioni

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

✓ Le esperienze proposte evidenziano la **difficoltà a contenere il rischio *Legionella*** nelle strutture ospedaliere dove la contaminazione è presente a livelli elevati nei sistemi di distribuzione dell'acqua sanitaria.

✓ Gli esiti degli interventi hanno rivelato che **nessuno dei metodi adottati è in grado di eradicare *Legionella*** dal sistema idrico.

✓ **Nessuna efficacia hanno l'ipertermia e i metodi di disinfezione spot**:

- Riduzione della contaminazione solo nel breve periodo
- Metodi da consigliare in situazioni di emergenza e in attesa di prendere altri provvedimenti

✓ L'efficacia protettiva è confermata per i metodi in continuo ma varia a seconda della tipologia dell'impianto e delle caratteristiche della struttura

Non esiste un sistema di bonifica utilizzabile in tutte le situazioni, occorre individuare quello più idoneo in base al tipo di contaminazione, alle caratteristiche degli impianti e al rischio espositivo.

Gruppi di Ricerca dell'Università di Modena e Reggio Emilia

Dipartimento di Scienze Metaboliche, Biomediche e Neuroscienze

Prof. Paola Borella

Prof. Annalisa Bargellini

Dr. Stefania Paduano

Dr. Navneet Saini

Dr. Isabella Marchesi

Dipartimento di Ingegneria "Enzo Ferrari"

Prof. Roberto Giovanardi

Dr. Massimiliano Bononi

Policlinico Universitario di Modena

Dr. Luca Sircana

Dr. Sara Scanavini

Daniela Cavani

Dr. Elena Vecchi

Monica Barbieri

Enrico Manfredi