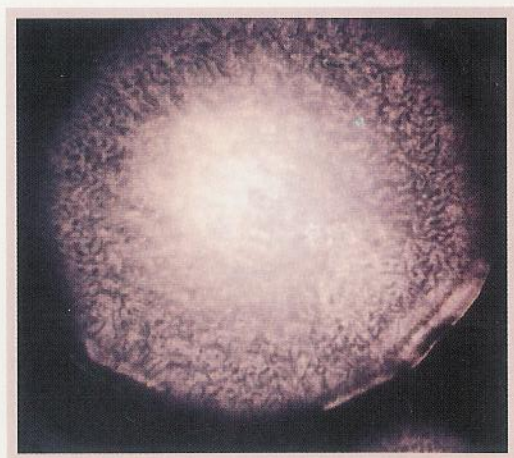




Ministério da Saúde

Doença dos legionários

Protocolo de diagnóstico



Autores

Maria Teresa Marques

Professora Associada e Directora do Departamento Universitário de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. Chefe de Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Santa Cruz. Representante oficial de Portugal no EWGLI para a área de microbiologia.

Filipe Froes

Assistente Graduado de Pneumologia do Hospital de Pulido Valente e Coordenador da Comissão de Infecçiology Respiratória da Sociedade Portuguesa de Pneumologia.

Gabriela Brum

Assistente Graduada de Pneumologia e Responsável da Unidade de Cuidados Intensivos Respiratórios do Hospital de Santa Maria.

António Carlos Sousa Esteves

Chefe de Serviço de Saúde Pública. Responsável do programa Doença dos Legionários, Conhecimento e Prevenção, do Centro Regional de Saúde Pública de Lisboa e Vale do Tejo.

Edição. *Centro Regional de Saúde Pública de Lisboa e Vale do Tejo.*

3.000 exemplares.

Fotografia. *João Cruz*

Índice

Introdução	5
Apresentação clínica da infecção por <i>Legionella</i>	7
Doença dos legionários	8
Diagnóstico laboratorial	9
Exame cultural	9
Pesquisa directa por IFD	10
Antigenúria	10
Diagnóstico serológico (IFI)	11
Pesquisa de ácido nucleico	11
Pedidos de exame laboratorial	13
Linha Legionela	13
Surto epidémico	14
Bibliografia recomendada	15

Introdução

O significado médico das bactérias do género *Legionella* foi reconhecido pela primeira vez quando uma epidemia de pneumonia atingiu elevado número de participantes na Convenção da Legião Americana, em Filadélfia, no ano de 1976. São bacilos Gram negativos, aeróbios, pleomórficos, não esporulados, geralmente móveis devido à existência de um ou de mais flagelos, polares ou subpolares. Têm fraca actividade metabólica e não crescem em meios de cultura correntes, necessitando de cisteína e de sais de ferro para o seu metabolismo. O meio de cultura mais correntemente utilizado é o BCYE- α , suplementado ou não com antibióticos.

Este género foi reconhecido em 1979 por Brenner e colaboradores. Até ao momento estão descritas cinquenta e duas espécies, as quais compreendem um número de serogrupos superior a setenta.

A espécie *L. pneumophila* é a mais frequentemente implicada na infecção no homem e dela conhecem-se quinze serogrupos, sendo o serogrupo 1 (sg 1) o mais frequente, seguindo-se-lhe o serogrupo 6 (sg 6). Das outras espécies, também aparecem com alguma frequência a *L. bozemanii* e a *L. longbeachae*.

Trata-se de um microrganismo ubíquo, largamente disseminado na água doce e em meios húmidos, sendo destes exemplo a terra para jardins. É um parasita intracelular de protozoários – hospedeiros naturais da legionela – e usa um mecanismo semelhante para sobreviver e multiplicar-se nalgumas células humanas, nomeadamente nos macrófagos alveolares. Pode causar doença respiratória no homem e os factores que favorecem a instalação da infecção são a presença de estirpes virulentas em meios hídricos, a sua multiplicação até ser atingida uma dose infectante do inóculo – ainda desconhecida – e a transmissão por via aérea, através de aerossóis, ao hospedeiro que seja susceptível.

Para além de casos isolados de pneumonia, vários surtos epidémicos têm vindo a ser descritos quer observados na comunidade quer de origem nosocomial, verificando-se a especial vulnerabilidade a que estão expostos viajantes e turistas.

O *European Working Group for Legionella Infections* (EWGLI), em que o nosso país está representado, foi criado em 1986 sendo constituído por um grupo de cientistas e de especialistas o qual tem em comum o interesse pelos aspectos microbiológico e epidemiológico destas infecções.

O esquema de vigilância do EWGLI, com um desenvolvimento especial no que se refere

à infecção associada ao viajante (EWGLINET) funciona actualmente em ligação com o Programa de Controlo de Doenças Transmissíveis, da União Europeia.

Em Portugal, a doença é de declaração obrigatória desde 1999, não se conhecendo com rigor os números respeitantes à sua incidência em cada ano mas havendo a convicção de que esta patologia é subdiagnosticada, como aliás se tem passado noutros países. Diferenças regionais no que concerne às taxas de casos notificados podem ser devidas a factores ambientais e à existência ou não de protocolos de diagnóstico e de prevenção das infecções por legionela.

Estudos europeus e norte-americanos indicam que esta pneumonia representa 2 a 15% daquelas que, adquiridas na comunidade, implicam internamento hospitalar.

Tratando-se de um importante problema de saúde pública, considera-se a divulgação de conhecimentos sobre os contextos da ocorrência e o diagnóstico desta infecção um factor importante para a sua prevenção.

A água constitui o maior reservatório deste microrganismo, sendo de 35°C (25°-42°C) a temperatura óptima para o seu crescimento. Deixadas na sua condição natural as legionelas seriam uma causa rara de infecção no homem tal como aconteceu até ao século XX, época em que pela evolução de algumas tecnologias foram sendo criados pequenos nichos ecológicos que favorecem a sua multiplicação quer pelo aumento de temperatura da água quer pela presença de outros factores amplificadores do inóculo tais como a presença de protozoários (*amoebae* e outros) e de biofilmes.

São exemplos desses nichos ambientais que podem funcionar como origem e fonte de infecção os que a seguir se apresentam:

- A. Rede de água quente (em grandes edifícios ou navios, incluindo depósitos, canalizações, chuveiros, torneiras).
- B. Rede de água fria (idem + autoclismos).
- C. Torre de arrefecimento (equipamento de sistema de climatização, de transferência de calor, que dá origem à produção duma pluma de aerossóis os quais podem estar contaminados. Estes, ao dispersar, podem alcançar directamente a rua ou ser arrastados para o interior de compartimentos quer através de vãos de janela quer através das captações de ar novo e das condutas de sistema de ventilação).
- D. Condensador evaporativo (idem a C).
- E. Fontes decorativas, quer no exterior quer no interior de edifícios, nomeadamente se tiverem repuxos ou jactos.
- F. Jacúzis. Hidromassagem.

- G. Equipamentos de terapia respiratória (nebulizadores e humidificadores de sistema de ventilação assistida).
- H. Instalações termais. Saunas. Banhos turcos.
- I. Humidificadores por pulverização ou nebulização de água (fria).
- J. Sistema de rega por aspersão.
- K. Lavagem de automóveis.
- L. Sistema de lavagem de gases.
- M. Em geral, aparelhos que acumulem água e possam produzir aerossóis.

A acção patogénica destas bactérias depende de múltiplos factores, alguns deles já identificados por técnicas de biologia molecular tais como o gene “mip” (*macrophage infectivity potentiator*) o qual codifica uma proteína de superfície “Mip” cujo mecanismo de acção permanece desconhecido. São também considerados factores potenciais de virulência, citotoxinas, proteínas de choque tóxico, lipopolissacáridos e metaloproteases.

Como factores de risco que tornam o hospedeiro mais susceptível às infecções por estas bactérias ou que a elas estão associados incluem-se a idade (>50 anos), o sexo masculino, ser portador de uma doença crónica com ou sem imunodeficiência associada, e o tabagismo. São de citar em particular, a doença pulmonar obstrutiva crónica, a doença hematológica maligna, a insuficiência renal, a diabetes e a imunossupressão associada a neoplasias ou a transplantação de órgãos (ver quadro I).

Ao contrário do que se pensou inicialmente, a pneumonia por legionela não é mais frequente nos doentes com SIDA, sendo várias as razões com que se tem procurado explicar este facto. Por outro lado, é rara a sua ocorrência em crianças e adultos jovens, saudáveis.

O homem infecta-se inalando aerossóis com partículas infectantes ou aspirando água contaminada, não estando demonstrada a possibilidade de transmissão de pessoa a pessoa. Também continua sem confirmação a hipótese de transmissão por via digestiva.

Apresentação clínica da infecção por *Legionella*

A infecção por legionela pode apresentar-se como uma infecção subclínica (reconhecida só por seroconversão), como uma infecção multissistémica com quadro predominante de pneumonia (doença dos legionários) a qual frequentemente justifica internamento hospitalar ou ainda como uma forma respiratória não pneumónica, autolimitada e que se assemelha a uma síndrome gripal (febre de Pontiac).

Doença dos legionários

Embora os dados clínicos não permitam distinguir a doença dos legionários de pneumonias com outras etiologias, a conjugação da apresentação clínica com factores de risco do hospedeiro e com dados quer referentes aos seus contextos ocupacionais e ambientais quer oriundos de ocorrências endémicas ou epidémicas, pode ajudar a suspeitar ou a estabelecer um diagnóstico provisório de doença dos legionários.

Quadro I

Dados da história clínica a valorizar no contexto da legionela	
Factores do hospedeiro: <ul style="list-style-type: none">- idade (> 50 anos);- sexo masculino;- tabagismo;- doença pulmonar crónica;- neoplasia hematológica;- doença renal;- transplantação de órgão sólido;- imunossupressão (incluindo corticoterapia);- diabetes.	Factores ambientais: <ul style="list-style-type: none">- estadia recente em hotel;- trabalho recente em canalizações;- exposição a torre de arrefecimento contaminada.

O período de incubação varia entre dois a dez dias, podendo atingir três semanas. O quadro clínico é variável, podendo manifestar-se por tosse ligeira e febrícula até falência respiratória, estupor e disfunção múltipla de órgãos. Na forma de apresentação mais típica o início é súbito, com calafrios, febre alta (muitas vezes igual ou superior a 40°C), cefaleias e mialgias. A tosse é, em regra, pouco produtiva. Pode haver dor torácica e raramente pequenas hemoptises. Geralmente assiste-se a um agravamento do quadro clínico de forma rápida e progressiva, com instalação de dispneia.

Por vezes, sintomas não respiratórios como confusão mental, delírio e diarreia a qual ocorre em 20 a 40% dos casos, dominam o quadro clínico. Mesmo nestes doentes a observação respiratória revela sempre alterações. A bradicárdia relativa tem sido descrita com mais frequência na pneumonia a legionela.

Do ponto de vista laboratorial, a leucocitose é geralmente moderada. São frequentes alterações dos perfis renal e hepático com elevação das transaminases séricas bem como das enzimas musculares. A gasometria arterial revela quase sempre hipoxémia. A

hiponatremia – natremia igual ou inferior a 130 mmol/L – é mais frequente na doença dos legionários do que noutras pneumonias.

A radiografia do tórax revela muitas vezes um envolvimento superior ao suposto pela observação do doente. As alterações radiológicas não são específicas. Consistem, geralmente, em infiltrados alveolares de aspecto “algodonoso”, podendo, por coalescência, originar um padrão mais homogéneo. A evolução do infiltrado para cavitação surge sobretudo em doentes imunodeprimidos. As alterações são mais frequentes nas bases, podendo ser bilaterais ou localizadas num só lobo. Em cerca de um terço dos casos, aparece derrame pleural. Apesar do início da terapêutica correcta é habitual o agravamento radiológico, entre o segundo e o sexto dias. A resolução radiográfica é lenta e demora entre um a quatro meses.

Diagnóstico laboratorial

Apenas os exames microbiológicos permitem estabelecer a etiologia desta infecção. Chama-se a atenção para o facto de eles não serem efectuados como rotina laboratorial no diagnóstico de pneumonia, devendo ser especificamente requisitados pelo clínico.

Exame cultural

O isolamento do agente em cultura o qual permite identificar qualquer estirpe pertencente a este género continua a ser o método de referência (*gold standard*) e o único que permite, *a posteriori*, estudos epidemiológicos completos que incluem a tipificação das estirpes e o conhecimento da sua susceptibilidade a antimicrobianos.

Os produtos patológicos, expectoração, secreções brônquicas, lavado bronco-alveolar, líquido pleural ou biópsia pulmonar, deverão ser colhidos antes de iniciada a terapêutica antibiótica. Em doentes graves, quando não se conseguem colher secreções, em situações em que o benefício compense o risco, preconiza-se a realização da colheita a partir de broncofibroscopia. Os produtos patológicos poderão ser conservados no frigorífico (2 a 8°C) por um período máximo de 48 horas antes de serem semeados.

O meio de cultura a utilizar deverá ser o BCYE- α , suplementado com antibióticos (BMPA), e um resultado negativo só sairá após dez dias de incubação dado o carácter fastidioso deste microrganismo.

Este método apresenta uma sensibilidade aproximada de 60% e uma especificidade de 100%.

Pesquisa directa por IFD

A técnica de imunofluorescência directa (IFD) pode ser aplicada em expectoração, secreções brônquicas, lavado bronco-alveolar e biópsia pulmonar. Tem a grande vantagem de poder ser utilizada vários dias após o início de antibioticoterapia e de o seu resultado poder ser dado no próprio dia da colheita.

Com os reagentes actualmente disponíveis em Portugal, utilizando anticorpos monoclonais, apenas é permitido o diagnóstico de infecções por *Legionella pneumophila*, sem determinação do serogrupo. Estão descritos casos de reacções cruzadas com outras bactérias. A sensibilidade varia de 25 a 75% e a especificidade parece ser superior a 95%. Com esta técnica fazemos um diagnóstico presuntivo de doença. Técnica de execução relativamente rápida (resposta no próprio dia) pelo que poderá antecipar uma informação útil na orientação terapêutica sem prejuízo do exame cultural em curso e efectuado a partir do mesmo produto.

Pesquisa directa de antigénio na urina (ELISA e imunocromatografia)

Este método de diagnóstico é de execução rápida (poucas horas), tendo-se demonstrado que o antigénio começa a ser excretado nos três primeiros dias após o início dos sintomas podendo persistir mais de 300 dias, o que poderá trazer dificuldades de interpretação em doentes com pneumonia recorrente nos meses que se seguem à primeira.

A urina colhida com assépsia poderá ser conservada no frigorífico (2 a 8°C) até ao máximo de 14 dias ou congelada (-20°C) por vários meses.

Com os reagentes comercializados até agora no nosso país, com esta técnica apenas podemos diagnosticar infecções por *L. pneumophila* sg 1 (diagnóstico confirmado, na ausência de antecedentes de pneumonia recente por este agente e se utilizadas técnicas validadas pelo EWGLI: Biotest, Binax, Bartels). Um resultado negativo não exclui a doença dos legionários.

A técnica de ELISA possui uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 100% enquanto que a de imunocromatografia apresenta uma sensibilidade de 98% e uma especificidade de 100%.

De notar que estas técnicas de pesquisa de antigenúria continuam a ser testadas em ensaios interlaboratoriais periódicos em alguns centros colaboradores do EWGLI, para optimização.

Diagnóstico serológico (IFI)

Para a execução da técnica de imunofluorescência indirecta (IFI), o soro deverá ser enviado ao laboratório, refrigerado, no próprio dia. No caso de tal não ser possível, a amostra deverá ser conservada em frigorífico (2 a 8°C). Dever-se-ão obter sempre duas amostras de sangue colhidas com intervalo de pelo menos dez dias. O diagnóstico confirmado é feito se se observar seroconversão (subida de quatro vezes o título), com um 2º título ≥ 128 para a *L. pneumophila* sg 1. Para os outros serogrupos da *L. pneumophila* e para as outras espécies o diagnóstico será sempre presuntivo no caso de seroconversão (com um 2º título ≥ 128). Do mesmo modo será presuntivo o diagnóstico feito com um título único ≥ 256 , quaisquer que sejam a espécie ou o serogrupo. Este método permite diagnosticar as legionelas cujos antigénios sejam testados, sendo que na maior parte dos casos apenas são pesquisados anticorpos contra a *L. pneumophila* sg 1 a 6.

Trata-se de uma técnica cuja sensibilidade varia entre 78 e 91% e a especificidade é de 99%.

Títulos inferiores ou igual a 128 apenas poderão dar indicação de que houve contacto anterior com o agente microbiano. Embora algumas técnicas disponíveis permitam a separação de IgG e IgM será necessário um maior desenvolvimento do estudo da sensibilidade e da especificidade destes ensaios para a avaliação da sua utilidade no diagnóstico destas infecções.

Também a valorização de títulos mais baixos, obtidos por alguns testes comerciais, não deverá ser interpretada como diagnóstico mas sim sempre em função da existência de uma seroconversão, se o critério clínico o permitir.

Pesquisa de ácido nucleico

Estas técnicas não estão ainda suficientemente padronizadas para serem aplicadas ao diagnóstico clínico de rotina.

Gostaríamos de chamar a atenção para o facto de que como se acaba de demonstrar os métodos de diagnóstico laboratorial disponíveis serem complementares, havendo toda a vantagem na não utilização de um método isolado.

A confirmação laboratorial do diagnóstico tem ainda a grande conveniência de poder fazer limitar, em casos seleccionados, o espectro de acção da antibioticoterapia instituída empiricamente, com implicações na diminuição da emergência de estirpes bacterianas resistentes.

A contribuição laboratorial, nomeadamente a do exame cultural, torna-se ainda da maior importância em virtude de dar consistência a uma abordagem epidemiológica capaz de estabelecer a ligação com o contexto ambiental originário, de vir a possibilitar o diagnóstico de outros casos, e de pautar a adopção de medidas de saúde pública.

Pelo que atrás ficou dito podemos concluir que para o diagnóstico desta infecção devemos utilizar uma das formas de diagnóstico rápido (antigenúria, preferencialmente) sempre complementada com o exame cultural, obrigatório em surtos epidémicos.

Em caso de dúvida na execução de qualquer técnica de diagnóstico laboratorial ou de interpretação de resultado, contactar o Centro Colaborador do EWGLI: Laboratório de Microbiologia do Hospital de Santa Cruz ou Departamento Universitário de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

Quadro II

Métodos de diagnóstico laboratorial em uso					
Método	Sensibilidade	Especificidade	Vantagens	Desvantagens	Comentários
Ex. cultural (BMPA).	60%	100%	Diagnóstico confirmado de qualquer espécie.	Resposta demorada. Antes de iniciar anti-bioterapia.	<i>Gold standard</i> . Único que permite tipificação molecular e estudos epidemiológicos.
Pesquisa de antigénio em produtos respiratórios (IFD).	25-75%	> 95%	Resposta rápida mesmo depois de iniciar anti-bioterapia.	Diagnóstico presuntivo de <i>L. pneumophila</i> .	
Pesquisa de antigénio na urina (ELISA e ICT).	ELISA 90% ICT 98%	ELISA 100% ICT 100%	Resposta rápida. Diagnóstico confirmado.	Diagnóstico de <i>L. pneumophila</i> serogrupo 1. Positividade pode manter-se meses.	
Pesquisa de anticorpos no soro (IFI).	78-91%	99%	Para <i>Legionella pneumophila</i> serogrupo 1 é diagnóstico confirmado quando seroconversão com 2.º título ≥ 128 .	Para os outros serogrupos ou espécies, o diagnóstico será presuntivo se seroconversão com 2.º título ≥ 128 . O mesmo, quaisquer que sejam o serogrupo ou a espécie, se título único ≥ 256 .	Cinética mal conhecida.

Laboratórios de microbiologia clínica vocacionados para satisfazer os pedidos de exame laboratorial apresentados por estabelecimentos que não disponham de recursos para os realizar.

Exame cultural, imunofluorescência directa, imunofluorescência indirecta e antigenúria.

- Hospital de Santa Cruz. Laboratório de Microbiologia.
- Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Laboratório de Bacteriologia.

Refere-se a propósito que pela facilidade da técnica de execução da pesquisa da antigenúria, este método deveria estar disponível na maioria dos estabelecimentos hospitalares.

**Linha Legionela (alerta com prontidão).
Região de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo.**

Na sequência do diagnóstico dum caso de doença dos legionários, o facto deverá ser comunicado, em tempo útil, ao serviço de saúde pública competente para operacionalizar a averiguação interpretativa daquilo que terá ocasionado, em termos ambientais, essa situação clínica e outras que com ela eventual e originariamente estejam relacionadas. Este procedimento, eficaz, não substitui nem faz dispensar o envio da declaração obrigatória de doenças transmissíveis à autoridade de saúde do concelho de residência do doente, antecipando-se-lhe, tão-somente.

No contexto territorial da Região de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo (inclui os distritos de Lisboa, de Santarém e de Setúbal) a comunicação com prontidão será feita para o Centro Regional de Saúde Pública de Lisboa e Vale do Tejo (Polo Central) por telefone (n.º 21 842 6616) ou por faxe (n.º 21 842 6680).

Contactar: Linha Legionela.

**Actuação em caso de surto epidémico.
Região de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo**

Na eventualidade da ocorrência de um surto epidémico, pela necessidade de consolidação dos dados e das conclusões obtidos através do método epidemiológico, haverá que proceder-se à caracterização laboratorial das bactérias nele envolvidas concretizando-se a tipificação das respectivas estirpes, quer das legionelas isoladas a partir de produtos clínicos quer das legionelas isoladas em amostras – água, biofilmes, sedimentos, aerossóis – colhidas na vertente ambiental presumivelmente implicada. A sua comparação permitirá confirmar ou infirmar o estar-se perante a mesma estirpe em ambas as proveniências, portanto, o haver nexo de causalidade.

Com o intuito referido, a autoridade de saúde regional virá a determinar que, independentemente do laboratório onde as estirpes tenham sido isoladas, as mesmas deverão ser enviadas ao laboratório de legionelas do Centro Colaborador do *European Working Group for Legionella Infections* (HSC/FCM-UNL), situado na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, Departamento Universitário de Microbiologia (Prof.^a Maria Teresa Marques) a fim de que aí se venha a proceder à tipificação das estirpes e a eventuais estudos de virulência das mesmas.

O mesmo critério de actuação poderá vir a ser aplicado a propósito de casos clínicos isolados, se tal for julgado conveniente pela autoridade de saúde regional, pelo que qualquer estirpe de *Legionella* isolada deverá sempre ser conservada a -20°C ou enviada para o laboratório de microbiologia do Hospital de Santa Cruz ou para o da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa.

Bibliografia recomendada

Bartlett JG, Dowell SF, Mandell LA, File TM, Fine MJ. Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia. *Clinical Infectious Diseases* 2000;3:347-382.

Cunha BA. Clinical features of Legionnaires' Disease. *Semin Respir Infect* 1998;13:116.

Doença dos Legionários. Procedimentos e Controlo nos Empreendimentos Turísticos. Guia Prático. Direcção-Geral da Saúde e Direcção-Geral do Turismo. Lisboa 2001.

Epidemiology, prevention and control of legionellosis: Memorandum from a WHO meeting. *Bulletin of the World Health Organization* 1990;68:155-164.

European Guidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease. July 2002 (www.ewgli.org).

Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation. *Clinical Microbiology Reviews* 2002;15:506-526.

Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Marin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS, and the field investigation team (1977). Legionnaires' Disease. Description of an epidemic of pneumonia. *New England Journal of Medicine* 1977;297:1189-1197.

Marques MT. Contribuição para o estudo do género *Legionella* em Portugal (tese de doutoramento apresentada na Faculdade de Medicina de Lisboa). *Arquivos do Instituto Bacteriológico Câmara Pestana*. 1999; Tomo XXIII: 89-218.

Revised case definition – Annual Scientific Meeting of the European Working Group for Legionella Infections, Helsinki 1998.

Stout JE, Yu VL. Legionellosis. *New England Journal of Medicine* 1997; 337:682-687.

