

## Historial de versões

<b>Versão</b>	<b>Data</b>	<b>Razões para a nova versão</b>
1	2015-04-10	
2	2021-10-14	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Enquadramento legal Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto</li><li>✓ Introdução da aplicação Android <i>SAMPLING</i></li></ul>

PT-REC-09/V02	<b>Recolha de Amostra para a Pesquisa e Quantificação de Legionella</b>
<b>EQUIPAMENTOS DE AMOSTRAGEM</b> (a) <ul style="list-style-type: none"><li>• Sonda de temperatura;</li><li>• Zaragatoas em tubo;</li><li>• Frascos de um litro esterilizados<sup>(c)</sup>, em mangas;</li><li>• Moldes estéreis;</li><li>• Termoacumuladores;</li><li>• Malas térmicas;</li><li>• Luvas.</li><li>• Máscaras de protecção respiratória FFP3;</li><li>• Tesoura</li><li>• Álcool a 70%</li><li>• Botas para imersão (se necessário).</li><li>• <b>Recipientes estéreis de menor dimensão podem ser utilizados para colheita de lama, depósitos, sedimentos ou biofilme, incluindo zaragatoas.</b></li></ul>	  
<b>RECOLHA PARA PESQUISA DE LEGIONELLA</b>  <b>ANTES DA RECOLHA</b>  <u>O Técnico de Colheita, ainda no CESAB, deve:</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• preparar o vasilhame necessário à campanha (a, b e c). Todas as malas térmicas deverão, na tampa, ser identificadas com o nome do cliente e ponto de amostragem;</li><li>• certificar-se, sempre, que possui todo o equipamento, vasilhame e material necessário à amostragem;</li><li>• confirmar se o Relatório de Colheita, RC, que possui é o correcto e garantir que o leva para campo, <b>ou se tem a informação disponível em modo "offline" no sampling;</b></li><li>• verificar sempre se é necessário, para o cliente em questão, o preenchimento de informação especial no Relatório de Colheita;</li><li>• Telefonar ao funcionário, que o acompanhará, para marcar uma hora provável de chegada. Posteriormente, se necessário, informar de alterações ao combinado.</li></ul> <b>RECOLHA</b>  <u>O Técnico da recolha, em campo, e antes da recolha da amostra, deve sempre:</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Rotular todos os frascos</b> antes da recolha para evitar confusões e para que as etiquetas fiquem bem aderidas aos frascos.</li><li>• Levar frascos extra para controlo das temperaturas de transporte. Ponto 9.4 do "PT-MET-80" Acondicionamento e Transporte.</li></ul>	<b>VASILHAME:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Consultar <b>Relatório de Colheita</b> e respectivas etiquetas – informação sobre o número, tipo e conservação do vasilhame;</li></ul> <b>CUIDADOS A TER:</b> <b>Consultar o Procedimento, PT-REC-01, "Normas de higiene e Segurança dos Técnicos Responsáveis pela Amostragem".</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• (a) É da responsabilidade do Técnico da Colheita a correcta preparação do vasilhame, segundo as instruções de utilização do vasilhame dadas pelo GAT;</li><li>• (b) Todos os frascos devem ser correctamente rotulados, com etiquetas onde conste: nome do <b>ponto de amostragem</b> e o <b>nome da área</b>. A etiqueta poderá ser substituída por marcação do frasco com os mesmos elementos escritos com caneta própria;</li><li>• (c) A massa teórica de Tiosulfato de sódio (pentahidratado) necessária para inactivar 1 mg de Cloro é 7,1 mg. Logo, 1 ml de solução de (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) = 18 mg/ml adicionada a um frasco de 1 L, terá capacidade de inactivar entre 2 mg/L e 5 mg/L de cloro residual, dependendo das dinâmicas de inactivação específicas de cada amostra. O que é suficiente para a maioria das amostras.</li></ul> <p>Em certas circunstâncias, tais como lava-pés em piscinas, tratamento de choque, podem ser encontradas concentrações mais elevadas e será necessário uma dosagem de Tiosulfato de sódio proporcionalmente mais elevada. O que pode ser conseguido homogeneizando bem a amostra num 1º frasco microbiológico estéril e transferir a amostra para um 2º, em condições que garantam a integridade da amostra (anotar este procedimento no <b>RC</b>).</p> <p>O tiosulfato de sódio não tem efeito na amostra pelo que pode ser usado também em amostras não cloradas.</p>



PT-REC-09/V02	Recolha de Amostra para a Pesquisa e Quantificação de Legionella
<p>A Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto estabelece o regime de prevenção e controlo da doença dos legionários e procede à quinta alteração ao <u>Decreto-Lei n.º 118/2013</u>, de 20 de agosto. Esta Lei aplica-se, para os seguintes setores de atividade:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Equipamentos de transferência de calor associados a sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado ou a unidades de tratamento do ar, desde que possam gerar aerossóis de água <sup>(d)</sup>:<ul style="list-style-type: none"><li>i) Torres de arrefecimento;</li><li>ii) Condensadores evaporativos;</li><li>iii) Sistemas de arrefecimento de água de processo industrial;</li><li>iv) Sistemas de arrefecimento de cogeração;</li><li>v) Humidificadores.</li></ul></li><li>- A sistemas inseridos em espaços de acesso e utilização pública que utilizem água para fins terapêuticos ou recreativos e que possam gerar aerossóis de água;</li><li>- A redes prediais de água, designadamente água quente sanitária;</li><li>- A sistemas de rega ou de arrefecimento por aspersão, fontes ornamentais ou outros geradores de aerossóis de água com temperatura entre 20°C e 45°C.</li></ul> <p>Os procedimentos de amostragem, para a pesquisa de <i>Legionella</i>, diferem, dependendo dos objectivos da análise. Assim, a escolha do procedimento de amostragem depende do local de colheita:</p> <p><b>Nas redes prediais de água.</b></p> <p>Os pontos de colheita de amostras serão os definidos tendo como base o estudo do diagrama esquemático dos serviços de água e a observação das redes.</p> <p><b>Na rede predial de água quente sanitária recirculante.</b></p> <p>Em princípio, deverão ser sempre considerados pontos de colheita que incluam o dreno de fundo de depósitos de aquecimento, o percurso de retorno nomeadamente o dreno de colectores de retorno, e pontos de consumo quer rotativamente quer em função de risco particular no qual podem relevar a menor frequência de utilização e a maior distância ao depósito de aquecimento.</p> <p><b>Em torres de arrefecimento.</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Na entrada do fornecimento de água, para pesquisa e determinação doutros parâmetros.</li><li>- No tanque: no seu interior em ponto distante da entrada da água de compensação, no dreno de fundo ou no tubo de descarga.</li><li>- No circuito próprio da torre, num ponto ligado à canalização da água de retorno ao topo da torre.</li><li>- No bloco evaporativo (biofilme). No tanque (biofilme, depósitos ou sedimentos).</li><li>- Em qualquer reservatório de água existente no sistema.</li></ul>	<p><sup>(d)</sup> são considerados aerossóis de água as suspensões no meio gasoso de partículas sólidas ou líquidas, com dimensão inferior a 10 µm, com origem em microgotículas de água.</p> <p>Excluem-se do âmbito de aplicação da Lei n.º 52/2018, de 20 de agosto, as redes e os sistemas previstos nas alíneas c) e d) do n.º 1 que estejam:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>a) Localizados em edifícios afetos exclusiva ou predominantemente ao uso habitacional, considerando-se como tal os edifícios em que pelo menos 50 % da área total se encontra afeta a habitação, exceto se instalados nas zonas comuns de conjuntos comerciais, zonas comuns de grandes superfícies comerciais ou frações autónomas destinadas ao comércio a retalho que disponham de uma área de venda igual ou superior a 2000 m<sup>2</sup>;</li><li>b) Inseridos em edifícios exclusiva ou predominantemente de escritórios, considerando-se como tal os edifícios em que pelo menos 50 % da área total se encontra afeta a escritórios, exceto se instalados nas zonas comuns de conjuntos comerciais, zonas comuns de grandes superfícies comerciais ou frações autónomas destinadas ao comércio a retalho que disponham de uma área de venda igual ou superior a 2000 m<sup>2</sup>;</li><li>c) Inseridos em edifícios e espaços que não sejam de acesso e utilização pública.</li></ul>

PT-REC-09/V02

**Recolha de Amostra para a Pesquisa e  
Quantificação de Legionella****Em equipamentos de climatização do ar.**

- Amostra de água de condensação com ou sem acumulação, nos tabuleiros de condensados.
- Amostra de biofilme ou de depósito, obtida nos tabuleiros de condensados ou nos seus drenos.
- Amostra de água em circuito fechado, arrefecida (gelada), para climatização de ar em ventiloconvectores, unidades de tratamento de ar e unidades de tratamento de ar novo.
- Amostra de água em circuito fechado, moderadamente aquecida, para climatização de ar em ventiloconvectores, unidades de tratamento de ar e unidades de tratamento de ar novo.

**A - Colheita de amostra de água em torneiras, em torneiras de dreno e em chuveiros**

Caracterização da água utilizada: efetuar a colheita diretamente, sem desinfecção e imediatamente após abertura da torneira, de modo a poder ser avaliada a pior situação.

- 1) Calçar luvas esterilizadas, ou caso não sejam esterilizadas, desinfetá-las com álcool etílico a 70% e deixar seca. Usar máscara de protecção;
- 2) Não desmontar acessórios da torneira, caso existam;
- 3) Não deixar correr a água;
- 4) Não desinfetar interior e exteriormente o bocal da torneira com algodão embebido em álcool;
- 5) Não flamejar a torneira;
- 6) Destapar o frasco (1L) na proximidade da torneira, conservando a tampa virada para baixo.
- 7) Encher o frasco, **sempre que possível numa torneira com água quente**, até ao meio com o fluxo inicial de água, mantendo-o inclinado e sem contacto com a torneira <sup>(e)</sup>.
- 8) **Se for feito esfregaço com Zaragatoa**
  - 1) Realizar a colheita de biofilme com zaragatoa na torneira ou chuveiro **(ver ponto D)**.
  - 2) Depois da zaragatoa efetuada. Perfazer o volume de amostra, enchendo o resto do frasco, com a amostra de água, o qual receberá o raspado trazido pela água. O frasco deve ser cheio até 2-3 centímetros do topo, sem que este ou a tampa toquem em qualquer parte.
  - 3) Colocar o frasco e a zaragatoa na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolados e protegidos contra temperaturas extremas <sup>(f)</sup>.

**CUIDADOS A TER:**

<sup>(e)</sup> No caso em que o ponto de colheita é um chuveiro, **para minimizar a formação de aerossóis**, introduzir a cabeça do chuveiro, sem retirar o crivo, dentro de um saco de plástico estéril, ao qual foi previamente cortado um dos cantos. Antes de efectuar o corte, passar as lâminas da tesoura por algodão embebido em álcool a 70%.



Figura 1 - Corte saco estéril

Com o canto cortado do saco no bocal do frasco de colheita, colher a amostra (Fig.2).



Figura 2 – Encher o frasco de 1L para Legionella em chuveiros

PT-REC-09/V02

**Recolha de Amostra para a Pesquisa e  
Quantificação de Legionella****Se NÃO for feito esfregaço com Zaragatoa**

- 1) Deixar a água correr até ficar tépida e completar o litro de amostra com essa água.
- 2) O frasco deve ser cheio até 2-3 centímetros do topo, sem que este ou a tampa toquem em qualquer parte.
- 3) Colocar o frasco na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolado e protegido contra temperaturas extremas <sup>(6)</sup>.

Caso se pretenda a caracterização da água fornecida: efetuar a colheita após desinfecção e depois da rejeição da água estagnada nas tubagens. Só depois proceder ao passo 6 e seguintes.

**B - Colheita de amostra de água climatizada de uso recreativo.  
(Piscinas, Jacuzzi, banhos turcos, saunas e banheiras de hidromassagem, Tratamentos com jactos a pressão)****B.1 – Sem frasco de mergulho**

- 1) Lavar as mãos e antebraço minuciosamente e/ou utilizar luvas descartáveis esterilizadas, ou caso não sejam esterilizadas, desinfetá-las com álcool etílico a 70% e deixar seca. Usar máscara de protecção;
- 2) Submergir o frasco em posição invertida e vertical, mergulhando o braço até à zona do cotovelo (a uma profundidade de 10 a 30 cm).
- 3) Com o frasco mergulhado, deve inclinar e só depois destapar o frasco. Abrir e deslizá-lo na horizontal e de seguida trazer o frasco à superfície na vertical ao longo da coluna de água. Deve-se assegurar que o mesmo não encha completamente e deve rolhá-lo, ainda, debaixo de água <sup>(9)</sup>;



- 4) Em jacuzzi e piscinas pequenas com profundidade máxima de 0,6 m, fechar o frasco à superfície.
- 5) Se necessário determinar a temperatura e o teor de desinfetante residual.
- 6) Colocar o frasco na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolado e protegido contra temperaturas extremas <sup>(6)</sup>.

**CUIDADOS A TER:**

<sup>(6)</sup> A análise deve começar o mais rapidamente possível, de preferência no mesmo dia. Se entre a colheita e o início da análise decorrer menos de 24 horas o transporte deverá ser assegurado a uma temperatura inferior à temperatura de colheita da amostra, num intervalo de temperatura dos 6 aos 18°C .

Quando não for possível iniciar a análise nas 24 horas, num intervalo de tempo 24h a 48 h, a temperatura de transporte e armazenamento deverá ser entre 5±3 °C.

- <sup>(9)</sup> Os frascos microbiológicos possuem um sistema de segurança, para se assegurar que o frasco está bem vedado, deve estar atento e rodá-lo até ouvir um clique.



PT-REC-09/V02

## Recolha de Amostra para a Pesquisa e Quantificação de Legionella

### B.1 – Com frasco de mergulho (tanques ou reservatórios de grande profundidade)

- 1) Prender as cordas aos dispositivos da armação do frasco, mantendo-o dentro da caixa de protecção. Utilizar um frasco de 1 litro ou dois frascos de 0,5 litro;
- 2) Retirar, caso exista, a tira de papel que impede a tampa de colar ao gargalo, sem tocar neste;
- 3) Submergir o frasco, até cerca de 30 cm ou o mais abaixo possível, até ao limite das cordas mas sem tocar no fundo, no caso de depósitos sem torneira de dreno;
- 4) Accionar a corda de abertura do frasco;
- 5) Depois de cheio, fechar o frasco e retirá-lo da água;
- 6) Identificar o frasco.
- 7) Colocar o frasco na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolado e protegido contra temperaturas extremas <sup>(f)</sup>.

### C - Colheita de amostra de água em depósitos de pouca profundidade (por exemplo, um tanque de uma torre de Refrigeração)

Recolher a amostra no ponto mais afastado possível da entrada de água (válvula de flutuação), de desinfetante e do possível sistema de recirculação da água do depósito.

1. Calçar luvas esterilizadas, ou caso não sejam esterilizadas, desinfetá-las com álcool etílico a 70% e deixar seca. Usar máscara de protecção; <sup>(h)</sup>;
2. Destapar o frasco (de 1 litro esterilizado exteriormente) na proximidade da água, conservando a tampa virada para baixo e sem a pousar.
3. Mergulhar o frasco virado para baixo, em posição próxima da horizontal (para evitar a perda do tiosulfato), inclinándolo para cima para o encher. Recolher possíveis restos de sujidade e incrustações;
4. Retirar o frasco e fechá-lo;
5. Identificar o frasco;
6. Colocar o frasco na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolado e protegido contra temperaturas extremas <sup>(f)</sup>.

Nota: Nos tanques das torres de Refrigeração, as amostras poderão ser colhidas aspirando a água como auxílio de uma seringa esterilizada.

### CUIDADOS A TER:

(h) Usar **sempre** máscara de protecção e luvas quando os locais de colheita são em torres de refrigeração, condensadores evaporativo ou outros aparelhos de refrigeração que utilizem água no seu funcionamento e que geram aerossóis.



*Para valores na água inferiores a 100 ufc/L de Legionella spp., considera-se que o sistema está sob controlo, contudo estes valores não são iguais em toda a bibliografia e devem ser tomados apenas como referência.*

PT-REC-09/V02

**Recolha de Amostra para a Pesquisa e  
Quantificação de Legionella****D - Colheita de água de condensação, de biofilme ou de sedimentos****COM ZARAGATOA**

- 1) Calçar luvas esterilizadas, ou caso não sejam esterilizadas, desinfetá-las com álcool etílico a 70% e deixar seca. Usar máscara de protecção <sup>(i)</sup>.
- 2) Abrir a embalagem e colar a etiqueta com a identificação do local de colheita;
- 3) Retirar a zaragatoa da manga ou do tubo, tocando-lhe só na extremidade da pega (Figura A);
- 4) Esfregar as superfícies pretendidas com a zaragatoa;
- 5) De seguida, colocá-la dentro do tubo com 10 ml de solução de Ringer a ¼ com tiosulfato sódico;
- 6) Colocar o frasco na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolado e protegido contra temperaturas extremas <sup>(i)</sup>.

**ZARAGATOA EM PAVIMENTOS (acesso a piscinas)**

- 1) Calçar luvas esterilizadas, ou caso não sejam esterilizadas, desinfetá-las com álcool etílico a 70% e deixar seca. Usar máscara de protecção.
- 2) Abrir a embalagem e colar a etiqueta com a identificação do local de colheita;
- 3) Retirar a zaragatoa da manga ou do tubo, tocando-lhe só na extremidade da pega (Figura A);
- 4) No caso de pavimentos, a colheita deve ser preferencialmente executada em áreas de 100cm<sup>2</sup>, se possível utilizar molduras estéreis com área definida.
- 5) A zaragatoa deve ser humedecida na solução de Ringer, mas deve-se remover o excesso de líquido, pressionando a zaragatoa contra a parede do tubo para a remover o excesso de líquido;
- 6) Colocar a ponta da zaragatoa na superfície a analisar com uma área estimada de 100 cm<sup>2</sup>, utilizando a moldura estéril;
- 7) Executam-se movimentos paralelos e com ligeira rotação na área pretendida, seguindo-se movimentos perpendiculares aos iniciais. Coloca-se a zaragatoa na solução de Ringer e agita-se.
- 8) Colocar o frasco na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, isolado e protegido contra temperaturas extremas <sup>(i)</sup>.

**CUIDADOS A TER:**

Figura A – Pegar apenas na extremidade da pega

(i) Imediatamente antes da colheita, as mãos devem ser lavadas e desinfetadas, utilizando para o efeito um desinfectante adequado para mãos ou fórmula comercial de álcool etílico (70%);

As mãos não devem tocar directamente na superfície a analisar nem os utensílios que a irão contactar.



PT-REC-09/V02

## Recolha de Amostra para a Pesquisa e Quantificação de Legionella

### Nota - Colheita de amostras em duplicado; Controlo qualidade associado à colheita de amostra

Devido a variedade de metodologias de colheita, definidas em função da tipologia e condicionantes do sistema a caracterizar, a metodologia de colheita de duplicados de amostragem deverá ser definida de modo a que as várias variáveis sejam contempladas nas duas amostras <sup>(i)</sup>.

<sup>(i)</sup> A título de exemplo,

**Duplicado de Colheita** de amostra de água em torneiras, em torneiras de dreno e em chuveiros (**levar para campo 3 frascos de 1 L estéreis e com tiossulfato**).

- 1) Não desmontar acessórios da torneira/chuveiro, caso existam;
- 2) Não deixar correr a água;
- 3) Não desinfetar interior e exteriormente o bocal da torneira/chuveiro com algodão embebido em álcool;
- 4) Não flamejar a torneira/chuveiro;
- 5) Destapar o **frasco A** (1L) na proximidade da torneira, conservando a tampa virada para baixo;
- 6) Encher o frasco, **sempre que possível numa torneira/chuveiro com água quente**, com o fluxo inicial de água, mantendo-o inclinado e sem contacto com a torneira/chuveiro. O frasco deve ser cheio até 2-3 centímetros do topo. Rolhar bem o frasco e fechar o frasco;
- 7) Homogeneizar a amostra contida no frasco A e dividir esta amostra pelos frascos microbiológicos B e C. Observando sempre as boas práticas para evitar contaminações acidentais.

**8.1) Etapa facultativa** e a discutir com o responsável da instalação - Com a parte de dentro do invólucro esterilizado que protegia o **frasco A**, raspar a superfície da torneira/chuveiro;

8.1) Abrir o fluxo da torneira/chuveiro e encher o frasco A até 2-3 centímetros do topo. Se se tratar de um chuveiro, colocar a manga estéril, tal como indicado na figura 2 da página 3;

8.2) Repartir esta nova amostra pelos **frascos B e C**. As tampas não devem tocar em qualquer parte.

8.2) **Saltar o ponto 8.1)** abrir a torneira e aguardar que a água fique tépida e, em seguida, encher o **frasco A** até 2-3 centímetros do topo. Repartir esta nova amostra pelos **frascos B e C**. As tampas não devem tocar em qualquer parte.

9) Colocar os **frascos B e C** na mala de transporte refrigerados e ao abrigo da luz, se possível entregá-lo já no laboratório subcontratado.

O **Fasco A** é um frasco de **apoio** que permite reunir no **Frasco B** e no **Frasco C** dois **duplicados de colheita** representativos da água distribuída e da superfície da interface usada pelo utilizador (neste caso o chuveiro).