

# ORIENTAÇÃO

NÚMERO: 20/2017

DATA: 15/11/2017

---

ASSUNTO:	Doença dos Legionários: Diagnóstico laboratorial de Doença dos Legionários e pesquisa de <i>Legionella</i> em amostras ambientais
PALAVRAS-CHAVE:	Doença dos Legionários, Diagnóstico; <i>Legionella</i> , Pesquisa
PARA:	Profissionais do Sistema de Saúde
CONTACTOS:	Direção-Geral da Saúde   Maria de Jesus Chasqueira ( <a href="mailto:mjchasqueira@dgs.min-saude.pt">mjchasqueira@dgs.min-saude.pt</a> ) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge   Paulo Gonçalves ( <a href="mailto:paulo.goncalves@insa.min-saude.pt">paulo.goncalves@insa.min-saude.pt</a> )   Helena Rebelo ( <a href="mailto:helena.rebelo@insa.min-saude.pt">helena.rebelo@insa.min-saude.pt</a> )

---

Nos termos da alínea a) do nº 2 do artigo 2º do Decreto Regulamentar nº 14/2012, de 26 de janeiro, emite-se a seguinte:

## Orientação

A Doença dos Legionários é uma pneumonia adquirida através da inalação de aerossóis de água contaminada com bactérias do género *Legionella*.

### A) Diagnóstico laboratorial da Doença dos Legionários

1. Deve ser considerada a hipótese diagnóstica de Doença dos Legionários nas seguintes situações<sup>1, 2, 3</sup>:
  - a) Doente com pneumonia grave (internado em Unidade de Cuidados Intermédios ou Unidade de Cuidados Intensivos);
  - b) Doente com pneumonia, internado em enfermaria, com os seguintes fatores de risco individuais:
    - i. Tabagismo;
    - ii. Alcoolismo;

---

<sup>1</sup> Recomendações de abordagem diagnóstica e terapêutica da pneumonia da comunidade em adultos imunocompetentes - Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003: <http://www.elsevier.pt/en/revistas/revista-portuguesa-pneumologia-320/pdf/S0873215915306917/S350/>

<sup>2</sup> ECDC- Technical Document - European Legionnaires' Disease Surveillance Network (ELDSNet) - Operating procedures, 2017: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/1202-TED-ELDSNet-operating-procedures.pdf>

<sup>3</sup> WHO -*Legionella* and the prevention of legionellosis, 2007: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/emerging/legionella.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.pdf)

- iii. Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC);
  - iv. Imunossupressão, incluindo corticoterapia;
  - v. Neoplasia sistémica;
  - vi. Diabetes;
  - vii. Outras doenças crónicas.
- c) Doente com pneumonia com contexto epidemiológico durante o período de incubação (14 dias<sup>4</sup>):
- i. História de viagem;
  - ii. Exposição a edifícios com sistemas e equipamentos geradores de aerossóis;
  - iii. Exposição ocupacional nomeadamente a canalizações e a torres de arrefecimento;
  - iv. Outro tipo de exposição passível de gerar aerossóis;
  - v. Possível associação a um surto em investigação.
2. As amostras devem ser colhidas de acordo com os procedimentos habituais para diagnóstico microbiológico.
3. O diagnóstico laboratorial pode ser realizado por uma das seguintes metodologias:
- a) Antigenúria: pesquisa do antigénio *Legionella pneumophila* do serogrupo 1 (*L. pneumophila* sg1) na urina;
  - b) *Polimerase Chain Reaction* (PCR): pesquisa de DNA de *Legionella* nas secreções respiratórias;
  - c) Cultura: deteção/isolamento da bactéria a partir de secreções respiratórias.
4. Pesquisa de antigénio na urina:
- a) Se resultado positivo:
    - i. Colher imediatamente amostra respiratória (expetoração, secreções, lavado ou aspirado bronco-alveolar), preferencialmente antes da administração de antibiótico e enviar para o laboratório com capacidade para realizar a cultura para isolamento da bactéria;
    - ii. O laboratório de referência para a pesquisa de DNA e/ou cultura orientada para o isolamento de *Legionella* é o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA);

---

<sup>4</sup> De acordo com Inquérito Epidemiológico do SINAVE

- iii. A amostra deve ser acompanhada de requisição “Pedido de Exame Externo”.
- b) Se resultado negativo:
- i. Não é excluída a possibilidade de Doença dos Legionários, apenas a que é causada por *L. pneumophila* sg1;
  - ii. Se a informação epidemiológica e/ou clínica sugerirem *Legionella* como agente provável (outro serogrupo da *L. pneumophila* ou outra espécie), deve ser colhida amostra respiratória e enviada para o laboratório com capacidade para realizar a cultura orientada para o isolamento da bactéria, ou enviar diretamente para o INSA com a devida requisição.
5. Pesquisa de DNA de *Legionella* nas secreções respiratórias (a ser efetuada em simultâneo com a cultura):
- a) Se resultado positivo:
    - i. A amostra/DNA deve ser enviada ao INSA para caracterização genotípica por *Sequence-Based Typing* (SBT).
  - b) Se resultado negativo:
    - i. Aguardar pelo resultado da cultura para eventual confirmação ou exclusão.
6. Cultura orientada para o isolamento de *Legionella*:
- a) Se resultado positivo:
    - i. Os isolados devem ser enviados ao INSA para caracterização genotípica por SBT.
  - b) Se resultado negativo, mas com PCR positivo:
    - i. As amostras respiratórias devem ser enviadas ao INSA para eventual caracterização genotípica do DNA por SBT.
7. O resultado positivo de antigenúria ou cultura orientada para o isolamento de *Legionella* é critério laboratorial para confirmação de caso de Doença dos Legionários. O resultado positivo de pesquisa de DNA de *Legionella* por PCR, é critério laboratorial para caso provável.
8. Os resultados do diagnóstico laboratorial devem ser reportados, pelo laboratório que realiza o diagnóstico, no Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológico (SINAVE) – laboratório.
9. Diagnóstico laboratorial de Doença dos Legionários em contexto de surto:
- a) Enviar as amostras respiratórias, com a maior brevidade, ao INSA para pesquisa de DNA, cultura orientada para o isolamento de *Legionella* e caracterização genotípica.
  - b) Os resultados da identificação e caracterização de *Legionella* nas amostras respiratórias devem ser comparados com os resultados da identificação e

caracterização de *Legionella* em amostras ambientais, colhidas de acordo com a Norma nº 24/2017, de 15/11/2017, com o objetivo de se encontrarem potenciais fontes de transmissão.

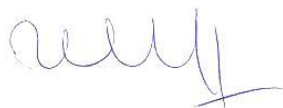
## **B) Pesquisa de *Legionella* em amostras ambientais**

1. Qualquer caso notificado de Doença dos Legionários é alvo de uma investigação epidemiológica que inclui o estudo ambiental com o objetivo de identificar os locais que possam constituir possíveis fontes de infeção (Orientação nº 21/2017, de 15/11/2017).
2. Os pontos de amostragem devem ser criteriosamente selecionados, de acordo com os pontos críticos do sistema.
3. São colhidas amostras de água, e, sempre que se justifique, aerossóis ou biofilme, para pesquisa e quantificação de *Legionella* spp.
4. A colheita, acondicionamento/conservação e transporte das amostras ambientais, devem considerar os seguintes aspetos:
  - a) As amostras deverão ser colhidas por técnicos qualificados e com experiência, antes da aplicação de quaisquer medidas de controlo (ex. biocidas ou choque térmico).
  - b) Os técnicos que procedem à colheita devem adotar medidas de proteção individual como seja o uso de máscaras com capacidade de reter partículas de 1 µm para proteção das vias respiratórias.
  - c) No caso de amostras de água deve ser colhido, sempre que possível, um volume mínimo de 2 L, destinando-se 1 L à análise por PCR e 1 L à análise cultural.
  - d) Cada amostra deve ter identificação inequívoca do local e ponto de colheita, teor de cloro residual livre e temperatura (no caso de amostras de água).
  - e) As amostras colhidas devem ser protegidas da luz solar direta e transportadas em malas térmicas, o mais rapidamente possível, ao Departamento de Saúde Ambiental (DSA) do INSA ou outro laboratório que possua método acreditado para determinação de *Legionella*. Caso não possam ser enviadas de imediato, devem ser refrigeradas a 5 ± 3°C.
5. O procedimento analítico recomendado é o efetuado no INSA:
  - a) Análise por PCR em tempo real para *Legionella pneumophila* e *Legionella* spp por método acreditado pelo IPAC, segundo a Norma ISO 12869.
  - b) Exame cultural, em meio de cultura específico (método acreditado pelo IPAC segundo a Norma ISO 11731) em todas as amostras com resultado positivo ou inconclusivo por PCR em tempo real, seguido de identificação do isolado por método de aglutinação em

látex (com recurso a reagentes comerciais validados para utilização em diagnóstico *in-vitro*).

Este método necessita de uma a três semanas para obtenção de resultados, dependendo do número e tipo de microrganismos existentes na amostra e da taxa de crescimento da *Legionella* (normalmente de 5 a 14 dias).

6. Todos os isolados devem ser enviados ao INSA, para caracterização e comparação com os isolados de origem humana, pelos seguintes métodos:
  - a) Genotipagem por *Sequence-Based Typing* do DNA dos isolados de *Legionella pneumophila*;
  - b) Sempre que se justifique, caracterização do DNA de estirpes isoladas em cultura por sequenciação total do genoma.
7. O INSA comunica os resultados analíticos das amostras ambientais à Autoridade de Saúde competente.



Graça Freitas

Diretora-Geral da Saúde