

Prevenção e Controlo de *Legionella*

Guia para Clientes

Laboratório de Saúde Pública da Guarda

Ficha Técnica

Título: Planos de Prevenção e Controlo de *Legionella* - Guia para Clientes

Elaboração: Ana Marília Bidarra Monteiro Dionísio

Revisão: Maria Paula Martinho Lourenço

Aprovação: Maria Paula Martinho Lourenço

Índice

Enquadramento Legal	4
O Laboratório de Saúde Pública da Guarda (LSPG)	5
A <i>Legionella</i>	6
Seleção dos Pontos de Colheita	8
Perfil Analítico para Monitorização de <i>Legionella</i>	9
As Metodologias	10

Enquadramento Legal

A Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto, alterada pela Lei n.º 40/2019, de 21 de junho, estabelece o regime de prevenção e controlo da doença dos legionários.

A Portaria nº25/2021, de 29 de janeiro, estabelece a classificação do risco e as medidas mínimas a serem adotadas pelos responsáveis dos equipamentos, redes e sistemas, previstos no artigo 2.º da Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto, em função da avaliação do risco de contaminação e disseminação da bactéria *Legionella* que decorra dos resultados analíticos apurados, no âmbito do Programa de Monitorização e Tratamento da Água.

O Despacho n.º 1547/2022, de 8 de fevereiro, determina os procedimentos técnicos para a realização do Programa de Monitorização e Tratamento da Qualidade da Água.

A monitorização da presença da bactéria *Legionella* na água implica uma adequada seleção dos pontos de amostragem, com base numa prévia avaliação do risco, devendo estes pontos ser representativos da qualidade da água nos equipamentos, redes e sistemas, tendo em conta as condições propícias ao desenvolvimento da bactéria e fornecendo uma indicação global do estado de contaminação.

Os pontos de amostragem devem ser reajustados, sempre que necessário, após avaliação do risco aos equipamentos, às redes e aos sistemas, após uma alteração estrutural ou após ações de inspeção de rotina, devendo coincidir com os pontos críticos identificados.

Os procedimentos de colheita de amostras de água e de biofilme, para a análise microbiológica, são uniformizados de acordo com as recomendações descritas no Despacho n.º 1547/2022, de 8 de fevereiro e devem ser realizadas por laboratórios acreditados pelo Instituto Português de Acreditação, I. P., ou por entidade homóloga signatária de acordo multilateral relevante da *European co-operation for Accreditation*.

Os parâmetros previstos no âmbito dos programas de monitorização e tratamento só podem ser realizados por laboratórios de análises acreditados para o efeito, como é o caso do Laboratório de Saúde Pública da Guarda (LSPG).



O Laboratório de Saúde Pública da Guarda (LSPG)

O LSPG está integrado na Unidade de Saúde Pública (USP) da Unidade Local de Saúde da Guarda (ULSG) e localiza-se no mesmo edifício da USP e serviços centrais da ULSG.

Desenvolvemos as nossas atividades no âmbito da avaliação da qualidade das águas e géneros alimentícios, de acordo com as exigências da legislação nacional e comunitária, com as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) e com as expectativas e necessidades dos seus clientes.

Respondemos aos mais elevados padrões de qualidade no que respeita às metodologias implementadas, o que, associado com a excelência técnico-científica dos seus colaboradores e a uma cultura e valores baseados em princípios como: dinamismo, competência técnica, dedicação, polivalência e rigor, constitui uma resposta à confiança que os nossos clientes sempre depositaram na qualidade dos nossos serviços.

Estamos em franco desenvolvimento e, o que começou por ser um pequeno serviço é hoje um laboratório de referência na zona geográfica onde nos inserimos e já alargámos a nossa área de intervenção a todo o tipo de clientes externos, incluindo de vários distritos vizinhos.

Somos uma equipa jovem e qualificada, de diferentes especialidades mantendo como objetivo a resposta atempada ao cliente com garantia de rigor e independência e a nossa multidisciplinaridade permite dar resposta às várias áreas de exercício.

Pretendemos dar um contributo significativo aos clientes no âmbito da implementação dos seus Programas de Monitorização e Tratamento da Qualidade da Água, auxiliando na difícil tarefa de identificar os pontos críticos, gerir e minimizar os riscos desta bactéria para proteção dos seus colaboradores, clientes, hóspedes, visitantes e toda a comunidade em seu redor.

Missão

Temos como missão a prestação integrada de serviços analíticos e de consultoria à população da nossa área de influência, tendo em vista o incremento dos níveis de saúde e bem-estar da comunidade envolvente, através da execução de análises com qualidade e rigor, de forma a conseguir uma prestação profissional dentro dos mais elevados padrões de prática laboratorial de acordo com os requisitos legais e normativos aplicáveis, reconhecidos pela comunidade científica.

Asseguramos ainda a melhoria contínua da eficácia do sistema integrado de gestão da qualidade e colaboramos frequentemente com outras entidades em atividades de investigação, formação e ensino.

Visão

Pretendemos ser reconhecidos como um laboratório de referência na zona centro do país, que assegura uma resposta de elevada qualidade às necessidades dos seus clientes, pautando-se por rigorosos princípios de eficiência e responsabilidade na vertente económica, financeira, social e ambiental.



A *Legionella*

A *Legionella* é uma doença de notificação obrigatória, mas é subdiagnosticada e subnotificada. A Legionelose constitui um problema de Saúde pública e por isso devem ser implementadas medidas de prevenção e controlo.

A sobrevivência e multiplicação das bactérias do género *Legionella* são influenciadas por vários fatores nomeadamente, a temperatura, presença de outras bactérias e de nutrientes, a interação com outros microrganismos e o pH.

A temperatura é um fator muito importante no crescimento desta bactéria. Quando as condições são favoráveis, particularmente a temperaturas entre 20°C e 45°C, na presença de depósitos (ferrugem), multiplica-se rapidamente, atingindo níveis anormais e de risco em sistemas de circulação e fornecimento de água, podendo sobreviver a temperaturas entre 20°C e 70°C.

Para prevenir a *Legionella* é recomendável que a temperatura de armazenagem e distribuição de água seja abaixo dos 25°C e, idealmente, abaixo dos 20°C. A *Legionella* consegue sobreviver por longos períodos a baixa temperatura, multiplicando-se quando a temperatura aumenta.

A existência de um biofilme nas superfícies em contacto com a água, processos de corrosão ou incrustação e a utilização de materiais porosos e de derivados de silicone nas redes prediais potenciam o seu crescimento e disseminação.

Fatores que favorecem o desenvolvimento da *Legionella*

- Presença de outros organismos, de nutrientes (ferro) e/ou de sedimentos;
- Materiais inadequados como por exemplo borrachas e linho nos acessórios da rede, materiais porosos, derivados de silicone, etc.;
- A antiguidade e complexidade das redes prediais;
- Conduitas com corrosão ou incrustação, que existem com maior incidência em conduitas ou tubagens de ferro e cobre, embora também possam ocorrer em PVC;
- Utilização de água de qualidade menor nos circuitos das torres de arrefecimento e condensadores evaporativos;
- Zonas de reduzida circulação de água;
- Água estagnada, como por exemplo reservatórios ou locais pouco utilizados;
- Humidade relativa superior a 60%;
- pH entre 2,7 e 8,3;
- Presença de biofilmes;

Biofilmes - Estratégia de Sobrevivência da *Legionella*

Os biofilmes ocorrem numa grande variedade de superfícies. São matrizes gelatinosas aderentes às superfícies, constituídas por vários microrganismos, podendo ainda conter outros componentes de origem não biológica (como iões metálicos e nutrientes), ou seja, são nichos de bactérias com diferentes necessidades metabólicas e disponibilidade de nutrientes.

A *Legionella* sobrevive desenvolvendo simbiose com amibas, cianobactérias, flagelados, algas e outras bactérias, onde se encontram protegidas dos agentes desinfetantes e da predação por protozoários.

Em suma, os biofilmes são uma forma de proteção capaz de potenciar a capacidade de sobrevivência em ambientes hostis incluindo o tratamento de água, ou seja, mesmo na presença de cloro, o biofilme coloniza inevitavelmente as condutas.

Num biofilme a resistência de um microrganismo aos biocidas pode ser 100 vezes maior do que se o mesmo microrganismo estiver em água.

Seleção dos Pontos de Colheita

A colheita de amostras de água e, sempre que se justifique, de biofilmes, que deve ser realizada por laboratórios acreditados para o efeito pelo IPAC, I. P., por técnicos de saúde ambiental.

Assim, as amostras destinadas à análise de *Legionella* devem ser colhidas por técnicos com conhecimento da ecologia da bactéria e avaliação geral de risco. O LSPG dispõe de uma equipa técnica com reconhecida competência para realizar colheitas e as análises no âmbito dos Programa de Monitorização e Tratamento da Qualidade da Água.

Desde 2018 que o LSPG tem as colheitas de amostras de águas de consumo, de processo, águas minerais naturais, de nascente e termais para pesquisa e identificação de *Legionella* no seu âmbito de acreditação.

De acordo com a legislação vigente, os pontos de colheita devem corresponder aos pontos críticos dos equipamentos, redes e sistemas, identificados no âmbito da avaliação do risco, devendo optar-se por pontos fixos e por pontos variáveis.

Os pontos de colheita devem envolver entrada da água no sistema, pontos extremos de rede e circuitos de retorno (quando previstos) e outros pontos representativos, tais como zonas de estagnação de água ou pontos em que a temperatura da água esteja compreendida entre 20°C e 45°C.

Nas redes de água fria, devem ser colhidas amostras à entrada da rede predial, nos reservatórios e nos pontos representativos de extremidade de rede (chuveiros e torneiras) identificados na avaliação do risco.

Na rede de água quente sanitária (AQS) devem ser tidos em consideração, como fixos ou variáveis, os seguintes pontos de amostragem:

- a) Na válvula de descarga de fundo do reservatório de água quente ou do termoacumulador, ou no primeiro ponto após o termoacumulador, se o mesmo não tiver válvula de descarga;
- b) Na saída do reservatório, preferencialmente no coletor de saída, ou no ponto mais próximo deste;
- c) Na saída do permutador de placas, no caso de não ficar no circuito primário;
- d) Na rede de retorno de água quente, quando prevista, preferencialmente no coletor de retorno;
- e) Nos pontos de extremidade (chuveiros e torneiras).

Os pontos de amostragem devem ser reajustados, sempre que necessário, após avaliação do risco aos equipamentos, às redes e aos sistemas, após uma alteração estrutural ou após ações de inspeção de rotina, devendo coincidir com os pontos críticos identificados.

O programa de monitorização e tratamento da qualidade da água é reajustado em função da ocorrência de resultados analíticos não conformes e/ou do resultado das inspeções de rotina, bem como em função da avaliação do risco.

Perfil Analítico para Monitorização de *Legionella*

De forma a poder responder às imposições da legislação nacional e comunitária e a dar uma resposta global aos clientes, temos implementados vários métodos, contemplados nos documentos legais, para pesquisa e quantificação de *Legionella*, conseguindo desta forma, responder de uma forma completa e integral, no âmbito da avaliação de risco.

Em 2018, entendendo a necessidade de uma intervenção rápida e eficiente no tratamento e prevenção de *Legionella*, em sistemas de abastecimento de águas, implementámos a metodologia de reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (RT-PCR) para pesquisa e quantificação de *Legionella spp.* e *Legionella pneumophila*, pela mais recente versão da norma ISO 12869, tornámo-nos num laboratório pioneiro em Portugal com acreditação neste tipo de ensaios. A utilização da RT-PCR e de outros métodos, como o Legiolert (metodologia cultural), contribuem para orientar a tomada de decisão na medida em que permite a obtenção de resultados mais rápidos que o método de cultura.

Emitimos Relatórios de Ensaio onde consta a identificação inequívoca do laboratório, o símbolo do IPAC bem como do ILAC, assegurando que as análises são realizadas em laboratório acreditado para os ensaios.

Tabela 1. Programa de monitorização da qualidade da água para as redes de água quente sanitária e água fria

Parâmetro	Frequência	
	Água quente sanitária	Água Fria
Desinfetante residual	2 vezes por semana	2 vezes por semana
Temperatura	2 vezes por semana	Mensal
pH	2 vezes por semana	2 vezes por semana
<i>Legionella spp.</i>	Trimestral	Anual
<i>Legionella pneumophila</i>		
Número de colónias a 22 °C	Trimestral	Trimestral
Ferro total	De acordo com a avaliação de risco.	
Manganês		

Origem: Despacho n.º 1547/2022, de 8 de fevereiro

Os relatórios de ensaio podem ser disponibilizados aos clientes de várias formas:

1. Em suporte informático numa plataforma (Allweb) para consulta, através de identificação de utilizador e palavra passe, que podem ser impressos a qualquer altura;
2. Podem ser enviados por e-mail;
3. Podem ser enviados via CTT;
4. Podem ser levantados nas instalações do LSPG em suporte de papel.

Metodologias Analíticas

Para detetar e identificar bactéria *Legionella* em amostras de água, podem ser aplicadas métodos como PCR em Tempo Real e Legiolert.

Biologia Molecular (Real -Time PCR)

As vantagens da utilização da RT-PCR para fins de deteção e quantificação, são inúmeras face a outras metodologias. O facto deste método permitir uma deteção rápida de *Legionella spp.* (inferior a 24 horas), ao quantificar ADN bacteriano presente na amostra, permite implementar rapidamente ações corretivas. É um método com elevada sensibilidade e especificidade, reduz o risco de contaminação cruzada e permite detetar, de forma fiável, pequenas concentrações de ADN bacteriano.

Dada a elevada sensibilidade da técnica, torna-se imperativo a necessidade de técnicos qualificados para o correto manuseamento e análise das amostras.

Vários estudos científicos comprovam que resultado negativo pela metodologia de RT-PCR é praticamente certo que será igualmente um resultado negativo pelo Método Cultural. ^(2,3 e 9)

A RT-PCR permite detetar ADN de *Legionella* nas amostras, mesmo quando a bactéria não está viável ou está num estado não cultivável, podendo estar, por exemplo, associada a protozoários e/ou biofilmes, fatores importantes que permitem que a bactéria sobreviva em ambientes adversos e consiga colonizar os sistemas de água.

Legiolert™

Legiolert™ é um método de cultura desenvolvido pelos Laboratórios IDEXX, que deteta *Legionella pneumophila* em amostras de água. Esse ensaio baseia-se em reações enzimáticas específicas que permitem que as células bacterianas cresçam rapidamente.

Trata-se de uma metodologia de fácil execução e apresenta-se como um ensaio robusto à interferência de outros microrganismos. Estudos científicos confirmam que o método Legiolert™ possui uma especificidade muito alta, sendo um método eficaz e eficiente para a deteção de *L. pneumophila* e que não necessita de confirmação. ^(6,8)

Em suma,

A análise de ADN permitirá obter resultados rápidos sobre a confirmação da presença/ausência da bactéria nas instalações, a análise pelo Método Cultural permitirá perceber se a bactéria está viável e potencialmente infecciosa e em que níveis se encontra para poder confrontar com a exigência legal.

Referências

1. Despacho 1547/2022 - Determina os procedimentos técnicos para a realização do Programa de Monitorização e Tratamento da Qualidade da Água.
2. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2017). *European Technical Guidelines for the Prevention, Control and Investigation, of Infections Caused by Legionella species*. Acedido a 03/10/2022. Disponível em:
https://www.escmid.org/fileadmin/src/media/PDFs/3Research_Projects/ESGLI/ESGLI_Europea_n_Technical_Guidelines_for_the_Prevention_Control_and_Investigation_of_Infections_Caused_by_Legionella_species_June_2017.pdf
3. Joly, P., Falconnet, P.A., Andre, J., Weill, N., Reyrolle, M., Vandenesch, F., Maurin, F.M., Etienne, J. et al. (2006). Quantitative real-time Legionella PCR for environmental water samples: data interpretation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(4), 2801-2808.
<https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2801-2808.2006>.
4. Lei nº52/2018 de 20 de agosto - Estabelece o regime de prevenção e controlo da doença dos legionários e procede à quinta alteração ao Decreto-Lei n.º 118/2013
5. Lei n.º 40/2019 - Atribui aos técnicos de saúde ambiental a competência para a colheita de amostras de água e de biofilmes em situações de cluster ou surto, procedendo à primeira alteração à Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto.
6. Petrisek, R., & Hall, J. (2018). Evaluation of a most probable number method for the enumeration of Legionella pneumophila from North American potable and nonpotable water samples. *Journal of water and health*, 16(1), 25-33. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.118>
7. Portaria nº25/2021 - Estabelece a classificação do risco e as medidas mínimas a serem adotadas pelos responsáveis dos equipamentos, redes e sistemas, previstos no artigo 2.º da Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto, em função da avaliação do risco de contaminação e disseminação da bactéria *Legionella* que decorra dos resultados analíticos apurados, no âmbito do programa de monitorização e tratamento da água.
8. Rech, M. M., Swalla, B. M., & Dobranic, J. K. (2018). Evaluation of Legiolert for Quantification of Legionella pneumophila from Non-potable Water. *Current microbiology*, 75(10), 1282-1289. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1522-0>
9. Yaradou, D.F., Hallier-Soulier, S., Moreau, S., Poty, F., Hillion, Y., Reyrolle, M., Andre', J., Festoc, G. et al. (2007) Integrated real-time PCR for detection and monitoring of Legionella pneumophila in water systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(5), 1452-1456.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02399-06>.

OS NOSSOS VALORES

Profissionalismo

Ética e Deontologia Profissional

Rigor

Equidade

Cooperação

Inovação

AS VANTAGENS DOS NOSSOS SERVIÇOS

Relação de Proximidade com os Clientes

Laboratório Acreditado

Diversidade de Serviços e Sectores de Atuação

Equipa Multidisciplinar

Elevada Competência Técnica orientada para o Cliente