

João Pedro Rodrigues de Sousa Quirino

Doença dos Legionários: Uma Revisão Crítica

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2011

João Pedro Rodrigues de Sousa Quirino

Doença dos Legionários: Uma Revisão Crítica

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2011

João Pedro Rodrigues de Sousa Quirino

Doença dos Legionários: Uma Revisão Crítica

Assinatura

(João Pedro Rodrigues de Sousa Quirino)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção da Licenciatura
em Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

A Doença dos Legionários é uma forma de pneumonia atípica causada pela bactéria *Legionella pneumophila*.

O período de incubação é de dois a dez dias, após o que surge uma pneumonia multifocal necrotizante com a formação de microabcessos. Os sintomas incluem, febre, tremores, tosse seca e dores de cabeça.

As Legionellas encontram-se frequentemente em reservatórios de água e crescem em água quente. Os sistemas de distribuição de água e reservatórios são identificados como as principais fontes de infecção em muitos dos artigos de investigação.

Embora a Doença dos Legionários possa ocorrer em qualquer idade, os indivíduos de meia-idade e os idosos são os mais frequentemente afectados. Os tabagistas, os etilistas ou aqueles que fazem uso de corticosteróides parecem apresentar um maior risco. A taxa de mortalidade é muito mais elevada entre os indivíduos que contraem a doença em hospitais (PAC) ou que apresentam imunodeficiência, estando em torno de 20% nos demais grupos.

O objectivo do estudo que se desenvolve nas páginas seguintes pretende contribuir para uma melhor compreensão e conhecimento do género *Legionella*.

Foi feita uma pesquisa com enfoque na etiologia, patogénese, manifestações clínicas, diagnóstico laboratorial, tratamento, prevenção e epidemiologia.

Palavras-Chave: Doença dos Legionários, Legionelose, *Legionella spp.*, Diagnóstico, Prevenção, Tratamento, Transmissão.

ABSTRACT

Legionnaires' Disease is a form of atypical pneumonia caused by the bacterium *Legionella pneumophila*.

The incubation period is from two to ten days, after which comes a multifocal necrotizing pneumonia with the formation of microabscesses. The symptoms include fever, chills, dry cough and headaches.

The Legionella are often found in water tanks and grow in hot water. The water distribution systems and reservoirs are identified as major sources of infection in many of the research papers.

Although Legionnaires' Disease can occur at any age, individuals of middle-aged and elderly are the most often affected. The smokers, alcoholics or those that make use of corticosteroids appear to be at greater risk. The mortality rate is much higher among individuals who contract the disease in hospitals (PAC) or who have immunodeficiency, which is roughly 20% in other groups.

The aim of this study that develops in the following pages is to contribute to a better understanding and knowledge of the *Legionella* genus. A search was made having as focus, the etiology, pathogenesis, clinical manifestations, laboratory diagnosis, treatment, prevention and epidemiology.

Key-words: Legionnaires' Disease, Legionellose, *Legionella spp.*, Diagnosis, Prevention, Treatment, Transmission.

Agradecimentos

À Universidade Fernando Pessoa e respectivos Professores pela excelente formação.

À Professora Doutora Cristina Abreu, minha orientadora, pelo acompanhamento, disponibilidade e apoio prestado ao longo deste trabalho.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	i
SIGLAS E ABREVIATURAS	ii
I – INTRODUÇÃO	1
II – ETIOLOGIA	5
2.1. Factores que favorecem o desenvolvimento da bactéria	6
2.1.1. Influência da temperatura da água	7
2.1.2. Efeitos de outros organismos	8
2.1.2.1. Protozoários.....	9
2.1.3. Formação do Biofilme	11
2.1.3.1. Factores de risco para o crescimento do Biofilme	14
III – TRANSMISSÃO E PATOGÉNESE	15
3.1. Virulência	18
IV – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	20
V – DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	21
VI – TERAPÊUTICA	24
VII – PREVENÇÃO	26
VIII – EPIDEMIOLOGIA	27
IX – CONCLUSÃO	29
BIBLIOGRAFIA	31
ANEXOS	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1- Ciclo de vida, crescimento e desenvolvimento da <i>Legionella pneumophila</i> . (adaptado de Garduño, R., 2007)	10
Figura 2 – Formação do biofilme (Bartram, J. et al., 2007)	12

SIGLAS E ABREVIATURAS

BCYE	Buffered Charcoal Yeast Extract agar
C.D.C	Center for Disease Control and Prevention
DDO	Doenças de Declaração Obrigatória
DGS	Direcção Geral de Saúde
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ERS	European Respiratory Society
E.U.A	Estados Unidos da América
EWGLI	European Working Group for <i>Legionella</i> Infections
ELDSNET	European Legionnaires Disease Surveillance Network
HPA	Health Protection Agency – UK
HIV	Human Immunodeficiency Virus
ONDR	Organização Nacional de Doenças Respiratórias
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
PAC	Pneumonia Adquirida na Comunidade
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribonucleic acid
UV	Ultra-Violeta
WHO	World Health Organization

I – INTRODUÇÃO

A Doença dos Legionários surge com toda a expressão mediática após um surto de pneumonia grave ocorrido durante uma Convenção da Legião Americana, num hotel em Filadélfia, no ano de 1976. No entanto, as análises por sorotipagem mostraram, que pequenos surtos de pneumonia haviam ocorrido já, em 1943, 1947 e 1965. Em 1976, a alta taxa de mortalidade dos indivíduos afectados, apesar da administração de antibióticos e dos cuidados médicos dispensados, deixaram a comunidade médica em alerta.

Em 1977, foi possível o isolamento da bactéria. A doença tomou o nome de Doença dos Legionários ou Legionelose e a bactéria, *Legionella pneumophila*.

Depois da surpresa causada pelo surto de Filadélfia, uma revisão feita em 1978 por investigadores médicos dos Hospitais de Veteranos de casos dos Hospitais VA em Los Angeles, Pittsburgh, Togus e Maine até 4 anos anteriores, abalou a comunidade em geral e a médica em particular. Foi diagnosticada a Doença dos Legionários a 300 pacientes e a taxa de mortalidade atingiu os 50%. Os pacientes eram portadores de doenças pulmonares obstrutivas, alguns haviam sido transplantados e sujeitos a anestesia geral com entubação endotraqueal no decurso do tratamento (Shader & Zonderman, 2006).

Os surtos de Legionelose adquiridos em comunidade eram esporádicos, e não transmissíveis de pessoa para pessoa.

O interesse pela doença cresceu e foi possível a circunscrição do agente etiológico a um nicho preferencial, o meio aquático, e verificar a facilidade com que este se propagava nomeadamente no ambiente hospitalar. A rapidez com que se

determinou a água como fonte primária resultou da epidemiologia molecular e de estudos de controlo por DNA.

Apesar de os tratamentos na altura não terem sido eficazes e não terem evitado o número de vítimas mortais, em parte porque os antibióticos administrados não terem sido os indicados, actualmente as taxas de mortalidade por Legionelose registam uma diminuição significativa, isto porque, paralelamente à administração dos antibióticos adequados, os meios de diagnóstico também evoluíram consideravelmente.

Depois de todos os surtos ocorridos um pouco por todo o mundo, a atenção científica e académica sobre a bactéria, em concreto, começou a despoletar um interesse sistematizado na investigação da sua existência em todos os pacientes que apresentassem um quadro clínico coincidente com pneumonia.

Segundo dados do C.D.C, cerca de 8.000 a 18.000 pessoas são hospitalizadas nos E.U.A todos os anos devido à doença dos legionários, havendo contudo muitos casos que não são diagnosticados ou reportados ao C.D.C, podendo nesse sentido, o número de infectados ser relativamente mais alto.

Feita uma brevíssima introdução histórica, analisar-se-á o Género *Legionella* como pertencente à família *Legionellaceae* (Schulz *et al.*, 2005).

As bactérias do Género *Legionella* existem no ambiente, e são capazes de infectar protozoários e causar infecções em humanos.

As legionelas são bacilos de Gram negativo, apresentam mobilidade por um ou mais flagelos polares, não possuem as enzimas oxidase, nitrato redutase e urease, são

autotróficas e quimio-organotróficas e apresentam um crescimento lento, em média de três a sete dias em meios específicos (Schulz *et al.*, 2005).

O termo Legionelose é utilizado para descrever as infecções causadas pelas bactérias do Género *Legionella*, sendo a mais importante a pneumonia denominada de doença dos legionários (Goldman e Bennet, 2001).

As bactérias do Género *Legionella* estão largamente disseminadas por todos os ambientes sendo contudo o meio hídrico o seu habitat preferencial.

As Legioneloses são o resultado da interacção entre bactéria, ambiente e hospedeiro (Marques, 1997).

Relativamente ao hospedeiro, as estirpes de *Legionella* causam também doença em indivíduos saudáveis. No entanto, as infecções graves e de evolução fatal são de maior risco nos grupos particularmente susceptíveis à infecção, *i.e.* os denominados hospedeiros ideais, que se podem definir em termos de: população de alto risco (indivíduos com imunodeficiência severa, transplantados, indivíduos sujeitos a terapêuticas de uso prolongado de cortiesteróides); população de risco médio (indivíduos que sofrem de doença pulmonar crónica obstrutiva, doença cardíaca crónica, insuficiência renal, pacientes transplantados). A estes factores podem associar-se outros como a idade (há maior incidência de infecção em indivíduos com idade superior a 30 anos, sendo rara em pessoas com menos de 20 anos), o género (há um maior número de homens que contraem a doença do que mulheres).

A exposição a água contaminada em meio hospitalar, zonas industriais e hoteleiras, estâncias termais, favorece a propagação da bactéria e, por consequência, aumenta o risco de infecção.

A espécie *Legionella pneumophila* é aeróbia, incapaz de hidrolisar gelatina ou produzir urease, é não fermentativa, oxidase e catalase positiva e produz β -lactamases. Requer a presença de L-cisteína e iões ferro para crescer. (Ferreira, 2007).

A principal característica histopatológica da infecção é uma pneumonia lobar confluyente, com lesões de alveolite e bronquiolite (Marques *et al.*, 2003).

Dentro desta patologia dois tipos de quadro clínico são descritos: a Febre de Pontiac e a Doença dos Legionários.

Em Portugal a doença foi detectada pela primeira vez em 1979 e pertence à lista de DDO desde 1999. Desde então, e até ao final de 2008, foram notificados 522 casos, predominantemente associados a alojamentos em unidades hoteleiras (Fernando, A. *et al.*, 2010).

Portugal pertence, desde 1986, ao Grupo Europeu para o Estudo de Infecções por *Legionella*, (EWGLI), com o objectivo de assegurar a vigilância da Doença dos Legionários na Europa. A partir de 2004, foi implementado o Programa de Vigilância Epidemiológica Integrada da Doença dos Legionários – Notificação Clínica (Circular Normativa N°05/DEP) e Investigação Epidemiológica (Circular Normativa N° 6/DT) (Fernando. A, *et al.*, 2010).

O trabalho aqui desenvolvido é de natureza teórica e baseia-se numa revisão bibliográfica sobre o tema Doença dos Legionários, resultante de uma proposta de trabalho que foi apresentada e que coincidiu com o interesse em aprofundar esta matéria cuja relevância e actualidade são manifestamente reconhecidas. A relevância deste tema justifica-se pela constatação de as infecções do trato respiratório inferior constituírem, actualmente, uma das maiores causas de morbidade e mortalidade no mundo. É de primordial importância a vigilância da Doença dos Legionários e a identificação de

surtos, de forma a implementar medidas de prevenção e controlo, enquadrando todos os elos epidemiológicos: o habitat aquático onde o organismo vive, a virulência da estirpe, as condições imunológicas do hospedeiro.

Foi efectuada uma revisão bibliográfica, com maior enfoque na consulta de artigos científicos. A revisão contempla resultados de pesquisas seleccionadas, com auxílio da base electrónica de dados bibliográficos *PubMed* do Repositório Institucional da Universidade Fernando Pessoa, do motor de busca *Google*, de livros na área da saúde relacionados com Bacteriologia, Microbiologia, Pneumologia e ainda com o contacto via e-mail com pesquisadores do Special Pathogens Laboratory em Pittsburgh.

Este trabalho de revisão bibliográfica reúne informações e dados dos últimos 30 anos, cuja referência bibliográfica mais antiga data de 1977 e a mais recente de 2010.

II – ETIOLOGIA

As bactérias *Legionella* são bactérias do ambiente capazes de infectar protozoários e de provocar infecções no ser humano.

Combater uma doença infecciosa obriga ao conhecimento dos factores que afectam a sobrevivência e o crescimento do microrganismo no ambiente. Assim sendo, dever-se-á saber como e porque é que a *L. pneumophila* consegue crescer e sobreviver em determinados ambientes, identificar as áreas de risco de colonização pneumophila, e tornar as medidas de controlo destes sistemas mais eficazes. (Bartram *et al.*, 2007).

Os mesmos autores referem que a ecologia de *L. pneumophila* ou seja, a forma como ela interage com seu ambiente natural e com outras espécies, auxilia na

compreensão dos factores que incentivam a sobrevivência, crescimento e propagação de *L. pneumophila* em sistemas de água artificial.

As bactérias do Género *Legionella*, encontram-se em ambientes aquáticos naturais e também em sistemas artificiais, como redes de abastecimento e distribuição de água, redes prediais de água quente e água fria, ar condicionado e sistemas de arrefecimento (torres de refrigeração, condensadores evaporativos e humidificadores) existentes em edifícios, nomeadamente em hotéis, termas, centros comerciais e hospitais. Surgem ainda em fontes ornamentais e tanques recreativos, como por exemplo jacuzis. São conhecidas cerca de 50 espécies de *Legionella*, sendo a *Legionella pneumophila* reconhecida como a mais patogénica. *Legionella pneumophila* é responsável por aproximadamente 90% das infecções. A maioria dos casos é causada pela *L. pneumophila* serogrupo 1. (Bartram *et al.*, 2007).

A *Legionella* é descrita de acordo com seguintes características: são bacilos de Gram negativo, com mobilidade por um ou mais flagelos polares, ausência das enzimas oxidase, nitrato redutase e urease, auxotróficas, necessitam de L-cisteína e ferro, quimio-organotróficas, utilizam os aminoácidos como fonte de energia e carbono, crescimento lento (3 a 7 dias). (Bartram *et al.*, 2007).

As *Legionellas* são muito exigentes do ponto de vista metabólico, não crescendo em meios de cultivo comum, sendo o meio mais utilizado, para o seu desenvolvimento, o ágar BCYE.

2.1. Factores que favorecem o desenvolvimento da bactéria

Considera-se que há factores que favorecem o desenvolvimento da bactéria, como sejam 1) a temperatura da água entre 20°C e 45°C (sendo a óptima entre os 35°C e 45°C), com pH entre 5 e 8 e a humidade relativa superior a 60% em zonas de reduzida

circulação de água (reservatórios de água, torres de arrefecimento, tubagens de redes prediais, pontos de extremidade das redes pouco utilizadas, etc); 2) a presença de outros organismos (como por exemplo: algas, amibas, protozoários) em águas não tratadas ou com tratamento deficiente; 3) a existência de um biofilme nas superfícies em contacto com a água, para o qual os processos de corrosão ou incrustação, a utilização de materiais porosos e de derivados de silicone nas redes prediais, potenciam o crescimento bacteriano.

2.1.1 Influência da temperatura da água

As bactérias de *Legionella* têm sido isoladas de sistemas de água quente até 66°C, no entanto, em temperaturas acima de 70°C são destruídas quase que instantaneamente (Dennis *et al.*, 1984; Dennis, 1988).

Kusnetsov, (1996) provaram que o crescimento de todas as espécies testadas diminuía a uma temperatura acima dos 44-45°C. As estirpes de *Legionella* estudados produziam dióxido de carbono até 51,6°C, sugerindo, que algumas enzimas respiratórias conseguiriam sobreviver a esta temperatura. Assim, os sistemas de água mais complexos, como a água quente de sistemas de canalização, o ar condicionado e banheiras de água quente (também conhecidas como jacuzis) necessitam de um controlo regular.

As Legionelas também já foram isoladas de rios congelados, lagoas e nascentes termais e fontes aquáticas nas proximidades de um vulcão (Bartram *et al.*, 2007).

Tison *et al.* (1983) e Yee *et al.* (1982) referem que estudos realizados, evidenciam que naturalmente *L. pneumophila* sobrevive e multiplica-se em água cuja

temperatura se situa entre 25°C e 45°C, sendo que a temperatura ideal é entre os 32 e os 42°C.

A este respeito Wadowsky *et al.* (1983) e Schulze-Robbecke *et al.* (1987) referem que, quando a temperatura cai abaixo de 37°C, a taxa de reprodução de bactérias diminui e há pouco ou nenhum aumento no número de bactérias abaixo de 20°C.

Para evitar infecção por *Legionella*, a temperatura recomendada para armazenamento e distribuição de água fria deve ser inferior a 25°C e, de preferência abaixo de 20°C (Bartram *et al.*, 2007).

Em estudos realizados em laboratório para estirpes mutantes de *Legionella* verificou-se que as bactérias podem sobreviver abaixo de 20°C, sob certas condições (Soderberg, et al 2004), *i.e.* as células sobrevivem por longos períodos em baixa temperaturas e depois proliferam quando a temperatura aumenta (Yu, 2000).

Segundo Yu (2000) a *L. pneumophila* é termotolerante e capaz de resistir a temperaturas de 50 ° C por várias horas. A identificação *L. pneumophila* em tanques de água quente, ou em rios poluídos com recurso à análise térmica cada vez mais enfatiza que a temperatura da água é um factor crucial para a colonização dos sistemas de distribuição de água.

2.1.2 Efeito de outros microrganismos

L. Pneumophila não consegue por si só proliferar em sistemas de água, consegue permanecer viva mas para o seu crescimento precisa de nutrientes que já lá existam ou que lhe sejam fornecidos (Bartram *et al.*, 2007).

Em estudos realizados utilizando água destilada estéril e água de torneira esterilizada, a *L. pneumophila* conseguiu sobreviver mas não se observou qualquer crescimento celular (Skaliy *et al.*, 1979). Mas em sistemas de cultura de alimentação contínua, semeados com microflora mista, proveniente de um sistema de água potável a *L. pneumophila* conseguiu proliferar quando alimentada apenas com água potável, filtrada e esterilizada (Lee *et al.*, 1991; Rogers, 1994).

Estes resultados mostram a importância da existência de nutrientes para a *L. pneumophila*, podendo ser fornecidos directa ou indirectamente por espécies de bactéria ou outros microrganismos na forma de constituintes orgânicos dissolvidos, através do excesso de produção de nutrientes orgânicos ou através da morte de microrganismos (Tesh *et al.*, 1981; Yee *et al.*, 1982; Stout *et al.*, 1985).

Estes resultados são consistentes com estudos que mostram que os aminoácidos são os principais nutrientes para o crescimento de *L. pneumophila* (Pine, 1979; Warren *et al.*, 1979; Wadowsky *et al.*, 1985).

A associação de *L. pneumophila* com microrganismos normalmente encontrados em sistemas aquáticos já foi bem documentada incluindo protozoários, *Fischerella* spp (cianobactéria) e outras bactérias. (Tesh *et al.*, 1981; Wadowsky *et al.*, 1983; Wadowsky *et al.*, 1985; Rowbotham, 1986).

2.1.2.1 Protozoários

A *L.pneumophila* é um parasita intracelular facultativo, sendo capaz de crescer em ambientes com condições alteradas, como por exemplo na presença ou na ausência de oxigénio. Por esta razão, os microrganismos mais importantes para a proliferação de *L. pneumophila* são os protozoários podendo mesmo multiplicar-se em 14 espécies diferentes de protozoários. (Bartram *et al.*, 2007), (figura 1).

Figura 1

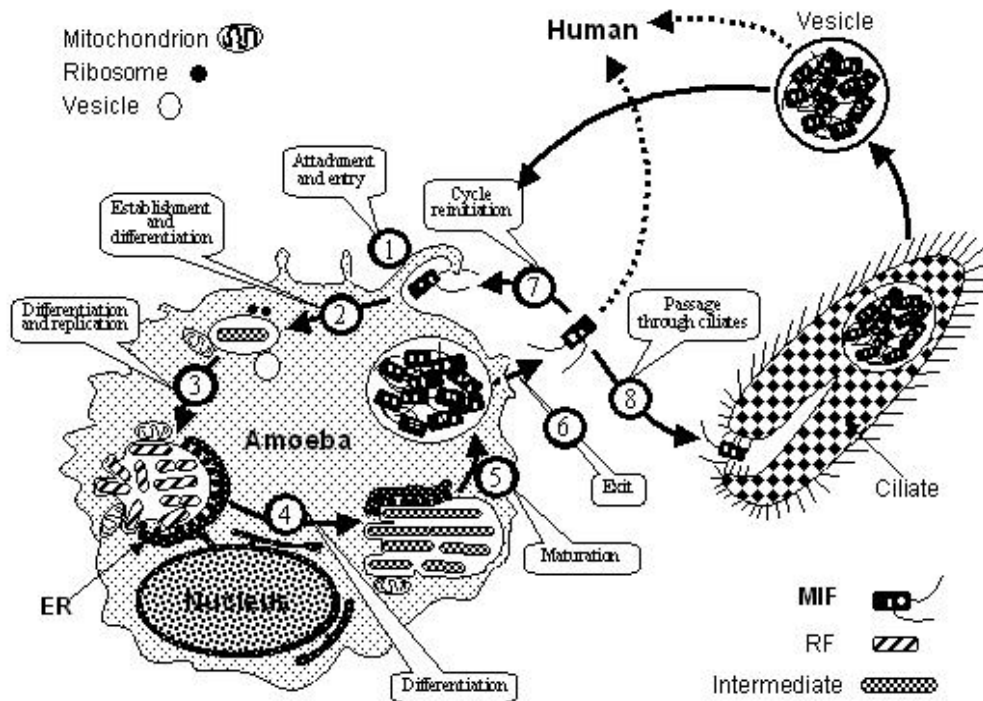


Figura 1- Ciclo de vida, crescimento e desenvolvimento da *Legionella pneumophila*. (adaptado de Garduño, R., 2007)

Estes são importantes para a sobrevivência e crescimento da *L. pneumophila* em ambientes artificiais e naturais, sendo detectados em muitos dos sistemas implicados como causadores de infecções por *L. pneumophila*. Contudo, nem todas as amibas podem ser hospedeiros, segundo Quinn *et al.* (1989).

Ainda a este propósito Bartram *et al.* (2007) referem que a *L. pneumophila* prolifera em protozoários como fagossomas intracelulares, onde possivelmente produzem proteases com capacidade citotóxica, causando destruição celular localizada.

Referem ainda que a *L. pneumophila* e muitos outros microrganismos têm diversos mecanismos para conseguir sobreviver em ambientes adversos como temperaturas extremas ou a falta de nutrientes, através da formação de um biofilme. A formação destes biofilmes acontece num vasto número de superfícies, seja em ambientes naturais ou artificiais, razão pela qual constituem um problema quanto à presença de *L. pneumophila*.

A aderência às superfícies ocorre através de uma substância extracelular secretada pelas células. Esta substância (glicocálice) é uma matriz polissacarida polianiónica hidratada, que é produzida por polimerases fixadas aos lipopolissacarídeos, que compõem a parede celular (Morton, 1998).

Um dos exemplos porque se diz que o biofilme é importante na *L. pneumophila* é a ressuspensão dos microrganismos do biofilme dentro dos sistemas de água, que ocorre por stress físico, causado simplesmente pelo movimento da água durante a formação do biofilme. (Truler *et al.*, 1982; Taylor *et al.*, 1985)

Esta circunstância permite que as porções ressuspendidas possam depois colonizar secções diferentes dos sistemas de água. (Rowbotham, 1980).

2. 1. 3. Formação do Biofilme

Biofilmes são comunidades de microrganismos incorporados numa matriz de exopolímeros (Costerton *et al.*, 2002). Esta comunidade pode ser constituída por bactérias, fungos, protozoários como amebas, etc. (figura 2)

Figura 2

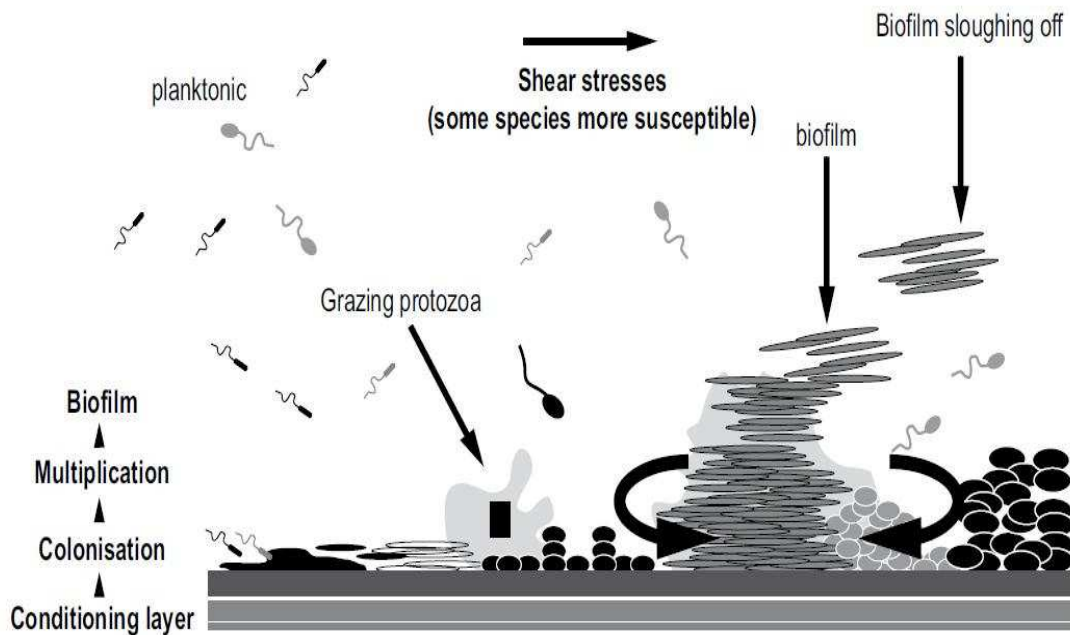


Figura 2 – **Formação do biofilme** (Bartram, J. et al., 2007)

Algumas estirpes de *Legionella*, incluindo *L. bozemanii* e *L. pneumophila*, são capazes de formar biofilmes com uma única espécie ou colonizar biofilmes com multi-espécies. (Rogers, 1994; Murga, 2001; Fields, *et al.*, 2002)

Estes biofilmes podem fornecer protecção à *Legionella*, podendo esta resistir e sobreviver, especialmente durante a desinfecção. (Green & Pirrie, 1993; Rogers, 1994; Murga, 2001).

Recentemente, foi demonstrado que a *Legionella* foi capaz de usar células bacterianas mortas de biofilmes como fonte de nutrientes para se multiplicar. (Temmerman *et al.*, 2006).

De acordo com Ferreira, M. *et al.*, (2007), os biofilmes, que podem incluir *L. pneumophila*, conseguem formar-se nas superfícies de sistemas de ar condicionado e sistemas de água, tendo maior probabilidade de ocorrência em áreas com fluxo de água reduzido e onde a água é mais propensa a ficar estagnada. O biofilme facilita a troca gasosa e de nutrientes entre o meio e as bactérias e actua como mecanismo de protecção para os microrganismos que lá crescem contra biocidas, contra aumentos de temperatura e contra tentativas de remoção física como em áreas corroídas e desgastadas.

Dentro do biofilme, os microrganismos encontram-se interligados com uma matriz extracelular que fornece, estrutura, estabilidade, nutrientes e protecção do substrato onde o biofilme se encontra e cresce. Os gradientes de pH, nutrientes e oxigénio dentro da matriz variam conforme as necessidades dos diferentes microrganismos (Wimpenny *et al.*, 2000; Allison, 2003).

As populações de *L. pneumophila* que crescem no biofilme são mais resistentes do que as bactérias da mesma espécie que crescem por si só dentro de um sistema de água (Barker, 1992; Cargill, 1992; Surman, *et al.*, 1993; Santegoeds, *et al.*, 1998).

Como já foi referido, as bactérias que crescem em biofilmes são mais resistentes a tratamentos com biocidas (Ridgway *et al.*, 1982; Kuchta, 1985; King, 1988) o que, permite a proliferação de possíveis patogénios (LeChevallier, 1988; Wright, 1991).

Assim sendo, a presença dos biofilmes é um factor muito importante para o crescimento e sobrevivência da *L. pneumophila* em sistemas de água.

Segundo Oleinick (1977) a presença de nutrientes complexos nos biofilmes levou muitos pesquisadores a postular teorias acerca da possível sobrevivência e

crescimento de *L. pneumophila* fora de um hospedeiro. A cicloheximida que inibe a síntese proteica em todas as células eucarióticas foi adicionada em altas concentrações ao meio, mostrando que o crescimento ocorreu mesmo na ausência de protozoários, tendo as contagens de *L. pneumophila* aumentado.

Por outro lado, Murga, (2001) afirmam que o crescimento de *L. pneumophila* em biofilme se devia unicamente à multiplicação intracelular das amibas.

No entanto, Fields *et al.* (2002) referem, que a *Legionella* e protozoários coabitam nos biofilmes, tornando os sistemas de água um reservatório de contaminação, que pode persistir por décadas.

2.1.3.1 Factores de risco para o crescimento de um biofilme

A matriz polimérica que mantém a coesão do biofilme, denominada EPS (substâncias poliméricas extracelulares), é possivelmente uma das responsáveis pela persistência das infecções associadas a estes agregados, podendo impedir a penetração de agentes antimicrobianos e até mesmo proteger os microrganismos de antibióticos, uma vez que se tem vindo a demonstrar a maior resistência a antibióticos de células bacterianas em biofilmes, quando comparadas com células individualizadas da mesma espécie. (Ferreira, M. *et al.*, 2007).

Como refere Bartram *et al.* (2007) são muitos os factores que aumentam a probabilidade de ocorrência do biofilme de entre dos quais se destacam: i) a presença de nutrientes; ii) o desgaste e corrosão; iii) a temperatura da água; iv) a água estagnada ou fraco fluxo de água nos entroncamentos dos canos dos sistemas e nos tanques de armazenagem.

O desgaste físico e a corrosão num sistema fazem aumentar a área de superfície de contacto permitindo a formação de micronichos que ficam protegidos dos desinfetantes utilizados para desinfecção dos sistemas de água. Faz aumentar também a concentração de nutrientes e factores de crescimento da *Legionella* como o ferro. Se a formação de biofilmes não for controlada, pode ocorrer o entupimento das condutas ocasionando áreas com fluxo reduzido de água, que promove a estagnação e o risco aumentado de crescimento de *Legionella*.

A presença do biofilme e de fauna protozoária tem efeito protector nas bactérias do sistema, aumentando a concentração de material orgânico e baixando a os níveis residuais de desinfetante.

Também os materiais utilizados na montagem dos sistemas podem aumentar o risco de crescimento dos biofilmes, podendo mesmo melhorar a proliferação de microrganismos incluindo a *Legionella* (Rogers *et al.*, 1994).

Compostos naturais, como juntas de borracha, fornecem um substrato rico em nutrientes, adequado para a colonização por microrganismos. Os microrganismos conseguem inclusive crescer nas superfícies de sistemas revestidos com cobre, que tem uma resistência inata à colonização, se a superfície tiver sido condicionada por corrosão (Bartram *et al.*, 2007).

III – TRANSMISSÃO E PATOGÉNESE

A Doença dos Legionários pode ser contraída pela inalação de aerossóis que contenham o microrganismo ou por aspiração pulmonar de aerossóis de água contaminada.

A teoria que foi assumida pelos investigadores do CDC no primeiro surto da doença e na qual a transmissão da *L. pneumophila*, seria feita por inalação de aerossóis contaminados. O primeiro estudo que suporta a teoria da aerossolização foi apresentada por investigadores do CDC que reportaram um surto de Doença dos Legionários em Memphis. Em 1978, 39 pessoas apresentaram-se com Doença dos Legionários hospitalar. Quatro casos tinham tido contacto limitado com o exterior e o sistema auxiliar de ar condicionado foi temporariamente associado com o surto. (Dondero *et al.*, 1980).

Outro caso reportado por investigadores do CDC em 1985 num surto num Hospital de Rhode Island. Foram identificados 15 casos durante um período de 10 semanas (Garbe *et al.*, 1985) O subtipo de antigénio monoclonal isolado de uma unidade de ar condicionado foi o mesmo isolado a partir dos pacientes.

São muitos os estudos que limitam a amostragem às fontes de ar condicionado e falham em considerar outras fontes ambientais como causadores de infecção. Contra esta teoria existem casos bem documentados que mostram vários surtos em que a amostragem das torres de arrefecimento se mostrava negativa (Politi *et al.*, 1979; Broome *et al.*, 1979). Assim sendo, a aceitação generalizada de que as fontes de ar condicionado são a fonte disseminadora, parece estar incorrecta.

Desde que foi reconhecida em 1985, tem aumentado a importância dos sistemas de água potável como reservatórios da doença (Stout *et al.*, 1982).

A capacidade da *Legionella pneumophila* causar a doença depende da sua multiplicação no interior dos macrófagos pulmonares, provocando lesão pulmonar, responsável pelo aparecimento dos sintomas, entre dois a dez dias após o início da infecção. As bactérias produzem citotoxinas, destroem os macrófagos e são libertadas no meio extracelular, recomeçando o ciclo infeccioso intracelular em outro macrófago (Goldman e Bennet, 2001).

Segundo Yu (2000) ao atingir as vias aéreas inferiores, as legionelas infectam os macrófagos alveolares, permanecendo dentro de vacúolos fagocíticos. Por interferirem no processo de fusão dos vacúolos aos lisossomas, elas conseguem multiplicar-se progressivamente no interior dos macrófagos.

Quando o macrófago lisa, liberta os bacilos nos tecidos circunjacentes, os quais são novamente fagocitados por outros macrófagos.

Ainda segundo o autor, esse processo é o iniciador da resposta inflamatória e dos infiltrados pulmonares característicos da Doença dos Legionários. Após a multiplicação intracelular das legionelas, ocorre infiltração do alvéolo por outros macrófagos, neutrófilos e hemácias, o que resulta em edema. As células inflamatórias infectadas libertam citocinas, responsáveis pelo desencadeamento de uma grave resposta inflamatória, característica da doença. A toxicidade sistémica é causada por mecanismo ainda desconhecido, porém acredita-se que esteja relacionada à produção de citocinas pró-inflamatórias.

O corpo humano tem dois componentes principais do sistema imunitário, a imunidade humoral, a partir da qual os anticorpos produzidos pelo corpo humano se ligam à *Legionella* e facilitam os processos de fagocitose pelos fagócitos e a imunidade mediada por células em que os fagócitos atacam, envolvem e matam o organismo. A maior defesa do hospedeiro contra a *Legionella* considera-se ser a imunidade mediada por células, mas a *Legionella* consegue muitas vezes escapar deste mecanismo de defesa (Bartram *et al.*, 2007).

Nos indivíduos infectados, ocorre produção de anticorpos que combatem a bactéria, assim como em pacientes com exposição subclínica, não sendo contudo considerados protectores. No entanto, a resposta imune celular pode conferir protecção contra infecções subsequentes. Outro mecanismo imune importante é a produção de

citocinas que activam os macrófagos e aumentam a taxa de ataque intracelular às legionelas. (Botet *et al.*, 2006).

3.1. Virulência

A virulência exprime-se através de factores fenotípicos ou genotípicos, que podem também ser influenciados pelo ambiente.

A *Legionella* é um patogénico intracelular facultativo que pode invadir e replicar no interior de amibas e, em humanos, no interior de macrófagos. Tanto as estirpes virulentas como as não virulentas são fagocitadas permanecendo intactas no interior dos macrófagos, onde as estirpes virulentas se podem multiplicar. (Ferreira, M. *et al.*, 2007).

Alleron (2006) e Steinert *et al.* (2002) referem que uma variedade de estruturas de superfície está implicada na patogénese da *Legionella*. O lipopolissacarídeo (LPS) está localizado na superfície da bactéria e intervêm na adesão de *Legionella* à mucosa respiratória. A proteína MOMP (proteína principal da membrana exterior) é uma porina, capaz de se inserir nas membranas, incluindo as das células hospedeiras, e de abrir canais que vão permitir a passagem de íões (Alleron (2006); Dowling *et al.* (1992); Gabay *et al.*, (1985)). Esta proteína liga-se igualmente aos receptores do complemento (CR1 e CR3) que se encontram à superfície dos monócitos humanos, favorecendo a fixação da bactéria à célula hospedeira. O pili de tipo IV é igualmente produzido pela *L. pneumophila*, intervindo no mecanismo de ligação à célula hospedeira. (Alleron (2006); Rossier e Cianciotto (2001); Soderberg *et al.*, (2004)).

Segundo Alleron (2008), para a *L. pneumophila* existem três genes que codificam os factores de virulência, sendo eles: *Icm*, *mip* e *ompS*. O primeiro é um sistema que está envolvido na virulência e multiplicação intracelular do microrganismo.

Os factores de secreção estão implicados na virulência, nomeadamente o sistema dot / icm (defective for organelle trafficking/intracellular multiplication). É o sistema de secreção mais importante, dedicado a facilitar a infecção intracelular. Trata-se de um sistema de secreção do tipo IV. (Sadosky e Shuman, 1994). O segundo tem importância no potencial de infecção de macrófagos, sendo o responsável pelo desenvolvimento da infecção por parte deste microrganismo. A proteína Mip (potenciador de infectividade macrófaga) codificada pelo gene mip é uma proteína de 24 kDa expressa na superfície da *L. pneumophila*, que é necessária para as fases iniciais da infecção intracelular das células hospedeiras (Doyle *et al.*, 2001). O terceiro *ompS* permite a ligação da *Legionella* aos macrófagos estimulando a fagocitose.

Não se sabe muito acerca da dose necessária para causar infecção nos humanos. Assume-se uma dose baixa, dado que a infecção pode alastrar-se por aerossóis gerados a distâncias superiores a 3,2 Km. Contudo, dada a relação virulência e baixa dose de infecção era de esperar mais casos de contágio, facto que leva a crer a existência de um maior número de factores determinantes na infecção.

A *L. pneumophila* consegue infectar e replicar-se dentro dos vários protozoários encontrados no solo e na água. A virulência da *Legionella* aumenta quando se replica em amibas. As diferentes estirpes de *L. pneumophila* diferem claramente em virulência. Estirpes múltiplas podem colonizar sistemas de distribuição de água mas apenas algumas estirpes conseguem causar infecção em pacientes expostos à água. Apesar de já se terem identificado 50 espécies diferentes de *Legionella*, menos de metade destas têm sido ligadas a doença sintomática no Homem. *L. pneumophila* é a mais patogénica, responsável por mais de 90% dos casos de legionelose, seguida por *L. micdadei*. Apesar de mais de 14 serogrupos de *L. pneumophila* estarem identificados, o serogrupo 1 é responsável por mais de 80% dos casos reportados aos EUA, de Legionelose causada por *L. pneumophila*. (Stout *et al.*, 1997).

IV – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As infecções por *Legionella* podem manifestar-se através de um espectro clínico muito variável, que pode ir desde formas assintomáticas até a quadros de pneumonia grave. A variabilidade clínica desta infecção depende de vários factores tais como o tamanho do inóculo, a patogenidade da estirpe, a forma de transmissão e a factores directamente ligados com o hospedeiro. (Marques et al., 2003)

As formas clínicas mais comuns são, de acordo com Goldman *et al.* (2001), a Febre de Pontiac, forma respiratória não pneumónica, que se caracteriza por um período de curta incubação e também curta duração de sintomas, que podem incluir mal-estar geral, dores de cabeça, febre. Não há necessidade de tratamento com antibióticos e apresenta baixa taxa de mortalidade. A Doença dos Legionários, que pertence ao grupo de pneumonias atípicas, com necessidade de confirmação de diagnóstico por métodos laboratoriais, isto porque é uma doença que abarca um largo espectro de manifestações clínicas. Trata-se de uma pneumonia de início súbito, com febre alta, mialgias, cefaleias, tosse não produtiva ou expectoração não purulenta. (Marques, 1999).

A Legionelose extrapulmonar é rara, mas as manifestações clínicas são muitas vezes dramáticas. Já que o nível de suspeita é baixo, estas infecções podem facilmente ser descuidadas. A *Legionella* tem sido implicada em casos de sinusite, celulite, pancreatite, peritonite e pielonefrite. A disseminação aparentemente ocorre por bacteremia. Os casos extrapulmonares mais comuns são os relacionados com o coração, tendo sido associados com miocardite, pericardite, síndrome pós-cardiotomia e endocardite associada a válvulas protéticas. Muitos destes casos são adquiridos no hospital. Interessantemente, em muitos dos casos não existe pneumonia evidente, pelo que as infecções cardíacas podem ter sido causadas pela entrada de água contaminada em feridas pós-operatórias do esterno ou em algum local de inserção de tubos mediastinais (Stout *et al.*, 1997).

As radiografias torácicas não podem ser usadas para distinguir doença dos legionários a partir de outras pneumonias. Em alguns casos de infecções hospitalares, febre e sintomas do trato respiratório precederam o aparecimento de infiltrado na radiografia torácica. Efusão pleural pode ser vista em um terço dos pacientes. Em pacientes imunodeprimidos, especialmente aqueles que tenham recebido cortiesteróides, pode-se observar opacidades nodulares bilaterais bem distintas, que podem expandir ou cavitatar (Stout *et al.*, 1997).

V – DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A Doença dos Legionários provoca infiltrados alveolares que habitualmente evoluem para a consolidação. O derrame pleural, geralmente de pequeno volume, é comum e pode constituir a única expressão radiográfica normal no início da doença. Os resultados de múltiplos exames laboratoriais podem ser inespecíficos podendo os valores estar anormais, entre eles: proteinúria, piúria, hematúria, leucocitose, leucopenia, trombocitopenia, hiponatremia, hipofosfatemia, hiperbilirrubinemia, elevação da creatina quinase (isoenzima MM) e mioglobínúria. Provas de função hepática, alanina transaminase, aspartato transaminase e fosfatase alcalina anormais não são frequentes. (Evenson, 1998; Goldman e Bennett, 2001).

Vários testes laboratoriais estão disponíveis para o diagnóstico de *Legionella*, incluindo cultura, aglutinação em lâmina com partículas de látex, rádio-imunoensaio, imunofluorescência directa e indirecta e enzima-imunoensaio. (Evenson, 1998).

O diagnóstico definitivo da doença dos legionários é estabelecido através da cultura do microrganismo. A *Legionella* não cresce nos meios bacteriológicos de rotina utilizados nos laboratórios hospitalares. Para o cultivo de *Legionella*, de amostras do trato respiratório, são necessários meios como o *Buffered Charcoal Yeast Extract Agar* (BCYE), suplementado com agentes antimicrobianos, com sensibilidade de 80% e

especificidade da cultura de 100%. O isolamento da *Legionella* permite a classificação microbiológica e a sub-tipagem por estudo do DNA, permite estabelecer ligações epidemiológicas e até mesmo a origem da infecção. (Sabria e Yu, 2002).

Várias pesquisas para o melhoramento dos meios de cultura, utilizados no isolamento de *Legionella*, têm sido realizadas, como a suplementação do meio BCYE com fluconazol (80 µg/mL) e anisomicina (40 µg/mL), para inibir o crescimento de leveduras que impedem a recuperação de *Legionellas* presentes em amostras clínicas de expectoração. (Schulz, 2005).

Raramente se consegue um bom resultado de cultura para *Legionella* utilizando-se expectoração como amostra. A melhor escolha inclui líquido pleural, biopsia pulmonar, aspirado transtraqueal e amostras provenientes de broncoscopia, todas obtidas por procedimentos invasivos.

Em virtude disso, o diagnóstico é, na maioria das vezes, confirmado através de estudo sorológico, utilizando a técnica de imuno-fluorescência indirecta. Outro teste comercializado permite a detecção de antígeno de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 na urina. Este teste tem uma sensibilidade entre 78 e 91%, sendo a especificidade do mesmo de 99%. (Palencia, 2010).

Ambos os testes, imuno-fluorescência indirecta e detecção de antígenos na urina, demonstraram taxas de 99% e maiores que 90% de especificidade e sensibilidade, respectivamente (Evenson, 1998).

Muitos testes comerciais para detecção de *Legionella* já estão disponíveis. Esses são baseados no método de imuno-fluorescência directa, utilizando anticorpos marcados com isotiocianato de fluoresceína e apresentam uma sensibilidade que varia de 25 a 75% e uma especificidade superior a 95%. Resultados falsos-positivos

utilizando testes diagnósticos para *Legionella* já foram relatados, principalmente causados por esporos de *Bacillus cereus*. Quando o material examinado pelo método directo é do trato respiratório, podem ocorrer reacções cruzadas com outras bactérias, como, por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa* (Flournoy, (1988); Evenson, (1998); Oplustil, (2000). Métodos de detecção de antígenos urinários de *Legionella* através de imuno-ensaio, utilizando anticorpo policlonal, também têm sido comercializados e parecem ser eficientes, principalmente quando utilizados para triagem de rotina em populações de alto risco, visando um rápido diagnóstico e início da terapia antimicrobiana. (Kashuba e Ballow, 1996).

Um estudo prospectivo com 155 pacientes de clínicas e hospitais afiliados à Universidade de Louisville demonstrou a possibilidade de pesquisa de *Legionella sp.* em amostras obtidas com zaragatoa da garganta, utilizando a reacção em cadeia da polimerase - PCR. Os autores concluem que esse método é rápido, específico e sensível, podendo simplificar muito o diagnóstico de infecções do trato respiratório inferior causadas por *Legionella sp.*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydia pneumoniae*.

A sequência seleccionada para o diagnóstico de *Legionella* foi um fragmento de 108 pares de base (bp) do gene 5S rRNA, cuja detecção foi confirmada por comparação a padrões moleculares (Ramirez, 1996).

Não há assim um único teste laboratorial totalmente eficaz no diagnóstico de legionelose. A cultura complementada pela imunofluorescência directa ou pesquisa de antígenos na urina são os procedimentos recomendados, segundo diversos autores. (Oplustil, 2000; Franzin, 2002; Palencia, 2010).

VI – TERAPÊUTICA

O tratamento da Doença dos Legionários faz-se essencialmente com a administração de antibióticos, sendo que o prazo para início da sua toma é determinante na possibilidade de cura da doença.

A demora na administração da terapêutica apropriada nos casos de pneumonias causadas por *Legionella* pode aumentar significativamente a mortalidade. (Stout e Yu, 1997).

A eritromicina tem sido, historicamente, o medicamento de escolha no tratamento das infecções causadas por *Legionella sp.* O pouco uso da eritromicina actualmente deve-se aos seus efeitos colaterais, como a intolerância gastrointestinal e ototoxicidade. Recentemente, novos macrólidos e quinolonas são os antibióticos de escolha, especialmente a azitromicina que tem demonstrado maior actividade “*in vitro*” e maior absorção intracelular no tecido pulmonar. (Schulz et al., 2005; Costa, 2009).

Num primeiro estudo observacional, com 292 pacientes que se apresentaram com *L. pneumophila* durante o surto de Murcia em Espanha, os pacientes foram estratificados segundo a gravidade da pneumonia. O número de pacientes que foram tratados com macrólidos n = 65 e o número de pacientes que foram tratados com levofloxacina n = 143. (Blazquez et al., 2005). Num segundo estudo observacional com 1934 casos de PAC em adultos não imuno-comprometidos, 139 casos foram identificados tendo como causa a Doença dos Legionários e, destes casos os pacientes foram separados e identificados por terapia: macrólidos n = 80 e levofloxacina n = 40. (Mykietiuk et al., 2005). Um terceiro estudo observacional, incluiu 76 pacientes que receberam terapia por macrólidos, 54 pacientes, que receberam terapia por fluoroquinolonas (50 pacientes com levofloxacina e 4 pacientes com ofloxacina). (Sabria et al., 2005).

Nos três estudos não foram encontradas diferenças significativas, quanto à idade, sexo, fumadores ou não fumadores, DPC e gravidade da pneumonia para os dois grupos de tratamento (macrólidos e quinolonas). O tempo para a redução da febre foi notavelmente inferior em pacientes que receberam levofloxacina em dois estudos (Mykietiuk *et al.*, 2005; Sabria *et al.*, 2005). O tempo médio foi de 97,7h para pacientes que receberam macrólidos e 66,6h para pacientes que receberam levofloxacina nos três estudos. O tempo de hospitalização foi significativamente menor em pacientes que receberam tratamento com levofloxacina nos três estudos. O tempo médio de hospitalização nos três estudos foi de 9.0 dias para pacientes que receberam macrólidos e 6,6 dias para os pacientes que receberam levofloxacina. Os pacientes que receberam levofloxacina tiveram menos complicações (8,4%, 20/237), como efusão pleural, empiema, cavitação, choque séptico e ventilação mecânica (devido à falta de ar), do que aqueles que receberam macrólidos (18,5%, 41/221) (Blazquez *et al.*, 2005; Sabria *et al.*, 2005).

Nos três estudos, a incidência de reacções adversas relacionadas com o tratamento foi de 23,4% (34/145) para pacientes que receberam macrólidos e 12,5% (23/183) para pacientes que receberam levofloxacina. A flebite foi a reacção adversa mais frequente, mas nenhum paciente teve de abandonar a terapia como consequência.

A mortalidade geral foi de 4,5% (10/221) para o grupo dos macrólidos e 2,1% (5/237) para o grupo das quinolonas.

Os resultados destes três estudos observacionais (Blazquez *et al.*, 2005; Sabria *et al.*, 2005; Mykietiuk *et al.*, 2005) que totalizaram 458 pacientes com doença dos legionários, sugerem que a levofloxacina pode produzir uma resposta clínica superior comparativamente com os macrólidos quando à redução da temperatura corporal e redução de estadia hospitalar, contudo a taxa de mortalidade foi similar.

Conclui-se que as vantagens da escolha das quinolonas sobre os macrolidos para o tratamento de Doença dos Legionários em pacientes não imuno-comprometidos com pneumonia adquirida na comunidade se resumem à redução do tempo para diminuição de febre, maior estabilidade clínica em tempo mais reduzido e redução no tempo de internamento hospitalar (Botet, *et al.*, 2006).

VI I- PREVENÇÃO

Não há nenhum protocolo de prevenção que seja mundialmente aceite, especialmente ao nível da prevenção das Instituições de Saúde. Em Portugal, os protocolos em vigor estão descritos no protocolo de prevenção do Instituto Português de Qualidade estabelecidas pela OSHA (Occupational Safety and Health Administration), HPA (Health Protection Agency), EWGLI (European Working Group for *Legionella* Infections), etc.

Considera-se como princípio estratégico fundamental, evitar a criação de condições que propiciem a eventual formação de nichos, capazes de favorecerem a multiplicação de bactérias do género *Legionella*, nos sistemas e redes de água dos empreendimentos turísticos. Uma vez a água contaminada o processo de tratamento é, sem dúvida, muito mais difícil. Se é certo que é possível reduzir os riscos de transmissão da doença, também é verdade que é extremamente difícil impedir a presença da bactéria nos sistemas. As medidas enunciadas devem ser consideradas flexíveis e necessariamente gerais que observem a legislação em vigor, em particular no que se refere ao Decreto-Lei 40/90 de 6 de Fevereiro e Decreto-Lei 118/98 de 7 de Maio.

Sendo que aqueles que representam maiores preocupações são os sistemas de abastecimento de água, as medidas de prevenção a adoptar são diferentes consoante o edifício e instalações. Para os Centros de Saúde e Hospitais as regras mais aceites são as do Allegheny County Health Department (Anexo 1), para as redes prediais e restantes

empreendimentos comunitários (como hotéis, jacuzis, etc.) as regras adoptadas estão descritas no guia do Instituto Português de Qualidade (Anexo 2).

Como síntese, considera-se como primeira medida preventiva a limitação ou eliminação da contaminação das águas por *Legionella*. Medidas de rigoroso controlo dos sistemas de distribuição de água e refrigeração do ar, para evitar a estagnação e garantissem um bom fluxo de água; limitar o uso de condutas de material passível de processo de corrosão; controlar a temperatura da água em níveis não potenciadores da propagação da *Legionella*; criar sistemas de higienização e limpeza que, na impossibilidade de erradicar a *Legionella*, limitem os seus níveis de concentração nos circuitos de sistemas de conduta de água ou refrigeração de ar.

VIII – EPIDEMIOLOGIA

A Doença dos Legionários descrita pela primeira vez em Portugal em 1979 (publicação em boletim da OMS) tem vindo a adquirir cada vez maior importância, registando-se em Portugal, um aumento de incidência de 0,1 casos por 100 000 habitantes em 1997 para 0,5 casos por 100 000 habitantes em 2005. (Correia *et al*, 2001)

Incluída na lista das Doenças de Declaração Obrigatória (DDO) desde 1999 (Portaria n.º 1071/98, de 31 de Dezembro), a notificação clínica de um caso (provável ou confirmado) é da responsabilidade de todos os médicos quer exerçam a actividade no Serviço Nacional de Saúde, quer no sector público ou privado.

Tendo-se revelado insuficiente a monitorização da Doença dos Legionários apenas pelo sistema de notificação das doenças transmissíveis de declaração obrigatória, em 2004, foi criado o Programa de Vigilância Epidemiologia Integrada da Doença dos Legionários, através da Circular Normativa N.º 05/DEP de 22/02/2004 da Direcção-

Geral da Saúde. Trata-se de um programa de vigilância epidemiológica integrada, que prevê a notificação clínica dos casos às autoridades de saúde e a notificação laboratorial ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (que coordena esta componente com a colaboração do Laboratório de Microbiologia de Hospital de Santa Cruz e o Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa).

Para investigação clínica e eventual notificação, são alvo deste programa, todos os casos de infecção respiratória aguda em que, por razões clínicas e/ou epidemiológicas, se coloque a hipótese de diagnóstico de Doença dos Legionários.

À notificação dos casos segue-se obrigatoriamente, a respectiva investigação epidemiológica, da responsabilidade da autoridade de saúde, através da aplicação de um inquérito epidemiológico com duas componentes: o estudo epidemiológico para confirmação do caso, sua melhor caracterização e procura de casos relacionados, e o estudo ambiental completo de possíveis fontes de infecção, como consta da Circular Normativa N.º 06/DT de 22/02/2004, da Direcção-Geral da Saúde.

Na Região Norte foram notificados 9 casos de doença dos legionários em 2002, 34 em 2003, 17 em 2004, 31 em 2005 e 44 em 2006, sendo o Porto o distrito com maior número de casos notificados ao longo dos quatro anos referidos.

Portugal integra o Grupo de Trabalho Europeu para o Estudo de Infecções por *Legionella* (EWGLI - European Working Group for *Legionella* Infections) e é um dos centros colaboradores da Rede Europeia de Vigilância da Doença dos Legionários associada a Viagens (ELDSNET - European Legionnaires Disease Surveillance Network).

Em Portugal Continental, no ano de 2008, ocorreu uma taxa de incidência de 7,88%. Comparativamente com outros países do EWGLI, Portugal Continental apresenta uma taxa de incidência mais baixa que a Suíça (28,6%), Espanha (27,3%), Dinamarca (23,3%), França (19,9%), Itália (18,6%) e mais elevada que a Inglaterra (6,6%), Alemanha (6,3%), Finlândia (2,8%), Irlanda (2,6%) e iguala-se à Noruega (7,9%).

IX – CONCLUSÃO

A OMS reconhece que as doenças respiratórias são a principal causa de morte no Mundo. Elas são responsáveis por 18,7% dos óbitos, ao passo que as doenças isquémicas das coronárias são responsáveis por 12,7% e as doenças cérebro – vasculares por 8,7%. Estima-se que em 2020 a doenças respiratórias causem 11,9 milhões de mortes. Na Europa, as doenças respiratórias são a 2ª causa de morte, depois das doenças cardio–vasculares, e os custos estimados para a Sociedade por essas doenças atingem os 102 biliões de euros, 48% dos quais em dias de trabalho perdidos (European Respiratory Society, 2008).

A Doença dos Legionários constitui um problema de saúde pública, que tem uma clara relação com a contaminação da água pela *Legionella* em sistemas de água de grandes edifícios, sobretudo quando esses sistemas estão mal concebidos, mal instalados ou com má manutenção. Conclui-se que as condições ambientais que favorecem a colonização dos sistemas artificiais de água (redes prediais, sistemas de canalização, etc.) por bactérias do género *Legionella* são essencialmente a temperatura, a estagnação e a existência de nutrientes na água.

No entanto, no nosso país, e apesar da morbilidade e mortalidade associadas à Doença dos Legionários e à Febre de Pontiac serem uma realidade, o número de afectados é de difícil cálculo, principalmente porque grande parte das ocorrências,

esporádicas ou epidémicas, não são correctamente diagnosticadas ou notificadas e, portanto, não constam das estatísticas de Saúde Pública. (Mansilha *et al.*, 2007).

Mansilha *et al.*, (2007) defende, que para além da legislação já existente, urge alargar o seu quadro de acção à análise periódica quanto à colonização de ambientes hídricos por bactérias do género *Legionella* com consequente implementação obrigatória de medidas de higiene a construções de instalações e equipamentos de fornecimento de água potável, de uso doméstico e industrial, a exemplo da legislação que abrange actualmente as estâncias termais e sistemas de climatização.

A aplicação correcta da legislação, assim como um processo periódico de fiscalização e a reportação de casos isolados ou de carácter epidémico aos serviços de saúde competentes, farão funcionar uma acção em rede, capaz de construir, de forma sistematizada, um processo de prevenção e controlo da doença.

Desde a descoberta da *Legionella pneumophila* como a causa de um surto epidémico na Convenção da Legião Americana em Filadélfia, tem ficado aparente que a Doença dos Legionários é uma forma de pneumonia adquirida na comunidade e no meio hospitalar (Macfarlane *et al.*, 1982; Muder *et al.*, 1983). Apesar do sucesso na definição da doença e no isolamento do Género *L. pneumophila* pelos investigadores do C.D.C, dos enormes avanços nas técnicas microbiológicas e do conjunto de dados recolhidos acerca da epidemiologia e ecologia da *Legionella*, o modo exacto da transmissão ainda não é completamente conhecido, sendo a inalação de aerossóis e a aspiração de água contaminada, os dois modos de transmissão mais comuns.

BIBLIOGRAFIA

Allegheny County Helth Department, (1997). *Approaches of prevention and control of Legionella infection in Allegheny county helth care facilities*. Allegheny County Helth Department.

Alleron, L. (2008). *Etude de L'état viable non cultivable chez Legionella pneumophila lens après traitements monochloramine et thermique*. Poitiers, Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées.

Allison, D.G. (2003). *The Biofilm matrix Biofouling*. 19, pp.139-150.

Barker, J. (1992). Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, pp. 2420–2425.

Bartam, J., Chartier, Y., Lee, J., Pond, K. e Suman-Lee, S. (2007). *Legionella – and the prevention of legionellosi*. WHO Library.

Blazquez-Garrido, M. e Espinosa, J. (2005). Antimicrobial chemotherapy for Legionnaire's disease: levofloxacin versus macrolides. *Clin Infect Dis*, 40, pp.800–806.

Botet, P. e Yu, V. (2006). *Legionella*: macrolides or quinolone? *Clin Microbio Infect*, 12 (3), pp. 25-30.

Broome, C. e Frase D.W. (1979). Epidemiological aspects of legionellosis. *Epidemiol Rev*, 1, pp. 1-16.

Cargill, K. L. (1992). Effects of culture conditions and biofilm formation on the iodine susceptibility of *Legionella pneumophila*. *Canadian Journal of Microbiology*; 38, pp. 23–429.

Dowling, J. N., Saha, A. K. & Glew, R. H. (1992). Virulence factors of the family *Legionellaceae*. *Microbiological reviews*, 56, pp. 32-60.

Correia, A. M., Gonçalves, G., Reis, J., Cruz, J. e Castro, J.A. (2001). An Outbreak of Legionnaires' disease in northern Portugal. *Euro Surveill*, 6 (7), pp. 228.

Costa, R. (2009). *Legionelose – Revisão*. São Paulo, Instituto Qualittas/UCB.

Costerton, J. e Donlon, R. (2002). Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, American Society Microbiology, 15 (2), pp. 167-193

Dennis, P.; Green, D. e Jones, B. (1984). A note on the temperature tolerance of *Legionella*. *Journal of Applied Bacteriology*, 56, pp. 349–350.

Dennis, R.(1988). Legionnaires' disease - preventative maintenance. *Journal of the Institute of Hospital Engineering*, 42, pp. 14–15.

Dondero, T.J.Jr., Rendtorff, R.,Mallison, G., Weeks, R., Levy, J.,Wong, E. e Schaffner, W. (1980). An outbreak of Legionnaires' disease associated with a contaminated air-conditioning cooling tower. *N. Eng\J. Med*, 302 (7), pp. 365-370.

Doyle, R., Cionciotto, N., Banvi, S., Manning, P. e Heuzenroeder, M. (2001). Comparison of Virulence of *Legionella longbeacha*. *Infection and Immunity*, 69 (9), pp. 5335-5344.

Evenson, L. (1998). Legionnaires' disease. *Prim. Care Update Ob./Gyns*. Gainesville, 5(6), pp. 286-289.

Fernando, A, Benoliel, M. e Diegues, P. (2010). *Prevenção e Controlo da Legionella nos Sistemas de Água*. Instituto Português da Qualidade.

Ferreira M. e Santos, A. (2007). *Aplicação da técnica de PCR na pesquisa de bactérias patogênicas em biofilmes de condutas e reservatórios de água do sistema de distribuição da EPAL*. Lisboa, Instituto Superior Técnico.

Fields, B. (1993). Attachment and entry of *Legionella pneumophila* in *Hartmannella vermiformis*. *Journal of Infectious Diseases*, 167, pp. 1146–1150.

Fields, B., Benson R. e Besser, R. (2002). *Legionella* and Legionnaire's disease: 25 years of investigation. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3), pp. 506–526.

Flournoy, D. (1988). False positive *Legionella pneumophila* direct immunofluorescent monoclonal antibody test caused by *Bacillus cereus* spores. *Diagn. Microbiol - Infect. Dis., Oklahoma*, 9, pp. 123-125.

Franzin, L. (2002). Culture proven *Legionella pneumophila* pneumonia in a HIV infected patient: case report and review. *J. Infect., Turin*, pp. 199-201.

Fraser, D. e Orenstein, W. (1977). Legionnaire's Disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl J Med*, 297, pp. 83-97.

Gabay, J. E., Blake, M., Niles, W. D. e Horwitz, M. A. (1985). Purification of *Legionella pneumophila* major outer membrane protein and demonstration that it is a porin. *Journal of bacteriology*, 162, pp. 85-91.

Garbe, P., Davis, B., Weisfeld, J., Markowitz, L., Miner, P., Garrity, F., Barbaree, J. E Reingold, A. (1985). Nosocomial Legionnaires' disease - Epidemiologic demonstration of cooling towers as a source. *JAMA*, 254 (4), pp. 521-524.

Garduño, R. (2007). Life cycle, growth cycles and developmental cycle of *Legionella pneumophila*. In: *Legionella pneumophila: Pathogenesis and Immunity*, series Infectious Agents and Pathogenesis. New York, Press, 4, pp. 65-83

Goldman, L. e Bennett, J. (2001). *Tratado de Medicina Interna* - 21. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

Green, P. e Pirrie, R. (1993). A Laboratory apparatus, for the generation and biocide efficacy testing of *Legionella* biofilms. *Journal of Applied Bacteriology*, 74, pp. 388-393.

Grimes, D. (1991). Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease. *Estuaries*, 14, pp. 334–360.

Hutchinson, D. (1990). Nosocomial legionellosis. *Rev. Med. Microb.*, pp. 108-115.

Kashuba, M. e Ballow, C. (1996). *Legionella* urinary antigen testing: potential impact on diagnosis and antibiotic therapy. *Diagnostic. Microbiologic. Infected. Disiase*. New York, 24, pp. 129-139.

King, C. (1988). Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chlorination. *Applied and Environmental Microbiology*. 54(12), pp. 3023–3033.

Kuchta, J. (1985). Enhanced chlorine resistance of tap water-adapted *Legionella pneumophila* as compared with agar medium passaged strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(1), pp. 21–26.

Kuiper, M., Wullings, B., Akkermans, A. e Beumer, R. (2004). Intracellular proliferation of *Legionella pneumophila* in *Hartmannella vermiformis* in aquatic biofilms grown on plasticized polyvinyl chloride. *Appl Environ Microb*, 70, pp. 6826–6833.

Kusnetsov, J. (1996). Growth, respiration and survival of *Legionella pneumophila* at high temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, pp. 341–347.

Lechevallier, M. (1988). Inactivation of biofilm bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, pp. 2492–2499.

Lee, J. e West, A. (1991). Survival and growth of *Legionella* species in the environment. *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*, 20, pp. 121–129.

Macfarlane, J. T., Ward, M. J., Finch, R. G. e Macrae, A. D. (1982). Hospital study of community-acquired pneumonia. *Lancet, Nottingham*, July, p.255-258.

Mansilha, C., Coelho, C., Reinas, M. e Heitor, A. (2007). Prevalência da *Legionella Pneumophila* em águas de diferentes proveniências das regiões norte e centro de Portugal no período de 2000 a 2006. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, Julho/Dezembro, 25 (2).

Marques, M. (1997). *Contribuição para o Estudo do Género Legionella e sua ocorrência em Portugal*. Lisboa, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Marques, M. (1999). *Contribuição para o estudo do género Legionella e sua ocorrência em Portugal*. Lisboa, 23, pp.89-218.

Marques, M., Froes, F., Brum, G. e Esteves, A. (2003). Centro Regional de Saúde Pública de Lisboa e Vale do Tejo.

Mykietiuk A., Carratala, J. e Fernandez, N. (2005). Clinical outcomes for hospitalized patients with *Legionella* pneumonia in the antigenuria era: the influence of levofloxacin therapy. *Clin Infect Dis*, 40, pp. 794–799.

Morton, L. (1998). Consideration of some implications of the resistance of biofilms to biocides. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 41, pp. 247–259.

Muder, R., Yu V. e Woo, A. (1986). Mode of Transmission of *L. pneumophila*: a critical review. *Arch intern Med*, 146, pp. 1607-1612.

Muder, R., Yu V. e Best, M. (1983). Nosocomial legionellosis uncovered in prospective pneumonia study: implications for underdiagnosis. *JAMA*, 249, pp. 3184-3188.

Murga, R. (2001). Role of biofilms in the survival of *Legionella pneumophila* in a model potable-water system. *Microbiology*, 147, pp. 3121–3126.

Oleinick, N. (1977). Initiation and elongation of protein synthesis in growing cells: differential inhibition by cycloheximide and emetine. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 182, pp. 171–180.

Oplustil, C. (2000). *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. São Paulo: Sarvier.

Palencia, S. (2010). *Desarrollo, optimización y evaluación de nuevos métodos inmunológicos y moleculares en el diagnóstico de las infecciones causadas por Legionella pneumophila*. Barcelona, Departamento de Genética e microbiologia da Faculdade de Ciências da Universitat Autònoma de Barcelona.

Pine, L. (1979). Development of a chemically defined liquid medium for growth of *Legionella pneumophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, 9, pp. 615–626.

Politi, B., Fraser, D. e Mallison, G. (1979). A major focus of Legionnaire's disease in Bloomington. *Ind. Ann Intern Med*, 90, pp. 587-591.

Quinn, F., Keen, M. e Tompkins, L. (1989). Genetic, immunological, and cytotoxic comparisons of *Legionella* proteolytic activitie. *Infection and Immunity*, 57, pp. 2719–2725.

Ramirez, J. (1996). Diagnosis of *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, or *Chlamydia pneumoniae* lower respiratory infection using the polymerase chain reaction on a single throat swab specimen. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, New York, 24, pp. 7-14.

Ridgway, H. e Olson, B. (1982). Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(4), pp. 972–987.

Rogers, J. (1994). Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system

containing complex microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, pp.1585–1592.

Rossier, O. e Cianciotto, N. P. (2001). Type II protein secretion is a subset of the PilD dependent processes that facilitate intracellular infection by *Legionella pneumophila*. *Infection and immunity*, 69, pp. 2092-2098.

Rowbotham, T. (1980). Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *Journal of Clinical Pathology*, 33, pp.1179–1183.

Rowbotham, T. (1986). Current views on the relationships between amoebae Legionellae and man. *Israel Journal of Medical Science*, 22, pp. 678–689.

Sabria, M., Yu, V. (2002). Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. *Lancet Infect. Dis.*, 2, pp. 368-373.

Sabria, M., Botet, P. e Gomez, J. (2005). For the Legionnaires' disease therapy group. Fluoroquinolones versus macrolides in the treatment of Legionnaire's disease. *Chest*, 128, pp. 1401–1405.

Sadosky, A. e Shuman, H. (1994). A *Legionella pneumophila* icm locus; um conjunto de genes necessários para a multiplicação intracelular em macrófagos humanos In: Sadosky, A. e Shuman, H. *Mol Microbiologi*. 14, pp. 797-808.

Santegoeds, C., Schramm, A. e De Beer, D. (1998). Microsensors as a tool to determine chemical microgradients and bacterial activity in wastewater biofilms and flocs. *Biodegradation*, 9, pp. 159–167.

Schulz, D., Ceconi, T., Schulz, A., e Batista, C. (2005). Doença dos Legionários: uma Revisão. *RBAC*, 37(4), pp. 251-255.

Schulze, R., Rodder, M. e Exner, M. (1987). *Propagation and killing temperatures for Legionella*. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser - Boden- und Luftthygiene*, 72, pp. 83–89.

Shader, L. e Zonderman, J. (2006). *Legionnaires' disease*. Nova York, Chelsea House.

Skaliy, P. e Eacher, H., (1979). Survival of the Legionnaires' disease bacterium in water. *Annals of Internal Medicine*, pp. 90:662.

Soderberg, M., Rossier, O. e Cianciotto, N. (2004). The type II protein secretion system of *Legionella pneumophila* promotes growth at low temperatures. *Journal of Bacteriology*, 186, pp. 3712–3720.

Steinert, M., Hentschel, U. e Hacker, J. (2002). *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *FEMS Microbiol Rev*, 26, pp. 149-162.

Stout, J. e Yu, V. (1997). Legionellosis. *N. Engl. J. Med.*, Pittsburgh, 337(10), pp. 682-687.

Stout, J., Yu, V., Vickers, R., Zuravleff, J., Best, M., Brown, A., Yee, R. e Wadowsky, R. (1982). Ubiquitousness of *Legionella pneumophila* in the water supply of a hospital with endemic Legionnaires' disease. *N. Engl. J. Med*, 306 (8), pp. 466-468.

Stout, J., Yu, V. e Best, M. (1985). Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 49 (1), pp. 221–228.

Surman, S. Morton, L. e Keevil C. (1993). The use of biofilm generator in the evaluation of a biocide for use in water treatment In Edyvean, R. *Proceedings of the ninth International Biodeterioration and Biodegradation Society symposium*. Rugby, United Kingdom, Institute of Chemical Engineers, pp. 6–12.

Taylor, E. e Bishop, P. (1985). Effect of reactor turbulence on the binding protein-mediated aspartate transport system in thin wastewater biofilm. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(1), pp. 120–124.

Temmerman, R., Vervaeren, H., Nosedá, B., Boon e Verstraete, W. (2006). Necrotrophic Growth of *Legionella pneumophila*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), pp. 4323-4328

Tesh, M. e Miller, R. (1981). Amino acid requirements for *Legionella pneumophila* growth. *Journal of Clinical Microbiology*, 13, pp. 865–869.

Tison, D. e Seidler, R. (1983). Legionella incidence and density in potable drinking water supplies. *Applied and Environmental Microbiology*, 45, pp. 337–339.

Truler, M. e Characklis, W. (1982). Dynamics of biofilm processes. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 54, pp. 1288–1301.

Wadowsky, R. e Yee, R. (1983). Satellite growth of *Legionella pneumophila* with an environmental isolate of *Flavobacterium breve*. *Applied and Environmental Microbiology*, 46, pp. 1447–1449.

Wadowsky, R. e Yee, R. (1985). Effect of *non-Legionellaceae* bacteria on the multiplication of *Legionella pneumophila* in potable water. *Applied and Environmental Microbiology*, 49, pp. 1206–1210.

Warren, W. e Miller, R. (1979). Growth of Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) in chemically defined medium. *Journal of Clinical Microbiology*, 10, pp. 50–55.

Wimpenny, J., Manz, W. e Szczyk, U. (2000). Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiology Reviews*, 24, pp. 661–671.

Wright, J. (1991). Decreased biocide susceptibility of adherent *Legionella pneumophila*. *Journal of Applied Bacteriology*, 71, pp. 531–538.

Yee, R. e Wadowsky, R. (1982). Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap, water. *Applied and Environmental Microbiology*, 43, pp. 1330–1334.

Yu, V. (1993). Could Aspiration Be the Major Mode of Transmission for *Legionella*?
The American Journal of Medicine, 95, pp. 13-15

Yu, V. (2000). *Legionella pneumophila* (Legionnaires' disease). In: Mandell, G. L.,
Bennett, J. E. & Dolin, R., *Principles and practice of infectious diseases*. Philadelphia,
Churchill Livingstone, pp. 2424 – 2435.

ANEXO 1

Protocolo de Prevenção Hospitalar (de acordo com, o *Guia de Abordagem à prevenção e controlo da infecção Legionella nos Centros de Saúde de Allegheny*)

As medidas de desinfeção propostas apenas incluem os reservatórios e fontes de água, pois além de os métodos de desinfeção para as fontes de ar condicionado se terem revelado ineficazes para a eliminação completa da *Legionella*, nenhum caso de infecção relacionada com estes foi claramente identificada.

Os sistemas de água incluem todos os sistemas de canalização que distribuem água para contacto humano directo (como, potável, de banho, lavagem)

As medidas de controlo para os sistemas de água estão divididas em duas abordagens (Medidas de desinfeção activa e medidas de projecto, operação e manutenção).

As medidas de desinfeção activa incluem mecanismos e procedimentos que normalmente não se encontram disponíveis nos centros de saúde e hospitalares, pois são instalados especificamente para lidar com a colonização de espécies de *Legionella*.

Estas medidas são muito úteis para sistemas que já tenham sido altamente contaminados e para aqueles que o controlo imediato da colonização de *Legionella* é preciso. As medidas de Projecto, operação, e manutenção são mudanças na estrutura e utilização típica dos sistemas de água potável, que a longo prazo, devem minimizar o risco de colonização por bactérias não só *Legionella*. É altamente recomendado a revisão destas medidas aquando da construção de novos centros de saúde ou hospitais, ou quando se for adicionar ou substituir secções dos sistemas existentes.

As medidas de projecto, operação e manutenção têm como alvo o controlo dos factores de promoção do crescimento de *Legionella*, enquanto as medidas de desinfeção activas existem para atacar directamente as espécies de *Legionella*.

Os centros de saúde e hospitais, devem escolher a sua abordagem ao controlo de *Legionella*, baseada nos resultados da epidemiologia e susceptibilidade da sua população.

É da sua responsabilidade a escolha da medida de controlo que melhor sirva as suas necessidades e o plano do sistema de canalização, para o nível escolhido de controlo.

Medidas de desinfecção activa

Ionização Cobre-Prata

Cátions metálicos conseguem matar as bactérias ligando-se a locais na membrana celular com carga negativa, alterando a permeabilidade celular. Uma unidade de ionização é instalada nos canos de água quente. Os iões de cobre e prata são libertados para o sistema de água quente, que passa por uma câmara de escoamento de ionização quando corrente eléctrica é aplicada aos eléctrodos de cobre e prata.

Erradicação Termal

É um método que funciona por aquecimento descarga em que os tanques de água quente são aquecidos a temperaturas acima de 70°C e depois são libertados pelas torneiras e chuveiros, para matar a *Legionella* que coloniza estes locais. São todos libertados por um período de 20 a 30 minutos, dependendo da temperatura da água quando atinge as torneiras e chuveiros. A 60°C a água deve ser libertada no mínimo durante 30 minutos. Para a técnica ser efectiva a água deve atingir no mínimo 60°C.

Cloração

Processo de tratamento de água, que consiste na aplicação de cloro em água de abastecimento público ou despejos, para desinfecção. Foi um dos primeiros métodos utilizados para a desinfecção de *Legionella*. As grandes desvantagens são o elevado custo, a necessidade de monitorização constante dos níveis de *Legionella* e cloro e a corrosão dos canos.

Aquecimento instantâneo de sistemas por vapor

Consiste no aquecimento instantâneo da água para temperaturas superiores a 88°C misturando depois a água quente com volumes proporcionais de água fria para atingir a temperatura alvo.

Irradiação Ultra violeta

Um esterilizador UV é um dispositivo de escoamento que é instalado numa linha de água para matar *Legionella* à medida que a água escoa através da unidade. A Luz UV é mais eficaz se a desinfecção poder ser localizada numa área específica dentro do edifício. As suas vantagens dos sistemas UV são: é um bactericida eficaz, que não produz nenhum produto secundário de desinfecção e não provoca danos no sistema de canalização. As desvantagens incluem o facto que a luz UV, ao contrário do cloro ou da ionização por cobre-prata, não fornece à água nenhum desinfectante residual e portanto não vai eliminar as secções colonizadas por *Legionella* do sistema.

Medidas de projecto, operação e manutenção

Aeradores para torneiras

O uso de aeradores deve ser evitado já que *Legionella* cresce bem no sedimento que se acumula nas redes.

Drenos

Os reservatórios de água quente e caldeiras, devem ter instalados drenos localizados numa posição acessível no ponto mais baixo para que o lodo acumulado consiga ser removido.

Projecto do sistema de distribuição

O sistema de distribuição deve estar projectado de maneira a minimizar o comprimento de quaisquer pernas-mortas, i.e. segmentos laterais dos sistemas que se encontram tapados ou não muito utilizados. *Legionella* consegue crescer nestas secções estagnadas do sistema de distribuição e subsequentemente contaminar o resto do sistema.

Temperaturas de distribuição e de armazenagem

A temperatura da água assim que abandona o aquecedor ou a unidade de armazenagem de água quente deve ser de mais ou menos 60°C sendo o intervalo aceitável de 2,5°C. Idealmente, esta temperatura deve ser mantida pelo menos por 5

minutos antes da descarga para os sistemas de distribuição de água quente. A esta temperatura, *Legionella* sobrevive por apenas 2 minutos aproximadamente. Portanto, não é verosímil que o organismo seja distribuído para o sistema de água quente em quantidades suficientes para ser prejudicial para os pacientes.

Estagnação nos aquecedores de água

Estagnação pode ocorrer num aquecedor de água quente se a alimentação de água fria e/ou as conexões do retorno de água estiverem incorrectamente localizadas.

Manutenção e limpeza rotineira

Qualquer local de armazenagem de água fria e tanques de alimentação devem ser examinados, regularmente, limpos e desinfectados anualmente. Os aquecedores de água quente devem ser drenados trimestralmente para minimizar a acumulação de lodo. Esta frequência pode ser aumentada ou diminuída baseada na quantidade de detritos que são detectados durante a inspecção.

Interrupção de serviço

Se um tanque de água quente ou uma parte substancial do sistema de água quente estiver fora de uso durante uma semana, por manutenção ou por qualquer outro motivo, a água deve ser elevada para uma temperatura de operação de 60°C durante pelo menos durante um dia antes do uso. (adaptado de Allegheny County Health Department)

ANEXO 2

Medidas preventivas em redes prediais (segundo Boletim da Comissão Sectorial para a Água do IPQ - Instituto Português de Qualidade).

As redes prediais de água quente e fria, em particular com grandes dimensões, podem conduzir ao desenvolvimento bacteriano, quer devido ao baixo teor de cloro residual livre na água, quer devido à entrada de sedimentos por roturas na rede.

As zonas mais sensíveis são as que estão associadas à formação de aerossóis, nomeadamente as saídas dos chuveiros, torneiras de água quente e banhos.

As instalações de rede predial de água para consumo humano devem ter as seguintes características:

- Garantir a total estanquicidade e a correcta circulação de água, assim como dispor de suficientes válvulas de descarga para esvaziar completamente a instalação e que estejam dimensionadas para permitir a remoção dos sedimentos acumulados;
- Facilitar a acessibilidade aos equipamentos para a sua inspecção, limpeza, desinfecção e recolha de amostras;
- Utilizar materiais, em contacto com a água para consumo humano, capazes de resistir a uma desinfecção com recurso a elevadas concentrações de cloro ou de outros desinfectantes ou com recurso a elevadas temperaturas. Nas junções das canalizações aconselha-se a não usar os seguintes materiais: linho, borrachas naturais e óleos de linhaça; em contrapartida é importante aplicar materiais com características anticorrosivas em aço inox, ferro fundido ou PEX;
- Manter a temperatura da água no circuito de água fria o mais baixo possível, procurando desde que as condições climatológicas o permitam, uma temperatura inferior a 20°C, sendo que as tubagens devem estar suficientemente afastadas das tubagens de água quente ou por defeito isoladas termicamente;
- Garantir que os reservatórios de redes prediais de água para consumo humano são instalados em locais devidamente ventilados, sendo as aberturas de ventilação equipadas com redes anti-insectos. Devem dispor de uma cobertura

impermeável que se ajuste perfeitamente, mas que permita o acesso ao seu interior. Se estes reservatórios estiverem instalados ao ar livre devem estar termicamente isolados.

- As entradas e saídas de água dos reservatórios devem estar posicionadas em pontos diametralmente oposto e de modo a evitar curto circuitos hidráulicos e o fundo deve estar ligeiramente inclinado para facilitar a descarga de fundo.
- Caso se utilize cloro como desinfectante este deve ser adicionado aos reservatórios, através de doseadores automáticos. Devem dispor de uma válvula de descarga de fundo.
- Os reservatórios de redes prediais devem ser limpos e desinfectados de seis em seis meses ou no mínimo uma vez por ano;
- Dispor de um sistema de válvulas de retenção, de acordo com a Norma EN 1717, que evitem o retorno de água por perda de pressão ou diminuição do caudal fornecido e em especial quando seja necessário evitar misturas de água de diferentes circuitos, qualidade ou usos;
- A velocidade de escoamento nas tubagens da rede predial interna deve ser, pelo menos de 1 m/segundo a fim de evitar a deposição de materiais na própria rede

Água quente

- Evitar temperaturas entre os 20 e os 50°C. Os depósitos e os termoacumuladores de armazenamento de água devem manter a temperatura da água próxima dos 60 °C, de modo a permitir em qualquer ponto da rede uma temperatura mínima de 50°C;
- No caso de existir mais do que um termoacumulador estes devem obedecer a uma montagem em paralelo, e se a temperatura for usada como meio de controlo então à saída dos mesmos deve-se atingir os 60°C;
- Manter a temperatura da água, no circuito de água quente, acima dos 50 °C, no ponto mais afastado do circuito ou na tubagem de retorno ao acumulador. A instalação deverá permitir que a água alcance uma temperatura de 70°C;
- As tubagens de água quente devem ser correctamente isoladas, garantir uma adequada estanqueidade e correcta circulação da água, posicionando-se por cima das de água fria;

- No circuito de retorno da água quente, deve existir uma bomba de recirculação com válvula de retenção;
- Inspeccionar todos os elementos da rede (válvulas, tubagens, chuveiros, torneiras, juntas cegas etc.), substituindo os elementos defeituosos, mais susceptíveis de terem sofrido as acções de corrosão e / ou incrustação;
- Aplicação de acessórios, cuja composição não favoreça o crescimento bacteriano, durante a substituição de elementos da rede;
- O valor do cloro residual livre na água quente deve estar compreendido entre 0,2 e 0,4 mg/l, no caso do tratamento em contínuo, podendo ir até 1 mg/l, no caso de tratamento ser intermitente de modo a diminuir os riscos de corrosão;

Água fria

- Evitar temperaturas superiores a 20 °C;
- Os valores de cloro residual livre devem situar-se entre os 0,2 e 0,4 mg/l, tendo em conta os valores de pH da água;
- Os depósitos devem estar em locais acessíveis para efectuar a sua limpeza, apresentando-se correctamente isolados e estanques, dispor de válvula de purga, boa ventilação, fundo ligeiramente inclinado, tubagem de saída 15 cm acima do fundo, e a dosagem do cloro deve-se fazer na tubagem de adução ao depósito;
- Efectuar purgas regulares para minimizar a ocorrência de pontos mortos;
- Inspeccionar todos os elementos da rede incluindo acessórios e equipamentos;
- No caso de águas agressivas e corrosivas, deve-se usar de preferência tubos passiva dos e sem soldadura;

Água fria e quente

- Executar os procedimentos de limpeza, desinfecção, inspecção e outros definidos nos protocolos que fazem parte do programa de operação e manutenção dos sistemas e equipamentos implicados, de modo a minimizar o aparecimento de sedimentos, nutrientes e desenvolvimento de biofilmes, devendo-se ter em conta que a eficácia das medidas tomadas depende:
- Estado geral e concepção da rede de distribuição;

- Estado e composição dos depósitos existentes nas redes;
- Materiais utilizados, sua compatibilidade entre si e destes com os produtos químicos aplicados;

Microrganismos presentes na água.

- Executar os programas de tratamento da água, tendo em especial atenção a luta contra os fenómenos de corrosão e incrustação;
- Os produtos químicos usados no tratamento da água, quer nos protocolos de limpeza e desinfecção, no caso de serem biocidas carecem de uma autorização da Direcção-Geral da Saúde, os restantes produtos usados na água de consumo humano carecem de autorização da Entidade Reguladora (Instituto Regulador de Águas e Resíduos);
- Execução do programa de controlo da qualidade da água, tendo em conta os parâmetros a pesquisar, pontos de amostragem e metodologia para recolha de amostras, salientando-se os seguintes parâmetros mais significativos: pH, Sólidos dissolvidos totais ou Condutividade, Dureza, Cloretos, Sulfatos, Temperatura, Cloro residual livre, Dióxido de Carbono livre, Oxigénio dissolvido, Alcalinidade, Contagem total de bactérias heterotróficas, Número de colónias a 22 e 37°C, *Escherichia coli*, Presença de sais de ferro e manganês, Protozoários, *Pseudomonas* etc...

A selecção dos pontos de amostragem deve ser criteriosa e a mais representativa da qualidade da água existente nos sistemas e nos equipamentos, tendo em conta as condições propícias para o desenvolvimento da *Legionella*, dando uma indicação global do estado de contaminação, devendo-se optar por pontos fixos e variáveis, sugerindo-se o seguinte:

Na rede de água fria, deve-se recolher à entrada da rede predial, nos depósitos e zonas de extremidade de rede representativos (chuveiros e torneiras).

Na rede de água quente, deve-se recolher amostras na válvula de descarga de fundo do depósito de água quente ou do termoacumulador, saída do depósito ou num

ponto o mais próximo possível deste, saída do permutador de placas, rede de retorno de água quente e pontos de extremidade (chuveiros e torneiras).

In Bartam, J. *et al.* (2007). *Legionella – and the prevention of legionellosi.*