

«La tecnica della PCR nel monitoraggio microbiologico delle acque»

-Parte 2-

NH Milano Congress Centre – Assago (MI) 16 giugno
2026

PCR e microbiologia

Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale", n. 153 del 4 luglio 2025
Spediz. abb. post. - art. 1, comma 1
Legge 27-02-2004, n. 46 - Filiale di Roma

GAZZETTA
DELLA REPUBBLICA ITALIANA
Roma - Venerdì, 4 luglio 2025

PARTE PRIMA
DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DELLA GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - VIA SALARIA, 691 - 00138 ROMA - CE
PIAZZA G. VERDI, 1 - 00186 ROMA

DECRETO LEGISLATIVO 19 giugno 2025, n. 102.

Disposizioni integrative e correttive del decreto legislativo 23 febbraio 2023, n. 18, di attuazione della direttiva (UE) 2020/2184 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2020, concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano.

ALLEGATO III SPECIFICHE PER L'ANALISI DEI PARAMETRI

DECRETO LEGISLATIVO 23 febbraio 2023 , n. 18

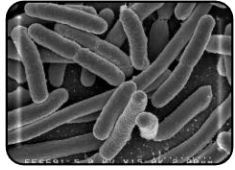
«Parte A

Parametri microbiologici per i quali sono specificati i metodi di analisi

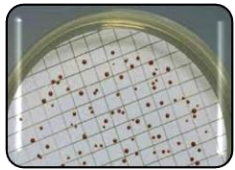
Per ciascuno dei parametri microbiologici elencati nelle Parti A, C e D, i metodi d'analisi per i parametri microbiologici sono:

- a) *Escherichia coli* e batteri coliformi (UNI EN ISO 9308-1 o UNI EN ISO 9308-2);
- b) Enterococchi intestinali (UNI EN ISO 7899-2);
- c) conteggio delle colonie o conteggio degli eterotrofi su piastra a 22°C (UNI EN ISO 6222);
- d) *Clostridium perfringens* spore comprese (UNI EN ISO 14189);
- e) *Legionella* (UNI EN ISO 11731 conforme al valore stabilito nell'allegato I, Parte D)

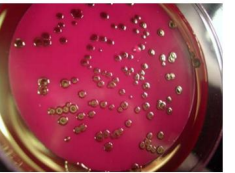
sia per il controllo di verifica basato sul rischio, sia per integrare i metodi colturali, possono essere utilizzati in aggiunta altri metodi, quali metodi colturali rapidi, metodi non colturali, metodi molecolari, tra cui qPCR, eseguita in accordo alla ISO/TS 12869



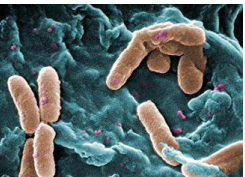
Escherichia coli (24h)



Enterococchi (48h)



Batteri Coliformi (24h)



Pseudomonas aeruginosa (48h)



Legionella (10/12 gg)

L' **Escherichia coli** vive nella parte inferiore dell'intestino di animali a sangue caldo (uccelli e mammiferi, incluso l'uomo). È necessario per la digestione corretta del cibo. La sua presenza nei corpi idrici è indice di contaminazione fecale, insieme con gli enterococchi.

Gli **Enterococchi** sono un Genere di batteri largamente presenti in natura e, costantemente, nel materiale fecale dei vertebrati, uomo compreso.

La presenza di **batteri indicatori** rivela una possibile contaminazione fecale dell'acqua potabile. Se in un'acqua potabile vengono rilevati questi microrganismi, si presume la presenza anche di microrganismi patogeni (Salmonelle, virus, Escherichia Coli, Enterococchi, ecc.).

Un **numero elevato di Pseudomonas** può indicare lo sviluppo di uno strato batterico sulle superfici all'interno di un sistema di distribuzione. È un batterio ubiquitario considerato un patogeno opportunisto nell'uomo

PCR e microbiologia

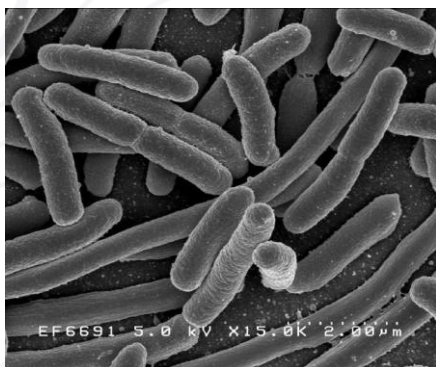
Definiti come **Parametro indicatore** nel D. Lgs. 18/2023

I coliformi sono un gruppo di batteri appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*

Il gruppo comprende specie appartenenti a diversi generi, tra cui Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella e alcune specie di Serratia.



I parametri microbiologici, in particolare i cosiddetti “**batteri indicatori**”, assumono grande importanza nella determinazione della qualità delle acque e per definirne la potabilità. La presenza di batteri indicatori rivela una **possibile contaminazione fecale** dell’acqua potabile. Se in un’acqua potabile vengono rilevati questi microrganismi, si presume la presenza anche di microrganismi patogeni (Salmonelle, virus, Escherichia Coli, Enterococchi, ecc.).



I **coliformi**, essendo presenti nelle feci umane in elevate concentrazioni, sono stati da molto tempo considerati **organismi indicatori d'inquinamento** ed hanno assunto un importante ruolo come marcatori microbiologici per definire la qualità degli ambienti idrici, sia superficiali sia profondi.

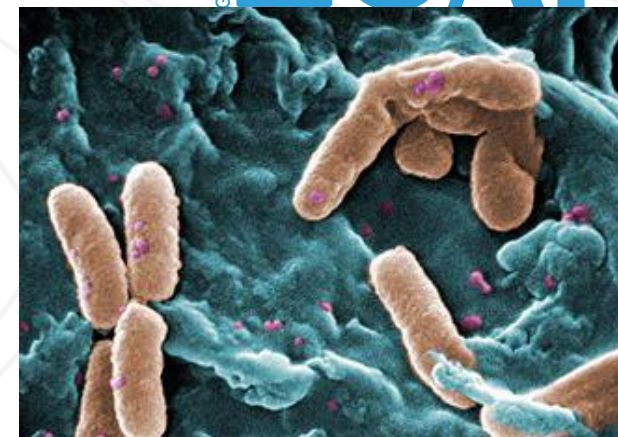
PCR e microbiologia

Pseudomonas aeruginosa è un batterio ubiquitario considerato un patogeno opportunista nell'uomo.

I batteri del genere *Pseudomonas* (a cui appartiene *Pseudomonas aeruginosa*) possono essere trovati naturalmente nel terreno e all'interno di fonti di acqua potabile come le falde acquifere.

Sono infatti dei **microrganismi ubiquitari** (suolo, acqua, ambiente ospedaliero). È in grado di installarsi nei serbatoi, nei rompigitto dei rubinetti e nelle apparecchiature ad uso domestico per il trattamento di acque potabili, raggiungendo cariche batteriche elevate

- utilizza materiale organico come fonte di carbonio;
- può crescere in un intervallo di temperatura tra 4 e 42 °C;
- è resistente a molti disinfettanti e antibiotici;
- costituisce il 6% della flora normale in soggetti sani, il 38% in pazienti ospedalizzati e il 78% in pazienti immunocompromessi



Un numero elevato di *Pseudomonas* può indicare lo sviluppo di uno strato batterico sulle superfici all'interno di un sistema di distribuzione. Tali aree superficiali possono includere dispositivi per il trattamento dell'acqua domestica che utilizzano filtri o membrane a carbone.

PCR e microbiologia

SITUAZIONE NORMATIVA - EUROPA



Direttiva 98/83/CE

Nessun Limite né riferimento alla Legionella

Direttiva (UE) 2020/2184 del Parlamento Europeo e del consiglio del 16 dicembre 2020

Monitoraggio del parametro della Legionella per la valutazione del rischio dei sistemi di distribuzione domestici.

Limite **Legionella** <1000 CFU/l

In caso di infezioni e focolai va confermata la fonte dell'infezione e identificata la specie di Legionella.

SITUAZIONE NORMATIVA - ITALIA



Direttiva 98/83/CE

Nessun Limite né riferimento alla Legionella

Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi (Conferenza Stato-Regioni nella seduta del 7 maggio 2015)

Tabella 6

Linee guida, in cui vengono definite, sulla base dei risultati ottenuti le azioni da intraprendere – limite <100 UFC/l

D. Lgs 18/2023 e D.Lgs 102/2025

Limite **Legionella** <1000 UFC/l

Tipi di intervento indicati per concentrazione di Legionella(UFC/L) negli impianti idrici a rischio legionellosi esercitati in tutti i siti

Legionella (UFC/L)	Intervento richiesto
Sino a 100	Verificare che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate.
Tra 101 e 1.000	In assenza di casi: Verificare che la struttura abbia effettuato una valutazione del rischio e che le misure di controllo elencate nelle presenti linee guida siano correttamente applicate. In presenza di casi: Verificare che siano in atto le misure di controllo elencate nelle presenti linee guida, sottoporre a revisione la specifica valutazione del rischio e effettuare una <u>disinfezione dell'impianto</u>.
Tra 1001 e 10.000	In assenza di casi: -Se meno del 20% dei campioni prelevati risulta positivo l'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi, dopo aver verificato che le correnti pratiche di controllo del rischio siano correttamente applicate. Se il risultato viene confermato, si deve effettuare una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato, dopo l'applicazione delle misure correttive. -Se oltre il 20% dei campioni prelevati risultano positivi, è necessaria la disinfezione dell'impianto e deve essere effettuata una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi. In presenza di casi: A prescindere dal numero di campioni positivi, è necessario effettuare la <u>disinfezione dell'impianto</u> e una revisione della valutazione del rischio, per identificare le necessarie ulteriori misure correttive. L'impianto idrico deve essere ricampionato dopo la disinfezione, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi
Superiore a 10.000	Sia in presenza che in assenza di casi, l'impianto deve essere sottoposto a una <u>disinfezione (sostituendo i terminali positivi)</u> e a una revisione della valutazione del rischio. L'impianto idrico deve essere ricampionato, almeno dagli stessi erogatori risultati positivi



PCR e microbiologia



La presenza di Legionella è causata dalla rete di distribuzione?



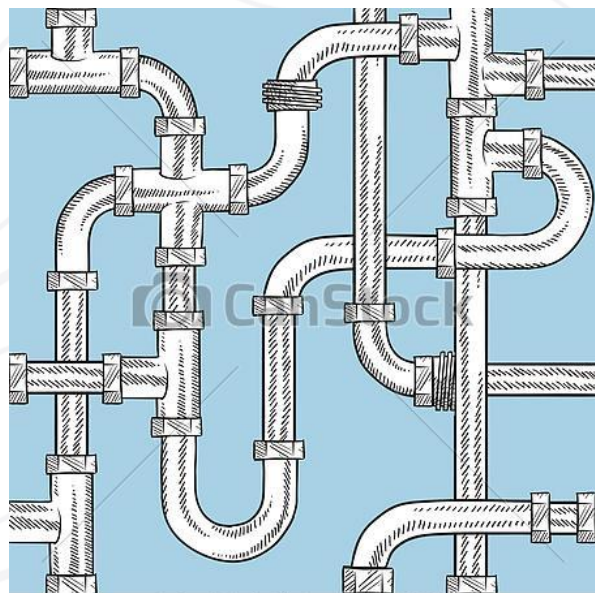
DIRETTIVA (UE) 2020/2184 – D. Lgs 18/23

«i batteri della LEGIONELLA causano il maggiore onere sotto il profilo sanitario. Essi si trasmettono attraverso i sistemi di acqua calda mediante inalazione»

.....«si tratta di un rischio chiaramente collegato al sistema di distribuzione domestico»

*«una **valutazione dei rischi** della distribuzione domestica sembra più indicata per affrontare questo problema. Inoltre, nella valutazione dei rischi della distribuzione domestica dovrebbero essere considerati anche i potenziali rischi derivanti da prodotti e materiali che entrano in contatto con le acque destinate al consumo umano»*

PCR e microbiologia



© Can Stock Photo - csp10380842

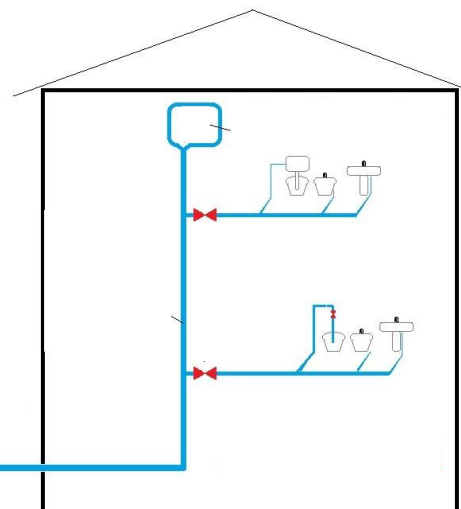
Acquedotto

**Contatore
Punto di consegna**

**Impianto di
distribuzione
domestico**

**Responsabilità titolare e
responsabile dell'edificio
(es. Amministratori
condominiali, comuni etc.)**

Responsabilità: GESTORE SII



Art. 5 comma 2.

Per le acque fornite attraverso la rete di distribuzione del gestore idro-potabile, si considera che quest'ultimo abbia adempiuto agli obblighi di cui al presente decreto quando i valori di parametro sono rispettati nel punto di consegna quale definito all'articolo 2, comma 1, lettera cc.

Per gli edifici e le strutture in cui l'acqua è fornita al pubblico, il titolare ed il responsabile dell'edificio o della struttura devono assicurare che i valori di parametro fissati nell'allegato I, rispettati nel punto di consegna, siano mantenuti nel punto in cui l'acqua fuoriesce.



PCR e Legionella



La legionella è un genere di batteri gram-negativi aerobi.

La legionella deve il nome all'epidemia acuta che nell'estate del 1976 colpì un gruppo di veterani della American Legion riuniti in un albergo di Philadelphia causando 34 morti su 221 contagiati. Il batterio responsabile fu isolato nel 1977 nell'impianto di condizionamento dell'hotel dove avevamo soggiornato i veterani.

Attualmente si conoscono 72 specie di Legionella, a loro volta suddivise in oltre 70 sierogruppi (www.bacterio.net), ma non tutte sono state associate a casi di malattia nell'uomo.

Solo 20 di queste sono state associate a malattia nell'uomo.

Legionella pneumophila è la specie più frequentemente rilevata nei casi diagnosticati in Italia e nel resto del mondo. (Fields et al., 2002)

Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi, 2015

Species	No. of serogroups	No. associated with disease
1. <i>L. pneumophila</i>	15	15
2. <i>L. bozemanii</i>	2	2
3. <i>L. dumoffii</i>	1	1
4. <i>L. micdadei</i>	1	1
5. <i>L. longbeachae</i>	2	2
6. <i>L. jordanis</i>	1	1
7. <i>L. wadsworthii</i>	1	1
8. <i>L. hackeliae</i>	2	2
9. <i>L. feeleyi</i>	2	2
10. <i>L. maceachernii</i>	1	1
11. <i>L. birminghamensis</i>	1	1
12. <i>L. cincinnatiensis</i>	1	1
13. <i>L. gormanii</i>	1	1
14. <i>L. sainthelensi</i>	2	2
15. <i>L. tucsonensis</i>	1	1
16. <i>L. anisa</i>	1	1
17. <i>L. lansingensis</i>	1	1
18. <i>L. erythra</i>	2	1 ^b
19. <i>L. parisiensis</i>	1	1
20. <i>L. oakridgensis</i>	1	1
21. <i>L. spiritensis</i>	1	0
22. <i>L. jamestowniensis</i>	1	0
23. <i>L. santacrucis</i>	1	0
24. <i>L. cherrii</i>	1	0
25. <i>L. steigerwaltii</i>	1	0

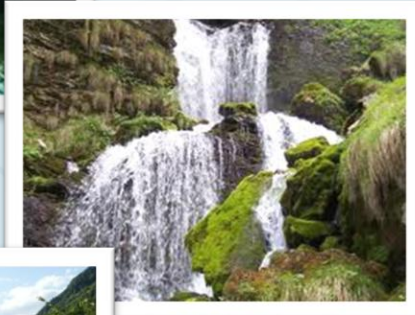
Fields BS et al. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clin Microbiol Rev. 2002 Jul;15(3):506-26.



AMBIENTI ACQUATICI NATURALI

Il batterio legionella è presente negli ambienti acquatici naturali, generalmente a basse concentrazioni, non sufficienti a causare alcuna malattia

- ☐ Fiumi
- ☐ Laghi
- ☐ Stagni
- ☐ Sorgenti
- ☐ Acque termali
- ☐ Suolo umido



AMBIENTI IDRICI ARTIFICIALI

Tramite le reti di distribuzione dell'acqua potabile raggiunge gli impianti idrici degli edifici, moltiplicandosi soprattutto in grandi strutture con sistemi centralizzati di distribuzione dell'acqua calda (ospedali, case di riposo, alberghi, centri sportivi e termali, condomini, ecc.)



Gli ambienti idrici artificiali agiscono da amplificatori e disseminatori

PCR e Legionella

Fattori che favoriscono la moltiplicazione e diffusione del batterio negli ambienti idrici artificiali

☐ **Temperatura di crescita:**

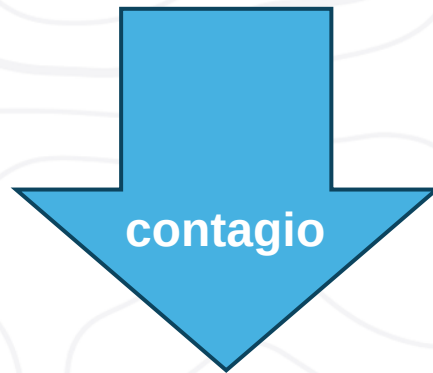
Legionella si moltiplica tra 25°C e 45°C con temperatura ottimale di 35°C e sopravvive tra 5,7°C e 63°C

☐ **pH di crescita**

Il pH ottimale di crescita è leggermente acido (6,85- 6,95), ma è tollerato un pH sino a 5,5

☐ **Respirazione**

Sono batteri aerobi, ma la loro crescita in terreni artificiali è favorita dalla microaerofilia (presenza del 2,5% di CO₂)

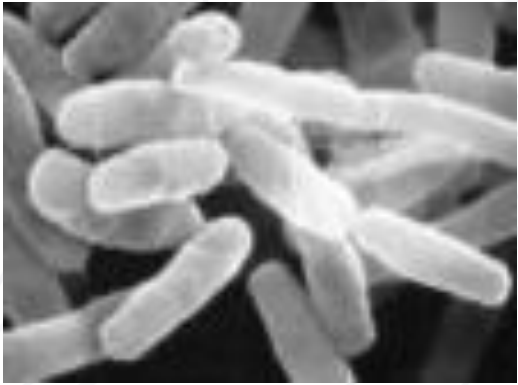


via respiratoria mediante inalazione, aspirazione di aerosol contenente Legionella, oppure di particelle derivate per essiccamento.

Caratteristiche dell'acqua:

- ☐ temperatura compresa tra 25 e 45°C
- ☐ presenza di alghe ed amebe
- ☐ presenza di sostanze biodegradabili
- ☐ concentrazione di alcuni elementi in traccia (Fe, Zn, Mn...)

PCR e Legionella

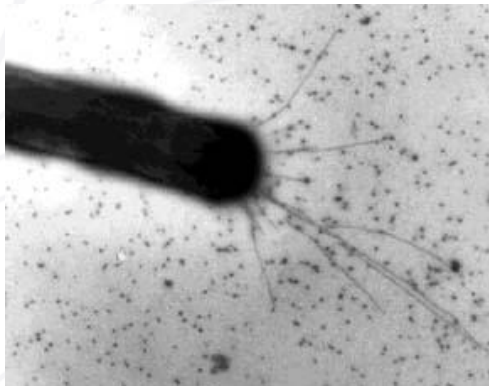


Microrganismi di forma bastoncellare o coccobacillari (osservazione prelievi clinici)

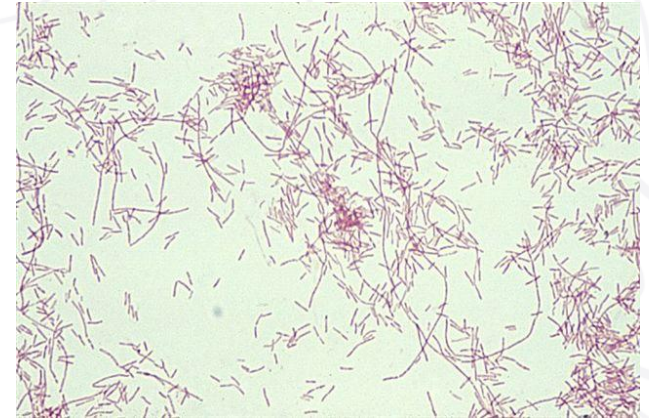
Dimensioni di $0,3-0,9 \mu\text{m} \times 2-4 \mu\text{m}$ (forme filamentose di $20 \mu\text{m}$ e oltre in coltura)

Non sporigeni, non capsulati

Gram-negativi, si colorano debolmente in rosso con safranina



Possiedono fimbrie



PCR e Legionella

Nel mondo il 91,5% dei casi comunitari è dovuto alla specie *pneumophila*, soprattutto di sierogruppo 1 (84,2%), mentre i sierogruppi dal 2 al 13 rappresentavano il 7,4%

Legionella pneumophila constituted 91.5% of the isolates. Serogroup 1 was the predominant serogroup (84.2%), and serogroups 2–13 (7.4%) accounted for the remaining serogroups.

The *Legionella* species most commonly isolated were *L.longbeachae* (3.9%) and *L.bozemanii* (2.4%), followed by *L.micdadei*, *L.dumoffii*, *L.feeleii*, *L.wadsworthii*, and *L.anisa* (2.2% combined).

Table 1. Classification of respiratory tract *Legionella* species and serogroups isolated from consecutive patients with community-acquired pneumonia.

<i>Legionella</i> species, serogroup	Species	Serogroup
<i>L. pneumophila</i>	91.5 (465)	
1		84.2 (428)
6		1.7 (9)
5		1.3 (7)
4		1.0 (5)
3		1.0 (5)
7		0.6 (3)
2		0.4 (2)
8		0.4 (2)
13		0.4 (2)
Unknown ^a		0.6 (3)
<i>L. longbeachae</i>	3.9 (20)	
Unknown		2.6 (13)
1		1.2 (6)
2		0.1 (1)
<i>L. bozemanii</i>	2.4 (12)	
Unknown		2.0 (10)
1		0.2 (1)
2		0.2 (1)
<i>L. micdadei</i>	0.6 (3)	
<i>L. dumoffii</i>	0.6 (3)	
<i>L. feeleii</i>	0.4 (2)	
<i>L. wadsworthii</i>	0.2 (1)	
<i>L. anisa</i>	0.2 (1)	
Unknown species	0.2 (1)	
Total	100 (508)	

NOTE. Data are percentage (no.) of isolates.

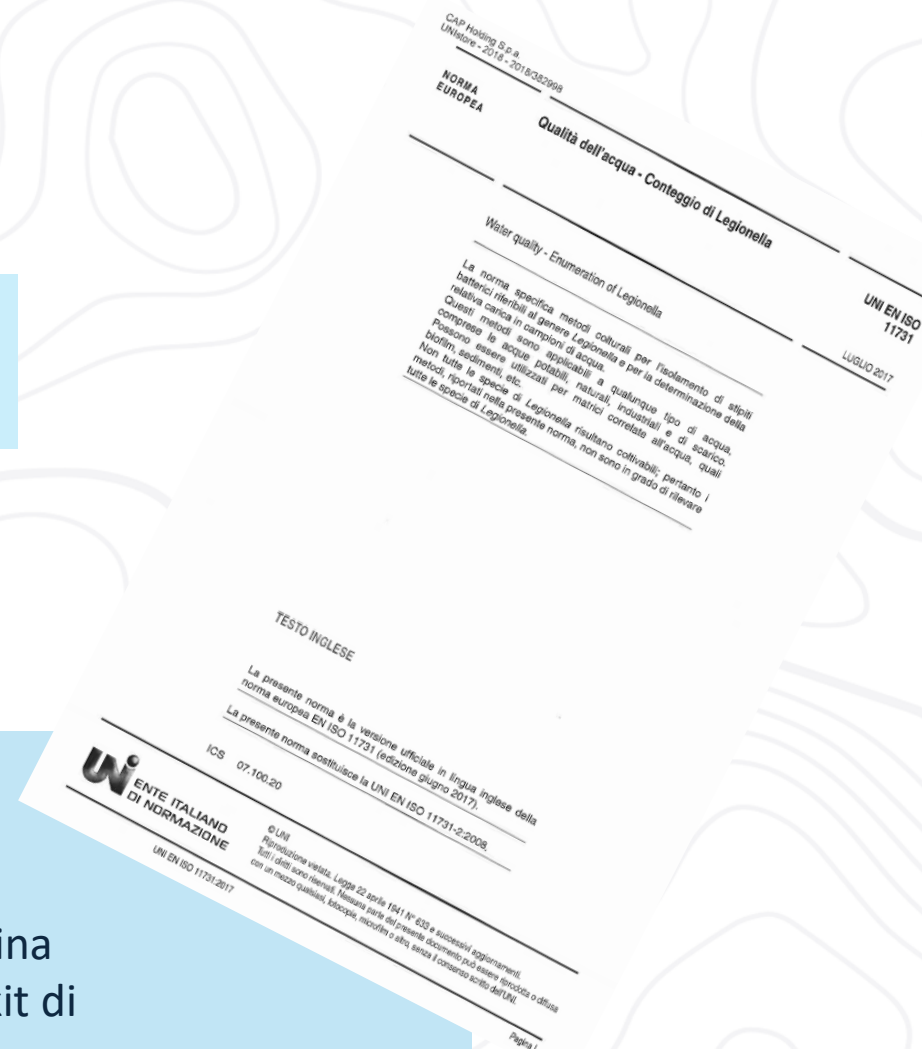
^a Serogroup unknown but not serogroup 1.



Legionella su piastra e PCR

UNI EN ISO 11731 - 2017 «Qualità dell'acqua – Conteggio di legionella

- ❖ Filtrazione su membrana e concentrazione del campione
- ❖ Trattamento termico
- ❖ Crescita su terreno selettivo addizionato con BCYE e GVPC
- ❖ Prova di conferma attraverso crescita su terreno privo di L-cisteina
- ❖ Identificazione e conferma delle colonie presuntive attraverso kit di agglutinazione al lattice



Legionella su piastra e PCR

Per ogni campione analizzato esecuzione di due metodi di prova:

UNI EN ISO 11731:2017

Qualità dell'acqua – Conteggio di legionella

**crescita su
piastra**

Norma ISO/TS 12869

«Water quality – Detection and quantification of Legionella spp. and/or Legionella pneumophyla by concentration and genic amplification by quantitative polimerase chain reaction (**qPCR**)

**Screening
presenza DNA**

Legionella su piastra e PCR

**UNI EN ISO 11731:2017 (Matrice A;
Procedura 8,9,10; Terreno A e C - GVPC)**

Qualità dell'acqua - Conteggio di Legionella

- ☐ Trattamento termico
- ☐ Filtrazione su membrana e concentrazione del campione
- ☐ Crescita su terreno selettivo addizionato con BCYE e GVPC
- ☐ Prova di conferma attraverso crescita su terreno privo di L-cisteina
- ☐ Identificazione della specie e conferma delle colonie positive attraverso kit di agglutinazione al lattice



Test NORMATO ed ufficiale per la determinazione della Legionella

Svantaggi: Tempi di risposta lunghi (da 10 a 12 giorni)



IMPORTANTE: I risultati ottenuti con il metodo del DNA non sono confrontabili con quelli della crescita su piastra. Il metodo del DNA quantifica l' Unità Genomica (GU/l) mentre, la crescita su piastra rileva l' Unità formante colonia (UFC/l).

Legionella su piastra e PCR

dopo 3 giorni di incubazione: colonie puntiformi (1-2 mm), bianche con bordo grigio, lucenti, circolari, lisce, bombate, a margine intero

dopo 5 giorni o più: colonie di 3-4 mm di diametro di colore bianco-grigio, con superficie liscia e lucida, di aspetto bombato

Le colonie appaiono di colore bianco e con colorazione verde brillante e/o rosa iridescente ai bordi; dopo 5 giorni di incubazione le colonie perdono la colorazione e diventano bianche



Le altre specie di *Legionella* mostrano lo stesso aspetto, ma possono assumere differenti colorazioni (*L. gormanii* ha colonie color crema e mucoidi)

Legionella su piastra e PCR

Screening presenza DNA

Norma ISO/TS 12869:2019

«Water quality – Detection and quantification of Legionella spp. and/or Legionella pneumophila by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR)»

- Estrazione del DNA e successiva amplificazione con utilizzo di kit e strumentazione BIORAD certificati AFNOR



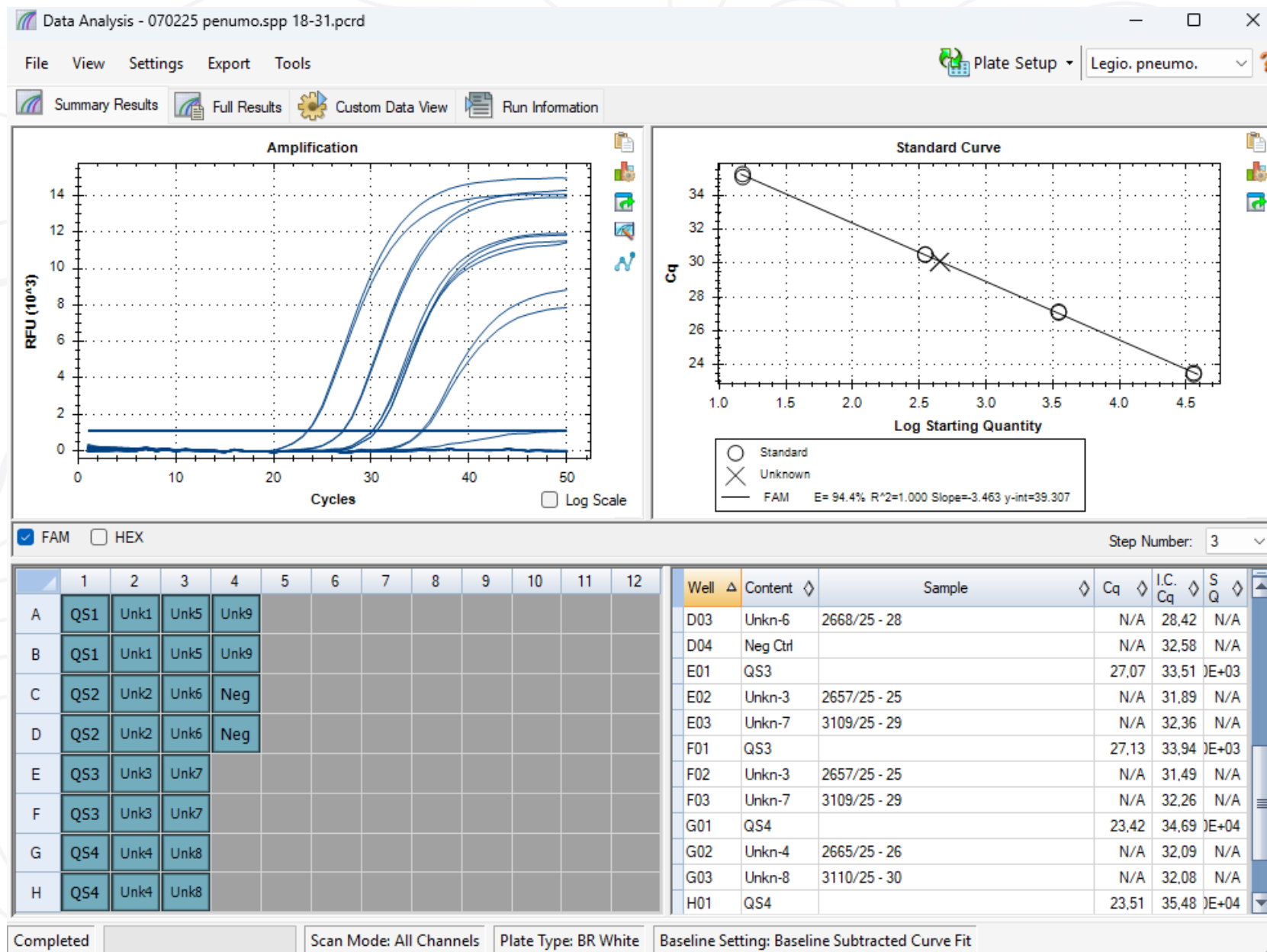
Rilevazione di tutti i frammenti di DNA di Legionella (pneumophila e spp) , sia del batterio vivo che di quello non vitale/danneggiato etc.

Un valore positivo del Test non è sinonimo della presenza di Legionella vitale (e quindi di pericolo per l'uomo) mentre, al contrario, data la selettività del metodo un valore negativo indica l'assenza di Legionella nel campione considerato.

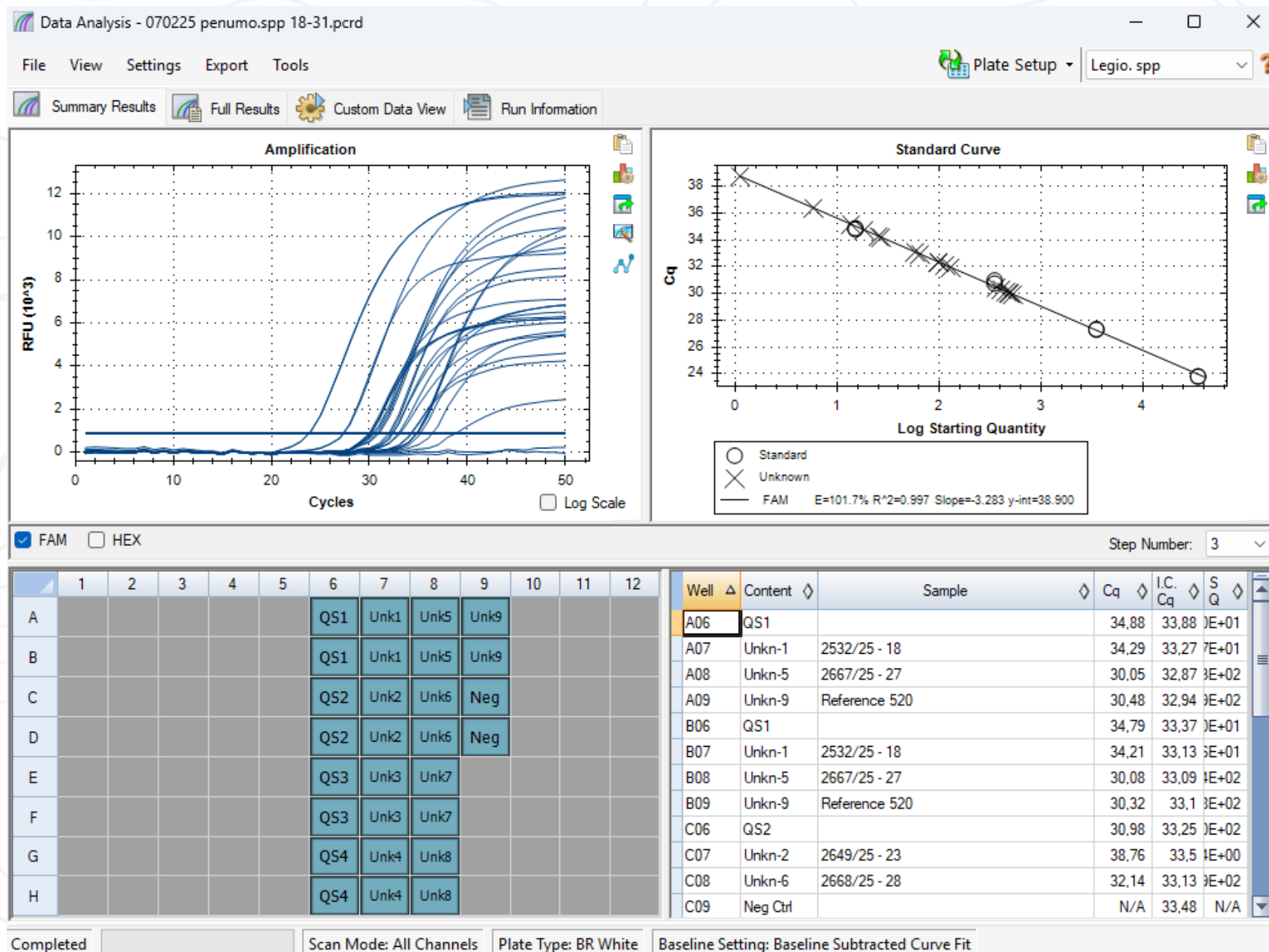
Vantaggi: Altamente specifico, Tempi di risposta rapidi (1 giorno)



Legionella su piastra e PCR



Legionella su piastra e PCR



Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

2014

Prima campagna di campionamento per legionella

2015

Aggiornamento della procedura di sanificazione delle nuove reti

2016

Implementazione dei primi WSP e prima valutazione del rischio legionella a livello BASSO

2017

Acquisto apparecchiature di laboratorio per analisi quantitativa di legionella spp e qualitativa di pneumophila

Dal 2018

Introduzione di analisi quantitative sia spp sia pneumophila all'interno del piano dei controlli con almeno un'analisi per Comune. Introduzione del servizio «**Controlla l'acqua di casa tua**»

2019

Revisione della procedura aziendale per la «gestione delle NC analitiche»

2023

Attuazione della direttiva (UE) 2020/2184 con inserimento del parametro legionella come monitoraggio dei sistemi di distribuzione interni

2014

2015

2016

2017

2018

2019

2020

2021

2023

Direttiva
2015/1787

D.M.
14.06.2017

Emergenza
Bresso

Direttiva
(UE)
2020/2184

D.Lgs.
18/2023



Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

**Dal 2018
ESTENSIONE PIANO
ANALITICO
RISPETTO AI
PARAMETRI 31/2001
ED INTRODUZIONE
DEL CONTROLLO
DELLA LEGIONELLA**

250 analisi di *Legionella pneumophila* e spp.

1 per ogni comune (134) della città metropolitana nel punto che eroga più volume di acqua.

I rimanenti 116 sono stati individuati tra i punti critici della nostra rete (filtri con temp. elevate e/o basso scorrimento, serbatoi, etc.)

Su tutti i campioni è stata effettuata la ricerca oltre che con RT-PCR anche tramite crescita batterica su piastra con terreno selettivo

Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

DAL 2018 GRUPPO CAP

Ha introdotto il controllo della Legionella in aggiunta ai parametri richiesti dal D. Lgs.31/2001 ora recepiti dal D. Lgs 18/23

Per ogni campione analizzato da CAP vengono eseguiti due metodi di prova:

1. Screening per verificare la presenza DNA della Legionella(PCR)
2. Crescita su piastra



- ☐ 464 analisi di legionella pneumophila e spp effettuate nel 2018 tra crescita su piastra e PCR
- ☐ 769 analisi di legionella pneumophila e spp effettuate nel 2025 tra crescita su piastra e PCR

Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

DAL 2018 GRUPPO CAP: PACCHETTI ANALISI «CONTROLLA L'ACQUA DI CASA TUA»

CONTROLLO BASE

Cosa viene analizzato?

- durezza, odore, colore, cloro residuo, residuo secco a 180°
- pH e conducibilità
- sodio, magnesio, alluminio, ferro
- e.coli, enterococchi, coliformi totali

CONTROLLO COMPLETO

Cosa viene analizzato?

- durezza, odore, colore, cloro residuo, residuo secco a 180°
- pH e conducibilità
- alluminio, ferro, calcio, sodio, magnesio, silicio
- cloruri, Nitrati, Solfati, Fluoruri, Cloriti, Ammoniaca, Nitriti
- e.Coli, Enterococchi, Coliformi Totali

CONTROLLO AVANZATO

Cosa viene analizzato?

- durezza, odore, colore, cloro residuo, residuo secco a 180°
- pH e conducibilità
- boro, sodio, magnesio, alluminio, silicio, fosforo, potassio, calcio, Vanadio, Cromo, Manganese, Ferro, Nichel, Rame, Zinco, Arsenico, Selenio, Cadmio, Antimonio, Bario, Mercurio, Piombo, Cromo Esavalente
- Composti organoalogenati (Freon 11, Freon 141, Freon 113, 1,1- Dicloroetilene, Cloroformio, Metilcloroformio, Tetracloruro di carbonio, Tricloroetilene, Tetracloroetilene, Bromodichlorometano, Dibromoclorometano, Bromoformio, 1,1,2-Tricloroetano, 1,2-Dibromoetano)
- E.Coli, Enterococchi, Coliformi Totali, Legionella Pneumophila.



Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

ANALISI DI LEGIONELLA SU IDRANTI IN SEGUITO A LAVORI SULLA RETE

Nel 2018

62 prelievi **5 con tracce DNA L.
pneumophila presenti**
21 Legio spp > 10.000 GU/l

Nel 2017

49 prelievi **2 con tracce DNA L.
pneumophila presenti**
22 Legio spp > 10.000 GU/l

Tutti i campioni analizzati dopo lavori di estensione della rete hanno mostrato crescita su piastra di Legionella pneumophila <100 UFC/l

Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

ANALISI DI LEGIONELLA SU IDRANTI IN SEGUITO A LAVORI SULLA RETE

Nel 2019

65 prelievi

1 *Legio pneumophila* presenti >80 UG/l

21 *Legio spp* > 10.000 GU/l

In 4 casi, i campioni analizzati dopo estensione della rete, hanno mostrato crescita su piastra di 100 UFC/l < *Legionella spp* < 1000 UFC/l
Per gli stessi campioni non è stata rilevata la presenza di *Legionella pneumophila*

Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP

ANALISI DI LEGIONELLA SU IDRANTI IN SEGUITO A LAVORI SULLA RETE

217 prelievi

Nel 2025

47 *Legio pneumophila* presenti > 80 UG/l

62 *Legio spp* > 10.000 GU/l

**In 2 casi, i campioni analizzati dopo estensione della rete, hanno mostrato crescita su piastra.
1 campione con valori 100 UFC/l <Legionella spp <1000 UFC/l
1 campione > 1000 UFC/l di Legionella spp
Per gli stessi campioni non è stata rilevata la presenza di Legionella pneumophila**

Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP 2025

➤ 133 campioni monitoraggio reti acquedottistiche

- 100% L. pneumophila < 100 UFC/l
- 100% L. spp < 100 UFC/l

In nessun caso si è verificata crescita su piastra di legionella pneumophila



231 campioni presso gli idranti a seguito di lavori di estensione reti

- ### ➤
- 155 casi (72%) L. spp < 10.000 (GU/l)
 - 62 casi (28%) L. spp > 10.000 (GU/l)
 - 198 casi (86%) L. pneumophila < LOQ (GU/l)
 - 33 casi (14%) L. pneumophila > LOQ (GU/l)

In nessun caso si è verificata crescita su piastra di legionella pneumophila



➤ 229 campioni con il progetto «Acqua di casa tua»

- 172 casi (75%) L. pneumophila < 100 (UFC/l)
- 25 casi (11%) L. pneumophila > 100 < 1000 (UFC/l)
- 32 casi (14%) L. pneumophila > 1000 UFC/l

N. 32 campioni su 229 hanno mostrato crescita su piastra di Legionella pneumophila



Il rischio legionella: evoluzione del piano dei controlli CAP 2025

Anno 2018	➔	464 campioni analizzati con RT – PCR su 464 campioni
Anno 2019	➔	428 campioni analizzati con RT – PCR su 447 campioni
Anno 2020	➔	350 campioni analizzati con RT – PCR su 393 campioni
Anno 2025	➔	354 campioni analizzati con RT – PCR su 769 campioni

In tutti i casi, i campioni di rete analizzati, hanno mostrato crescita su piastra di Legionella pneumophila <100 UFC/l

Procedura gestione dei controlli

Campionamento ordinario - Esito prova su piastra in UFC/l	
<100	-----
>100	Ricampionamento

Campionamento straordinario - Esito PCR in GU/l	
>10.000	Sanificazione+campionamento ordinario
<10.000	Attesa esito su piastra

Campionamento straordinario - Esito su piastra in UFC/l	
<100	-----
>100 e <1.000	Verifica attuazione misura di controllo (in assenza di casi) + sanificazione (in presenza di casi)
>1.000	Verifica misura di controllo + sanificazione (sia in presenza, sia in assenza di casi)

Monitoraggio Legionella SEDI CAP

Analisi DNA in RT-PCR	
DNA Legionella pneumophila (UG/L)	DNA Legionella spp (UG/L)
<1000 nessuna azione, attendere esito colturale in piastra	attendere sempre esito colturale in piastra, a prescindere dal valore riscontrato
1000<UG/L<10000 sospendere uso docce a scopo cautelativo e attendere esito colturale in piastra	
>10000 sospendere uso docce ed eseguire sanifica/manutenzione EFFETTUARE RIPRELIEVO DI CONTROLLO	
Analisi colturale in piastra	
Legionella pneumophila (UFC/L)	Legionella spp (UFC/L)
<100 nessuna azione	<100 nessuna azione
100<UFC/L<1000 ripetere campionamento dopo 6 mesi	100<UFC/L<1000 nessuna azione
>1000 sospendere uso docce ed eseguire sanifica/manutenzione EFFETTUARE RIPRELIEVO DI CONTROLLO	>1000 sospendere uso docce ed eseguire sanifica/manutenzione EFFETTUARE RIPRELIEVO DI CONTROLLO

Emergenza BRESSO

07/2018

**ESECUZIONE DI UNA
CAMPAGNA DI
CONTROLLI
STRAORDINARI**

44 analisi di legionella pneumophila e spp.
sull'acquedotto di Bresso

14 analisi di legionella nei comuni limitrofi
costituenti l'acquedotto intercomunale

Tutti i campioni negativi per crescita su piastra
tranne un campione (780 UFC/L) che era risultato
però negativo all'analisi di screening con PCR (??)

Su tutti i campioni è stata effettuata la ricerca oltre che con RT-PCR anche tramite
crescita batterica su piastra con terreno selettivo, in doppio gestore-ATS

Progetto SARI

Progetto SARI (Sorveglianza Ambientale Acque Reflue)

Nato durante la pandemia da Covid-19, è un network nazionale coordinato dall'ISS in collaborazione con le Agenzie Regionali per la Protezione Ambientale (ARPA) e i gestori idrici.

- **Come funziona:** Vengono prelevati campioni di acqua all'ingresso dei depuratori urbani.
- **Obiettivo:** Estrarre il materiale genetico del virus per monitorare la curva epidemiologica e identificare in anticipo le varianti emergenti sul territorio.



Coinvolte 18 Regioni e le 2 Province Autonome



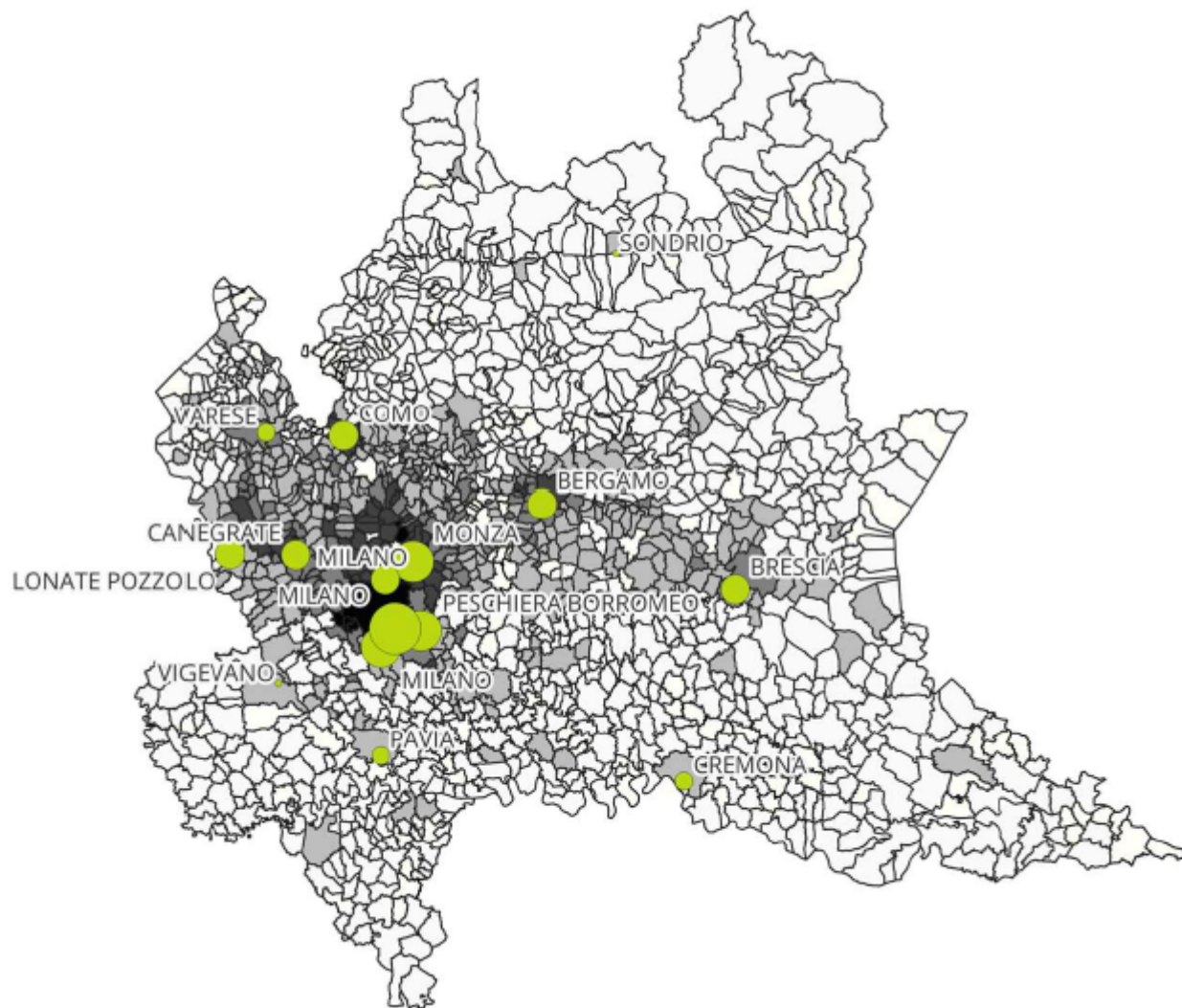
Regioni/P.A.	N° Impianti di depurazione
Abruzzo	5
Basilicata	2
Calabria	6
Campania	10
Emilia Romagna	14
Friuli Venezia Giulia	3
Lazio	13
Liguria	16
Lombardia	15
Marche	6
Molise	3
Piemonte	7
Puglia	16
Sicilia	17
Toscana	13
Umbria	3
Valle d'Aosta	2
Veneto	10
A.P. Bolzano	3
A.P. Trento	3
Total	167

Siti e frequenze campionamento:

- ✓ Impianti che servono comuni >150.000 abitanti (2 volte a settimana)
- ✓ Impianti che servono comuni di dimensioni 50.000-150.000 abitanti (una volta a settimana)

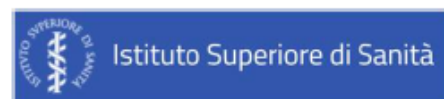


Progetto SARI



Impianto	Dimensioni ¹	Condiviso	2021		2022		2023	
			ORF	Geni N	ORF	Geni N	ORF	Geni N
Bergamo	220.000	X			83	75	7	
Bresso	220.000	X			87	35	6	
Canegrate	137.950		11		47		4	
Città di Cremona	180.000				94	94	10	1
Como	196.000				86	90	10	1
Lonate Pozzolo	450.000	X			86	45	9	
Milano Nosedo	1.250.000			24	84	98	10	1
Milano San Rocco	1.036.000			24	82	96	10	1
Monza	600.000	X	23		98	78	7	
Pavia	132.912				41	43	3	
Peschiera Borromeo	566.000	X			87	35	6	
Sondrio	49.500				47	36	2	
Varese	74.402		11		48	1	1	
Brescia-Verziano	296.000		26	26	103	103	8	
Vigevano	57.925				43	45	4	

Progetto SARI



Progetto SARI



Laboratori	Gestori ID	Enti di Ricerca
 ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE MARIO NEGRI - IRCCS	Water Alliance Acque di Lombardia (Acque Bresciane S.r.l., ALFA S.r.l., Brianzacque S.r.l., CAP Holding S.p.A., Como Acqua S.r.l., Lario Reti Holding S.p.A., MM S.p.A., Padania Acque S.p.A., Pavia Acque S.c. a r.l., S.a.L. S.r.l., TEA S.p.A., Uniacque S.p.A.)	Politecnico di Milano DICA
 ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA "BRUNO UBERTINI"	A2A	Università Cattolica del Sacro Cuore
 UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO - BICOCCA Dipartimento di Medicina e Chirurgia Laboratorio di Microbiologia e Virologia Clinica;		Università di Brescia - DICATAM
 UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE PER LA SALUTE		
 GRUPPO UCAP		

Progetto SARI

TRASFORMAZIONE DEL PROGETTO SARI IN RETE DI SORVEGLIANZA

Dal 1° ottobre 2021, le attività di ricerca esistenti nell'ambito del progetto SARI (Sorveglianza Ambientali Reflui urbani in Italia) sono state trasformate in un sistema di sorveglianza, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

OBIETTIVI



Analisi degli andamenti delle concentrazioni del SARS-CoV-2 nelle acque reflue nel corso del tempo, come descrittore degli andamenti dell'infezione nella popolazione.

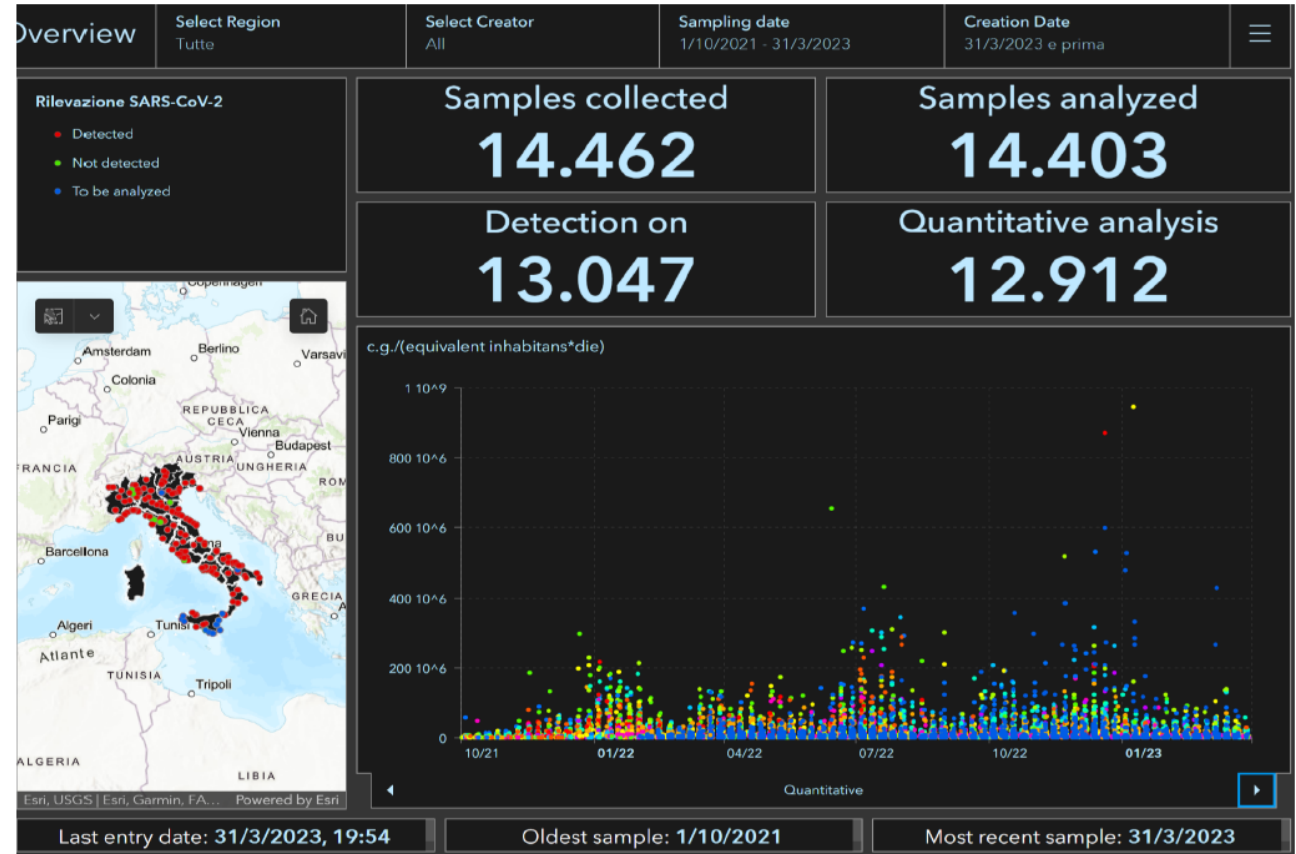


Studio delle varianti di SARS-CoV-2 rilevate nelle acque reflue, come approccio per seguire la diffusione delle medesime nella popolazione e l'evoluzione del virus.

Progetto SARI

**CAP punto di riferimento
regionale per tutti i gestori
del ciclo idrico di Regione
Lombardia**

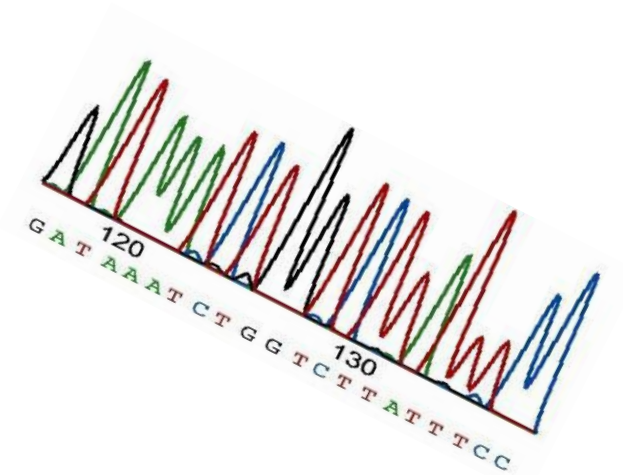
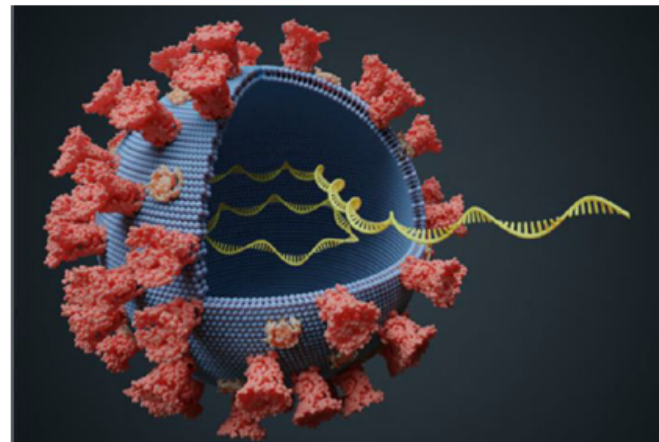
**Campioni processati dal
laboratorio di Gruppo CAP
circa 1200**





"...l'individuazione della variante si basa **su metodi di sequenziamento genico debitamente documentati..**"

Il sequenziamento del genoma virale è la tecnica che si utilizza per identificare le mutazioni associate ad una variante del virus

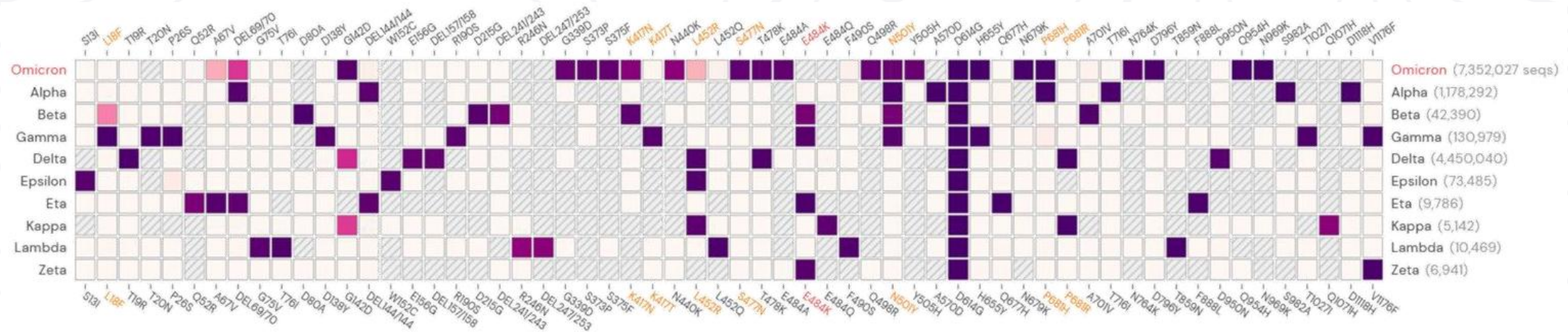


Progetto SARI

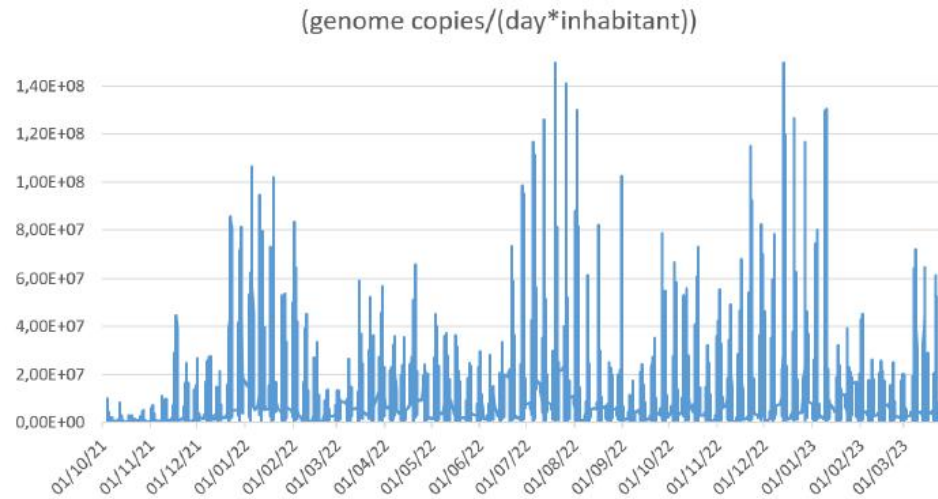
L'analisi delle varianti di SARS-CoV-2 è realizzata mediante "**Flash Survey**" nazionali, effettuate a **cadenza mensile** a partire da ottobre 2021, con prelievi in tutti i depuratori della rete.

Campioni della **prima settimana di ogni mese** (raccolti e analizzati dai laboratori della rete SARI); circa 170 campioni analizzati in ciascuna FS

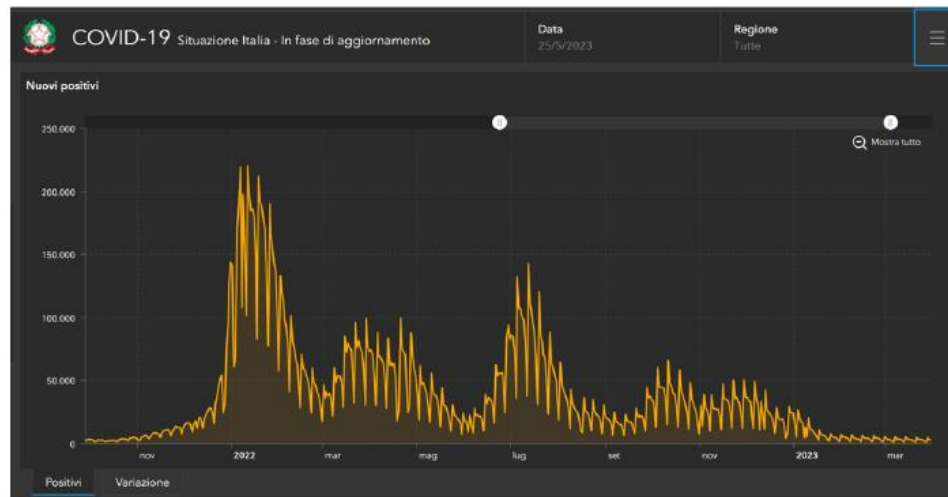
- Invio degli acidi nucleici estratti in ghiaccio secco all'ISS
- Amplificazione e sequenziamento presso ISS
- Elaborazione di report mensili pubblicati nel sito ISS alla sezione «sorveglianze».



Progetto SARI



**Andamento nel tempo della
concentrazione del virus
SARS CoV-2**



**Sistema predittivo che ha
permesso di anticipare
l'andamento della malattia
nella popolazione.**

Progetto SARI



GRAZIE

GRUPPO CAP
Via Rimini 38 
20142 Milano
www.gruppocap.it

