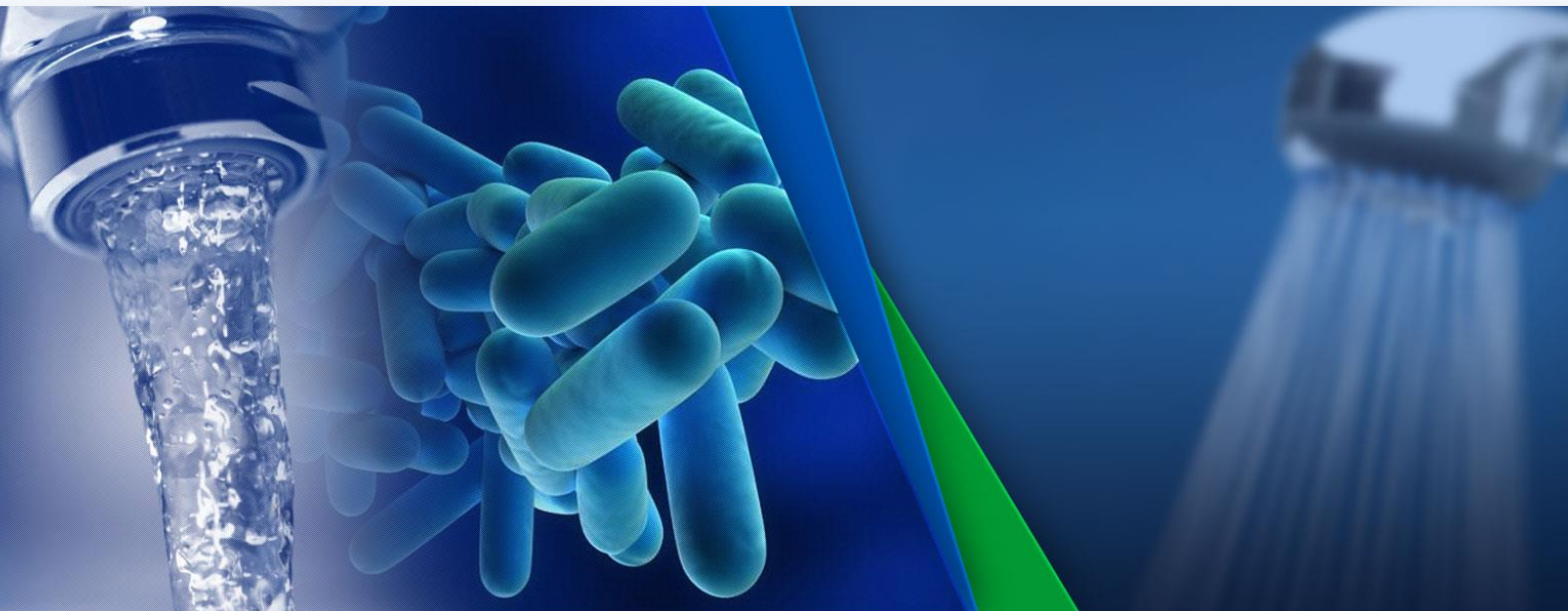




Prevenção e controlo de bactérias do género *Legionella* em redes de água, sistemas e equipamentos. Implementação de um plano de caracterização e monitor

SUSANA CATARINA MARTINS COSTA

novembro de 2020



Prevenção e controlo de bactérias do género *Legionella* em redes de água, sistemas e equipamentos.
Implementação de um plano de caracterização e monitorização.

Julho 2020

AUTOR

Susana Catarina Martins Costa

ORIENTAÇÃO

Dr.^a Margarida Valente
Doutor Eduardo V. Soares

Mestrado em Biorrecursos

Dissertação Submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biorrecursos

Agradecimentos

Gostava em primeiro lugar mostrar o meu agradecimento ao Instituto que me acolheu durante cinco anos, Instituto Superior de Engenharia do Porto de onde levo várias ferramentas para a minha vida profissional e várias memórias que carregarei durante toda a minha vida. Em segundo lugar, e não menos importante, gostava de agradecer à empresa que me acolheu e onde realizei a dissertação de mestrado, as Águas do Douro e Paiva S.A., em especial à coordenadora do Laboratório de Lever, Dra. Carolina Tavares.

Gostava ainda de agradecer, de uma forma particular, aos meus orientadores que me acompanharam, guiando e auxiliando-me nesta etapa, a Dra. Margarida Valente das Águas do Douro e Paiva e ao Doutor Eduardo Soares do Instituto Superior de Engenharia do Porto, sem os quais esta dissertação não podia ter sido realizada.

Não esquecendo de agradecer a todas as pessoas que tornaram possível frequentar este estágio, em particular os meus pais, José Costa e Paulina Martins. Gostava ainda de agradecer em especial à equipa da microbiologia, que me acompanharam e ajudaram sempre que pedi e a todos os colaboradores do Laboratório que do Laboratório sempre prontos a ajudar.

Por fim, gostava de agradecer à Dra. Juliana Rodrigues, Dr. Manuel Carneiro, Dr. Artur Sousa e Eng. Maria João Guedes por sempre terem uma palavra amiga para dar.

Abstract

Legionella is problematic bacterium that deserves the attention of the public health, because it developed an almost unique way of adapting to the modern and industrial world that we build. This work had as main objectives: i) to implement three different methodologies used for research and quantification of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila*; ii) carry out a risk assessment in the reality of Águas do Douro e Paiva (ADP).

To achieve the first objective, the following techniques were used: cultural method, using Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) agar and Glycine Vancomycin Polymyxin Cycloheximide (GVPC) agar; Legiolert and Legipid. To achieve the second objective, a risk assessment methodology based on the global risk assessment was used. This made it possible to build a history about the reality of the ADP company and the risk of the proliferation of *Legionella* hitherto unknown.

In the implementation of the three methodologies for the quantification of *Legionella* spp. and *L. pneumophila* 154 determinations were carried out between December 2019 and September 2020. Of these determinations, 16 were positive and in 138 the presence of *Legionella* was not detected. The studies showed that, in the context of the ADP company, the best method to adopt will be the cultural method. However, further studies are needed to see if this method will be the best option for all water matrices.

From the risk analysis it was possible to notice that there are several systems that have some of the critical aspects for the growth of this bacterium, such as the water temperature above 20 °C during a long period of the year. The highest Global Index value found was 45.4 in a domestic hot water system. None of the evaluated points exceeded the limit value of 60. Considering the analysis carried out, it was possible to conclude that the risk of *Legionella* proliferation in Águas do Douro e Paiva is not serious. However, this risk must be monitored and reassessed whenever justified.

Sumário

A *Legionella* é cada vez mais uma bactéria que merece a atenção da área da saúde pública, uma vez que apresenta uma forma quase única de se adaptar ao mundo moderno e industrial que construímos. Este trabalho teve como principais objetivos: i) implementar três metodologias distintas utilizadas para pesquisa e quantificação de *Legionella* spp. e *Legionella pneumophila*; ii) efetuar uma avaliação do risco na realidade da empresa Águas do Douro e Paiva (ADP).

Com o intuito de se alcançar o primeiro objetivo foram utilizadas as seguintes técnicas: método cultural, usando os meios *Buffered Charcoal Yeast Extract* (BCYE) agar e Glicina Vancomicina Polimixina Cicloheximida (GVPC) agar; *Legiolert* e *Legipid*. Para se atingir o segundo objetivo foi utilizada uma metodologia de avaliação de risco baseada na avaliação do risco global. Isto permitiu contruir um historial sobre a realidade da empresa ADP e o risco da proliferação da *Legionella* até aqui desconhecido.

Na implementação das três metodologias para a quantificação de *Legionella* spp. e *L. pneumophila* foram realizadas 154 determinações, entre os meses de dezembro de 2019 e setembro de 2020. Destas determinações, 16 foram positivas e em 138 não foi detetada a presença de *Legionella*. Os estudos efetuados apontam para que, no contexto da empresa ADP, o melhor método a adotar será o método cultural. Contudo, são necessários mais estudos para se verificar se este método será a melhor opção para todas as matrizes de água.

Da análise de risco foi possível perceber que existem diversos sistemas que possuem alguns dos aspetos críticos para o crescimento desta bactéria, como por exemplo a temperatura da água acima dos 20 °C durante um largo período do ano. O valor de Índice Global de risco mais elevado encontrado foi de 45,4, num sistema de água quente sanitária. Nenhum dos pontos avaliados ultrapassou o valor limite de 60. Tendo em conta a análise efetuada, foi possível concluir que o risco da proliferação de *Legionella* na empresa Águas do Douro e Paiva não é grave. No entanto, este risco deve ser monitorizado e reavaliado sempre que se justifique.

Índice

Capítulo 1 – Introdução.....	1
1.1. Empresa Águas do Douro e Paiva	1
1.2. Objetivos do trabalho	3
1.3. Enquadramento legal do tema da presente tese	3
1.4. A bactéria <i>Legionella</i>	6
1.4.1. Enquadramento histórico.....	6
1.4.2. Género <i>Legionella</i> e as suas espécies.....	6
1.4.3. <i>Legionella pneumophila</i>	10
1.4.4. De microrganismo ambiental a agente patogénico acidental	11
1.4.5. Incidência da doença dos legionários em Portugal e na Europa	12
1.5. Desinfeção e sistemas de abastecimento.....	14
1.6. Metodologias de Análise de risco	15
1.7. Monitorização da <i>Legionella</i> em circuitos de água	18
1.7.1. Amostragem	18
1.7.2. Métodos de análise de <i>L. pneumophila</i> e <i>Legionella spp.</i>	20
1.7.2.1. Cultura em placa.....	20
1.7.2.2. <i>Legiolert</i>	22
1.7.2.3. <i>Legipid® Fast Detection Test Legionella spp.</i>	23
1.7.3. Limite de quantificação dos métodos de análise	24
Capítulo 2 – Materiais e métodos.....	25
2.1 Amostragem.....	25
2.1.1 Colheita de amostras de água destinada ao consumo humano.....	25
2.1.2 Colheita em sistemas que necessitem de colheita de biofilme	25
2.2 Quantificação de <i>Legionella spp.</i> e <i>L. pneumophila</i>	25

2.2.1	Sementeiras.....	26
2.2.2	Incubação	27
2.2.3	Análise das placas.....	27
2.2.4	Confirmação das presumíveis colónias de <i>Legionella</i> spp.	27
2.2.5	Teste de aglutinação em látex	28
2.3	Quantificação de <i>L. pneumophila</i> – <i>Legiolert</i>	28
2.3.1	Água potável.....	28
2.3.2	Água não potável.....	29
2.4	Quantificação de <i>Legionella</i> spp. - <i>Legipid</i> ® <i>Legionella Fast Detection</i>	30
2.4.1	Pré-tratamento da amostra	30
2.4.2	Análise com o kit <i>Legipid</i> ® <i>Legionella Fast Detection</i>	31
2.4.2.1	Fase de captura	31
2.4.2.2	Fase de marcação.....	32
2.4.2.3	Fase de deteção	32
2.4.3.	Leitura do resultado	33
Capítulo 3 – Resultados e discussão		34
3.1	Monitorização de <i>Legionella</i> em circuitos de água – Métodos de análise 34	
3.1.1.	Cultura em placa	34
3.1.2	Quantificação de <i>L. pneumophila</i> – <i>Legiolert</i>	36
3.1.3	Quantificação de <i>Legionella</i> spp. - <i>Legipid</i> ® <i>Legionella Fast Detection</i>	37
3.1.4	Comparação dos métodos	38
3.2	Análise de risco	42
3.2.1	Resultados da análise de risco	44
Capítulo 4 – Conclusões		46
Capítulo 5 – Trabalho futuro		47

Capítulo 6 – Bibliografia	48
Capítulo 7 – Anexos.....	41
6.1. Anexo A – Tratamento das amostras para cultura em placa.....	41
A.1 Tratamento ácido.....	41
A.2 – Tratamento pelo calor	41
6.2. Anexo B – Esquemas dos diferentes procedimentos de cultura em placa	42
B.1 Amostras com alta concentração de espécies de <i>Legionella</i> e baixa concentração de microrganismos interferentes	42
B.2 Amostras com baixa concentração de espécies de <i>Legionella</i> e baixa concentração de microrganismos interferentes	42
B.3 Amostras com alta concentração de microrganismos interferentes	43
B.4 Amostras com uma concentração extremamente alta de microrganismos interferentes.....	44
6.3. Anexo C – Tabelas para a avaliação do risco.....	45
C.2 - Água quente sanitária	50
C.3 - Torres de refrigeração e condensadores evaporativos	55
C.4 - Rega por aspersão em meio urbano.....	62
C.5 - Rede de incêndio	68
C.6 - Outras instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis	73
6.4 - Anexo D – Análise de Risco	79
D.1 – Análise de risco do Ponto A – Água fria para consumo humano	79
D.2 – Análise de risco do Ponto B – Água fria de consumo humano.....	82
D.3 – Análise de risco do Ponto C – Água fria de consumo humano.....	85
D.4 – Análise de risco do Ponto D – Água quente sanitária.....	88
D.5 – Análise de risco do Ponto E – Água quente sanitária	92
D.6 – Análise de risco do Ponto F – Sistema AVAC	96

D.7 – Análise de risco do Ponto G – Sistema de Rega.....	100
D.8 – Análise de risco do Ponto H – Sistema de incêndio.....	104
D.9 – Análise de risco do Ponto I – Chuveiro Lava Olhos.....	107
6.5 Anexo E – Modelos de Registo.....	111
6.6. Anexo F – Tabela Legiolert	115

Índice de Figuras

Figura 1.1 - Mapa do sistema de abastecimento de água. Fonte: Águas de Douro e Paiva, S.A., 2019b.	1
Figura 1.2 - Cultura de <i>Legionella</i> spp. Fonte: Laboratorios Omega, 2019	7
Figura 1.3 - Gráfico representativo da atividade da <i>Legionella</i> spp. em água em função da temperatura (DGS, 2013).	8
Figura 1.4 - Ciclo de vida da bactéria <i>Legionella</i> em organismos do reino protista e em macrófagos; 1) a <i>Legionella</i> spp. conecta-se à célula hospedeira; 2) inibição da formação de fagolisossomas responsáveis pela digestão da bactéria; 3) as vesículas são envolvidas de ribossomas auxiliando, assim, uma rápida replicação da <i>Legionella</i> spp.; 4) ocorre a lise da vesícula e a replicação continua até provocar a lise do macrófago, aqui a <i>Legionella</i> para de se multiplicar até encontrar um organismo protista ou macrófago permissivo. Fonte: Best e Kwaik, 2018.	8
Figura 1.5 – Ciclo de vida de <i>L. pneumophila</i> num macrófago. Adaptado de: Machner et al, 2009.....	11
Figura 1.6 – Casos reportados por ano da doença dos legionários em Portugal de 2006 a 2019; adaptado de ECDC, 2020.	13
Figura 1.7 - Casos reportados da doença dos legionários na Europa de 2005 a 2019, adaptado de ECDC, 2020.	13
Figura 1.8 - Colheita realizada num chuveiro lava olhos.	19
Figura 1.9 - Colheita com zaragatoa de biofilme. 1. Raspar a superfície diagonalmente de um lado ao outro. 2. Continuar a raspar até cobrir toda a superfície. 3. Raspar de novo na direção oposta. 4. Continuar a raspar até cobrir toda a superfície (Relacre, 2017).....	19
Figura 1.10 - Resultados possíveis de um teste de aglutinação em latex a) resultado negativo e positivo a olho nu b) resultado negativo e positivo a nível molecular (Studyblue, 2020.).	22
Figura 1.11 - Atuação do <i>Legiolert</i> . Adaptado de IDEXX UK, 2019.	23
Figura 1.12 - Fases da quantificação de <i>Legionella</i> spp. <i>a</i> através do método <i>Legipid</i> [®] . Adaptado de: (Thermalindo Sarana Laboratoria, 2019)	24
Figura 2.13 – Representação esquemática do procedimento do método de quantificação de <i>Legiolert</i> para água potável.	29
Figura 2.14 - Representação esquemática do procedimento do método de quantificação de <i>Legiolert</i> para água não potável.	30

Figura 2.15 – Pré-tratamento da amostra.	31
Figura 2.16 - Sistema MP4.	31
Figura 2.17 - Preparação do reagente L4.	32
Figura 2.18 - Demonstração da adição do reagente de paragem.....	33
Figura 3.19 – Imagem de membranas em meio de cultura para pesquisa de <i>Legionella</i> spp. a) Membrana em BCYE sem aplicação de tratamento ácido. b) Membrana em BCYE+AB com aplicação prévia de tratamento ácido.	34
Figura 3.20 - Placa com crescimento abrupto de um fungo desconhecido.	35
Figura 3.21 - Positivo presumível de <i>Legionella</i> spp.; à esquerda: placa de BCYE com crescimento para os seis tipos de colónias analisadas; á direita: placa de BCYE-cys, sem crescimento para a colónia destacada na figura, sendo por isso esta um positivo.	35
Figura 3.22 - Teste de Latex para a pesquisa de <i>Legionella</i> spp.	36
Figura 3.23 – Resulto positivo de <i>L. pneumophila</i> com o método de pesquisa <i>Legiolert</i>	36
Figura 3.24 - Teste de <i>Legiolert</i> de um sistema de AVAC.	37
Figura 3.25 – Resultado de <i>Legipid</i> ® <i>Legionella Fast Detection</i> na fase de leitura do resultado.....	37
Figura 3.26 - Gráficos de temperaturas de quatro diferentes pontos de sistemas de água fria de consumo humano, monitorizados ao longo de 12 meses (1 de janeiro de 2019 a 1 de janeiro de 2020). Dados fornecidos pela empresa Águas do Douro e Paiva.	43
Figura B.27 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra com alta concentração de espécies de <i>Legionella</i> e baixa concentração de microrganismos interferentes adaptada, da Norma 11731:2017.....	42
Figura B.28 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra com baixa concentração de espécies de <i>Legionella</i> e baixa concentração de microrganismos interferentes, adaptada da Norma 11731:2017.....	42
Figura B.29 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra com alta concentração de microrganismos interferentes, adaptada da Norma 11731:2017.....	43
Figura B.30 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra uma concentração extremamente alta de microrganismos interferentes, adaptada da Norma 11731:2017.	44

Figura E.31 - Modelo de registo para o método de cultura (página 1).....	111
Figura E.32 - Modelo de registo para o método de cultura (página 2).....	112
Figura E.33 - Modelo de registo para o Legiolert.....	113
Figura E.34 – Modelo de registo para o método <i>Legipid</i> [®] <i>Fast Detection Test Legionella</i> spp.	114

Índice de tabelas

Tabela 1.1 – Espécies do género <i>Legionella</i> capazes de causar doença Adaptado de (Brooks et al, 2007).....	9
Tabela 1.2 – Espécies protistas que suportam o crescimento da bactéria <i>L. pneumophila</i> . Adaptado de Best e Kwaik, 2018.....	10
Tabela 1.3 – Limites de quantificação dos diferentes métodos usados.....	24
Tabela 3.4 – Tabela de resultados das diferentes análises realizadas em água quente sanitária.....	38
Tabela 3.5 – Tabela de resultados das diferentes análises realizadas em água fria de consumo humano.....	39
Tabela 3.6 – Tabela de resultados das diferentes análises realizadas em água natural doce superficial e subterrânea.	40
Tabela 3.7 – Tabela com resultados de amostras realizadas em água do sistema de rega, sistema de combate a incêndios e controlos positivos.....	41
Tabela 3.8 – Resultados da análise de risco para diferentes tipos de sistemas geradores de aerossóis.....	45
Tabela C.9 – Tabela de avaliação de risco em água fria de consumo humano através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	45
Tabela C.10 – Tabela de avaliação de risco em água fria de consumo humano através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	46
Tabela C.11 – Tabela de avaliação de risco em água fria de consumo humano através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	47
Tabela C.12 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em água fria de consumo humano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	48
Tabela C.13 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em água fria de consumo humano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	48
Tabela C.14 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em água fria de consumo humano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	49

Tabela C.15 – Tabela de avaliação de risco em água quente sanitária através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	50
Tabela C.16 – Tabela de avaliação de risco em água quente sanitária através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	51
Tabela C.17 – Tabela de avaliação de risco em água quente sanitária através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	52
Tabela C.18 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em sistemas de água quente sanitária (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	53
Tabela C.19 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em sistemas de água quente sanitária (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	53
Tabela C.20 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em sistemas de água quente sanitária (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	54
Tabela C.21 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	55
Tabela C.22 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco estrutural (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	56
Tabela C.23 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	57
Tabela C.24 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco de manutenção (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	58
Tabela C.25 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	59
Tabela C.26 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em torres de refrigeração e condensadores evaporativos (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	60

Tabela C.27 – Tabela de conversão numérica do índice do risco de manutenção em torres de refrigeração e condensadores evaporativos (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	60
Tabela C.28 – Tabela de conversão numérica do índice do risco de operação em torres de refrigeração e condensadores evaporativos (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	61
Tabela C.29 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	62
Tabela C.30 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco estrutural (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	63
Tabela C.31 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	64
Tabela C.32 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	65
Tabela C.33 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em sistemas de rega por aspersão em meio urbano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	66
Tabela C.34 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em sistemas de rega por aspersão em meio urbano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	66
Tabela C.35 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em sistemas de rega por aspersão em meio urbano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	67
Tabela C.36 – Tabela de avaliação de risco em redes de incêndio através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	68
Tabela C.37 – Tabela de avaliação de risco em redes de incêndio através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	69
Tabela C.38 – Tabela de avaliação de risco em redes de incêndio através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).....	70

Tabela C.39 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em redes de incêndios (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	71
Tabela C.40 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em redes de incêndios (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	71
Tabela C.41 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em redes de incêndios (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	72
Tabela C.42 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	73
Tabela C.43 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco estrutural (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	74
Tabela C.44 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003)..	75
Tabela C.45 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	76
Tabela C.46 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003)..	77
Tabela C.47 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	77
Tabela C. 48 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).	78
Tabela D.49 – Análise do risco estrutural do Ponto A.	79
Tabela D.50 – Análise do risco de manutenção do Ponto A.	80
Tabela D.51 – Análise do risco de operação do Ponto A.	81
Tabela D.52 – Análise do risco estrutural do Ponto B.	82
Tabela D.53 – Análise do risco de manutenção do Ponto B.	83

Tabela D.54 – Análise do risco de operação do Ponto B.	84
Tabela D.55 – Análise do risco estrutural do Ponto C.....	85
Tabela D.56 – Análise de risco de manutenção do ponto C.	86
Tabela D.57 – Análise de risco de operação no Ponto C.	87
Tabela D.58 – Análise de risco estrutural no Ponto D.	88
Tabela D.59 – Análise de risco estrutural no Ponto D (continuação).	89
Tabela D.60 – Análise do risco de manutenção para o ponto D.....	90
Tabela D.61 – Análise do risco de operação para o ponto D.....	91
Tabela D.62 – Análise de risco estrutural no Ponto E.....	92
Tabela D.63 – Análise de risco estrutural no Ponto E. (continuação)	93
Tabela D.64 – Análise do risco de manutenção para o ponto E.	94
Tabela D.65 – Análise do risco de operação para o ponto E.	95
Tabela D.66 – Análise de risco estrutural no Ponto F.....	96
Tabela D.67 – Análise de risco estrutural no Ponto F (continuação).....	97
Tabela D.68 – Análise do risco de manutenção para o ponto F	98
Tabela D.69 – Análise do risco de operação para o ponto F.	99
Tabela D.70 – Análise de risco estrutural no Ponto G.	100
Tabela D.71 – Análise de risco estrutural no Ponto G (continuação).....	101
Tabela D.72 – Análise do risco de manutenção para o ponto G.....	102
Tabela D.73 – Análise do risco de operação para o ponto G.....	103
Tabela D.74 – Análise de risco estrutural no Ponto H.	104
Tabela D.75 – Análise do risco de manutenção para o ponto H.....	105
Tabela D.76 – Análise do risco de operação para o ponto H.....	106
Tabela D.77 – Análise de risco estrutural no Ponto I.....	107
Tabela D.78 – Análise de risco estrutural no Ponto I (continuação).	108
Tabela D.79 – Análise do risco de manutenção para o ponto I.	109

Tabela D.80 – Análise do risco de operação para o ponto I.	110
---	-----

Nomenclatura

- AFCH – Água fria para consumo humano
- AND_{SB} – Água natural doce subterrânea
- AND_{SP} – Água natural doce superficial
- AQS – Água quente sanitária
- AVAC – Aquecimento, ventilação e ar condicionado
- ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*
- ETA – Estação de tratamento de água
- IPAC – Instituto português de acreditação
- IE – Índice estrutural
- IG – Índice global
- IG_{RI} – Índice global do risco inerente
- IG_{RR} – Índice global do risco residual
- IM – Índice de manutenção
- IO – Índice de operação
- ISO – *International organization for standardization*
- PCR – *Polymerase chain reaction*
- QAI – Qualidade do ar interior
- RIA – Radio imunoensaio
- RSECE – Regulamento dos sistemas energéticos de climatização em edifícios
- SA – *Social accountability*
- SI – Sistema de incêndio
- SR – Sistema de Rega
- UFC – Unidades formadoras de colónias
- UFC_{eq} – Unidades formadoras de colónias equivalentes

Capítulo 1 – Introdução

1.1. Empresa Águas do Douro e Paiva

A empresa Águas do Douro e Paiva, S.A., é uma sociedade de capitais públicos criada a 01 de fevereiro de 2017, com exclusividade na construção, gestão e concessão dos sistemas de abastecimento multimunicipal de águas do alto do grande Porto, por um prazo de 20 anos (Águas de Douro e Paiva, S.A.,2019a).

A empresa é constituída por 5 ETA's: Ferro, Ferreira, Baião, Castelo de Paiva e Lever, como é possível observar na Figura 1.1. A empresa capta, trata, distribui e analisa a água que atinge um público-alvo de cerca de 1.7 milhões de pessoas e uma área de 2.715 km². Os municípios abastecidos são os de Amarante, Arouca, Baião, Castelo de Paiva, Cinfães, Espinho, Felgueiras, Gondomar, Lousada, Maia, Matosinhos, Oliveira de Azeméis, Ovar, Paços de Ferreira, Paredes, Porto, Santa Maria da Feira, São João da Madeira, Valongo e Vila Nova de Gaia (Águas de Douro e Paiva, S.A.,2019a).

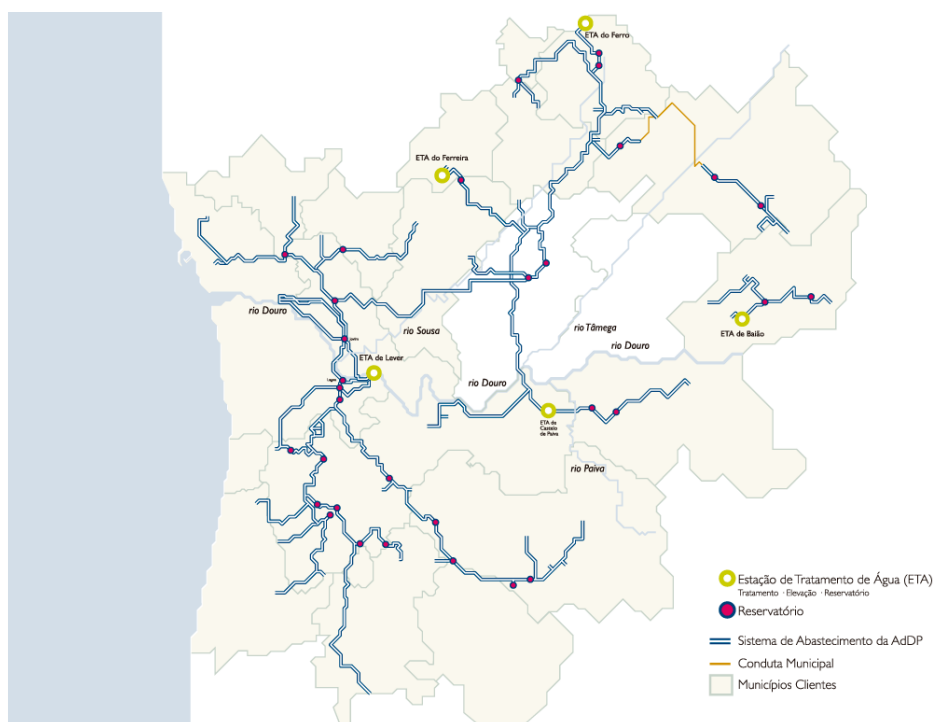


Figura 1.1 - Mapa do sistema de abastecimento de água. Fonte: Águas de Douro e Paiva, S.A., 2019b.

Na empresa existe um laboratório responsável por analisar a água natural, tanto superficial como subterrânea, por acompanhar o desempenho dos diferentes órgãos de tratamento, bem como todo o controlo que a empresa faça, incluindo o obrigatório por lei, à água que distribui. Assim, este laboratório é designado de laboratório de controlo de qualidade da água e está localizado na maior infraestrutura da empresa, a ETA de Lever.

O laboratório é constituído por diferentes áreas técnicas e de gestão da qualidade:

- ensaios físico-químicos e organoléticos;
- ensaios microbiológicos;
- ensaios biológicos;
- planeamento, amostragem e ensaios de campo;
- equipamentos, compras e stocks.

O laboratório foi acreditado pelo IPAC em 2010 segundo a Norma EN ISO/IEC 17025:2005 - Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração (Águas de Douro e Paiva, S.A.,2019c).

Ao longo do ano de 2019 foram realizadas 56068 determinações, das quais 6460 em *Outsourcing* e 56068 efetuadas no Laboratório, com a seguinte distribuição pelas respetivas áreas:

- físico-química: 25.307
- microbiologia: 24.812
- ensaios de campo: 3.948
- biologia: 2.001

O laboratório, como parte integrante da empresa, na data corrente encontra-se certificado segundo as Normas ISO 9001: Sistemas de Gestão da Qualidade, ISO 14001: Sistemas de Gestão Ambiental, ISO 45001: Sistemas de Gestão de Saúde e Segurança Ocupacionais, ISO 55001: Sistema de Gestão de Ativos, ISO 50001: Certificação de Sistemas de Gestão de Energia e SA 8000: Responsabilidade Social (Águas de Douro e Paiva, S.A., 2019c).

1.2. Objetivos do trabalho

O trabalho desenvolvido nas Águas do Douro e Paiva teve como objetivos estudar e implementar algumas metodologias utilizadas para pesquisa e quantificação de *Legionella* spp. e *Legionella pneumophila*, por 3 métodos distintos. Foi também objetivo efetuar uma análise de risco em alguns equipamentos e sistemas de água que possuem características consideradas críticas (por exemplo, temperaturas de operação entre 20 °C e 50 °C e capacidade de formar e dispersar aerossóis).

1.3. Enquadramento legal do tema da presente tese

A 4 de abril de 2006, foram publicados os Decretos-Lei 78/2006, 79/2006 e 80/2006 os quais transpõem parcialmente a Diretiva do Parlamento Europeu 2002/91/CE relativa ao desempenho energético dos edifícios. O Decreto-Lei 78/2006 diz respeito ao Sistema Nacional de Certificação Energética e da Qualidade do Ar Interior nos Edifícios, o Decreto-Lei 79/2006 trata do Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios (RSECE), e o Decreto-Lei 80/2006 define o Regulamento das Características de Comportamento Térmico dos Edifícios.

No Decreto-Lei 79/2006, no Artigo 29. ponto 9, descreve: “Em edifícios com sistemas de climatização em que haja produção de aerossóis, nomeadamente onde haja torres de arrefecimento ou humidificadores por água líquida, ou com sistemas de água quente para chuveiros onde a temperatura de armazenamento seja inferior a 60 °C as auditorias da QAI incluem também a pesquisa da presença de colónias de *Legionella* em amostras de água recolhidas nos locais de maior risco, nomeadamente tanques das torres de arrefecimento, depósitos de água quente e tabuleiros de condensação, não devendo ser excedido um número superior a 100 UFC”. Assim, o Decreto-Lei 79/2006 obrigava a que fossem monitorizados os equipamentos considerados de risco para a proliferação da *Legionella*.

No entanto, a 20 de agosto de 2013 estes 3 Decretos foram revogados pelo Decreto-Lei 118/2013, o qual foi posteriormente regulamentado pelas Portarias nº 349-D e nº 353-A. Tendo sido eliminadas as auditorias do ar anteriores mantendo se a

necessidade de proceder ao controlo das fontes de aplicação e à adoção de medidas preventivas.

Na Portaria nº 353-A são apontados novos valores para concentração de *Legionella* spp., não devendo ser superior a 100 UFC/L, excluindo as torres de refrigeração, onde esta não deve ser superior a 1.000 UFC/L, mantendo a ausência de *L. pneumophila*.

No entanto este novo diploma descreve a obrigatoriedade da pesquisa de *Legionella* spp. apenas em edifícios de comércio e serviços, perdendo-se assim a obrigatoriedade presente no Decreto Lei 79/2006 que previa uma periodicidade obrigatória (2 em 2 anos) para auditorias a realizar em escolas, centros desportivos, infantários, centro de idosos, hospitais e clínicas. Quando falamos de espaços ligados a um elevado número de pessoas, como por exemplo, centros comerciais, estabelecimentos de turismo, meios de transporte, entre outros, a periodicidade era de 3 em 3 anos, e de 6 em 6 anos em todos os restantes casos.

Em 2014, ocorreu o primeiro grande surto de *Legionella* spp. em Portugal (Vila Franca de Xira), o que correspondeu ao primeiro ano sem obrigatoriedade de auditorias. Em 2017 ocorreram outros importantes surtos de *Legionella* spp., nomeadamente no Hospital S. Francisco Xavier e no Hospital CUF Descobertas, ambos em Lisboa.

No dia 20 de agosto de 2018 foi publicada a Lei 52/2018, a qual tem como objetivo estabelecer o regime de prevenção e controlo da doença dos legionários. Trata-se de uma alteração ao antigo Decreto-Lei n.º 118/2013, em particular ao artigo 12º, passando o Decreto-Lei 118/2013 a ser aplicado não só ao edifício de comércio e serviços, mas a todos edifícios abrangidos pela Lei 52/2018.

A Lei 52/2018 faz referência aos equipamentos que todos os setores de atividade devem monitorizar, nomeadamente torres de refrigeração, condensadores evaporativos, sistemas de arrefecimento de águas de processo industrial, sistemas de arrefecimento de cogeração e ainda humidificadores. Deixa ainda a ressalva de que todos os sistemas/equipamentos inseridos em espaços de acesso e utilização pública,

nomeadamente os que utilizem água para fins terapêuticos ou recreativos e que possam gerar aerossóis de água, as redes prediais de água, mais especificamente as de água quente sanitárias, têm de ser monitorizados. No artigo 6º é especificado que a prevenção e controlo deve ser realizada através de um plano. Este plano deve ser elaborado de acordo com a realização de uma análise de risco que deve abordar alguns parâmetros previstos na legislação, tais como:

- o tipo de equipamento e as suas dimensões, bem como o seu tempo de vida. O mesmo se aplica para redes e sistemas;
- meio circundante e a sua disposição física ao mesmo;
- natureza das atividades desenvolvidas e a periodicidade da utilização dos espaços;
- tipo de funcionamento dos equipamentos e a sua periodicidade, designadamente contínuo, sazonal ou esporádico;
- risco que representa para a população envolvente, designadamente para a suscetibilidade que poderá existir, como faixa etária, estado de saúde e género.

É importante ainda salientar que o referido plano deve ser contínuo e revisto sempre que existam mudanças na rede, sistemas ou equipamentos, quando existe a evidência de que as medidas corretivas não foram eficazes ou ainda quando existam novas informações sobre risco e medidas de controlo.

Em fevereiro de 2019 a Comissão Europeia reformulou a diretiva 98/83/CE que visa garantir a qualidade da água para consumo humano, com o objetivo de introduzir uma nova abordagem baseada no risco e a sua monitorização, melhorando a informação sobre a qualidade da água e dos serviços de distribuição de água.

Assim, torna-se importante a monitorização da água de consumo distribuída pelas empresas, de forma a garantir a qualidade da água desde o fim do tratamento até à torneira dos consumidores. Por outro lado, é importante realizar um levantamento de riscos, gerindo-os de forma a assegurar a segurança dos consumidores e da população em geral.

1.4. A bactéria *Legionella*

1.4.1. Enquadramento histórico

A *Legionella* é uma bactéria que se encontra presente na água. Com algumas estirpes patogénicas, esta bactéria tem sido responsável por vários surtos, sendo que o primeiro a ser reconhecido ocorreu em 1976 nos Estados Unidos da América, na convenção de Legião Americana, matando 34 pessoas e infetando 221 pessoas. Este surto deu o nome à doença, denominando-a assim de doença dos Legionários (Pires, 1997).

A investigação epidemiológica deste surto foi difícil uma vez que não era possível, até então, cultivar a bactéria, pois esta não se desenvolve nos meios comumente utilizados para o cultivo de microrganismos. O agente patogénico foi isolado a partir do tecido pulmonar de um dos pacientes infetados, recorrendo a uma técnica utilizada para *Rickettsia*, em que se utiliza um hospedeiro vivo para o cultivo do microrganismo. Deu-se assim a descoberta da bactéria *L. pneumophila* (Pires, 1997).

Em seguimento desta descoberta, em 1977 foram analisados soros dos 95 funcionários do Departamento de Saúde de Pontiac, que em 1968 tinham contraído uma estranha doença que até à data permanecia sem causa aparente. Com a análise do soro destes pacientes foi possível identificar os mesmos anticorpos que atuam contra a *L. pneumophila* (Ferreira e Sousa, 2000).

1.4.2. Género *Legionella* e as suas espécies

O género *Legionella* é constituído por 51 espécies incluindo a *L. pneumophila* (DGS, 2013). Este microrganismo é o agente causal da doença dos legionários e de um síndrome, similar à gripe, conhecido por Febre de Pontiac. As bactérias do género *Legionella* são bactérias aeróbicas, não esporuladas e Gram-negativas. Estas bactérias possuem forma de bastonetes (2-5 µm). Apresentam mobilidade, devido à existência de um ou mais flagelos (Ferreira & Sousa, 2000). A *Legionella* é um parasita intracelular, normalmente de protozoários presentes na água natural, sendo que algumas podem adaptaram-se de forma a colonizar algumas células de mamíferos (Fields et al, 2002).

Algumas espécies do género *Legionella* apresentam pigmentos fluorescentes. Esta característica leva a que sejam mais facilmente distinguidas quando cultivadas em placa. Os microrganismos deste género utilizam aminoácidos como fonte primária de energia ao contrário de maior parte dos organismos que oxidam ou fermentam hidratos de carbono. Desta forma as bactérias do género *Legionella* apresentam um crescimento co dependente de L-cisteína. Esta característica leva a que seja fácil confirmar a presença deste género bacteriano, uma vez que não consegue crescer na ausência de L-cisteína (Ferreira e Sousa, 2000).

Uma das principais características das colónias formadas pela bactéria *Legionella* prende-se com o facto de apresentarem um aspeto granulado, muitas vezes descrito de vítreo ou “vidro estilhaçado”, como é possível observar na Figura 1.2; no entanto, pode apresentar cores desde o branco ao bege. Este microrganismo consegue crescer numa larga gama de temperatura (entre 5,7 e os 63,0 °C) e num intervalo pH que vai desde 5,5 a 8,1 (Ferreira e Sousa, 2000; Lin, 2002).



Figura 1.2 - Cultura de *Legionella* spp. Fonte: Laboratorios Omega, 2019

A *Legionella* spp. é potencialmente perigosa quando as condições do meio potenciam o seu desenvolvimento, como representado na Figura 1.3. Quando esta se encontra em ambientes aquáticos, raramente consegue atingir valores de concentração considerados perigosos, uma vez que necessita de nutrientes muito específicos para se multiplicar, como já referido a cima (Fields et al., 2002).

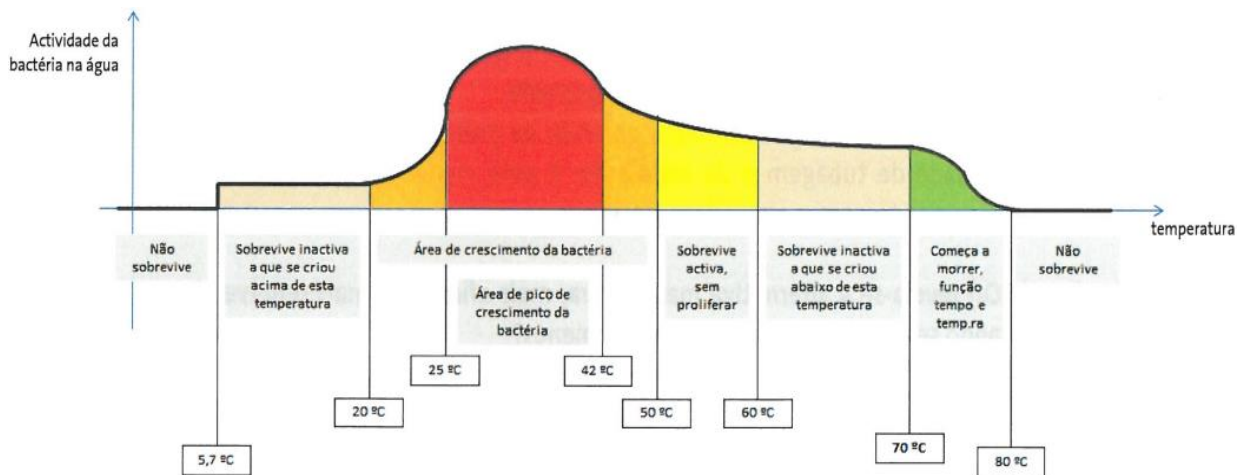


Figura 1.3 - Gráfico representativo da atividade da *Legionella* spp. em água em função da temperatura (DGS, 2013).

Mesmo quando, no seu habitat natural, existem este tipo de nutrientes os mesmos vão ser utilizados, com muito mais facilidade, por outros microrganismos que irão multiplicar-se de uma forma mais eficiente, competindo diretamente com as bactérias do género *Legionella*. Assim, como mecanismo de adaptação, alguns destes microrganismos possuem a capacidade de se multiplicarem dentro de amibas (Fields et al., 2002), como é o caso da *L. pneumophila* e da *L. ansia* (Strassmann e Shu, 2017). O seu ciclo de vida, quando se reproduz dentro de amibas, está esquematizado na Figura 1.4.

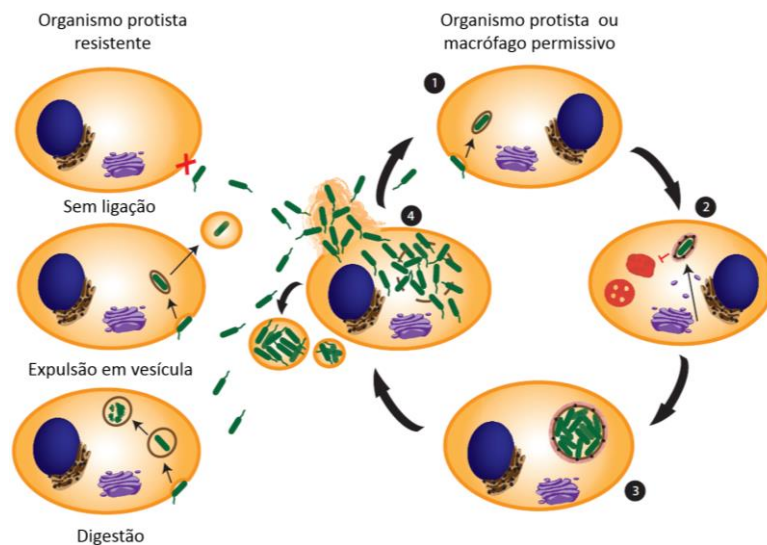


Figura 1.4 - Ciclo de vida da bactéria *Legionella* em organismos do reino protista e em macrófagos; 1) a *Legionella* spp. conecta-se à célula hospedeira; 2) inibição da formação de fagolisossomas responsáveis pela digestão

da bactéria; 3) as vesículas são envolvidas de ribossomas auxiliando, assim, uma rápida replicação da *Legionella* spp.; 4) ocorre a lise da vesícula e a replicação continua até provocar a lise do macrófago, aqui a *Legionella* para de se multiplicar até encontrar um organismo protista ou macrófago permissivo. Fonte: Best e Kwaik, 2018.

Este tipo de simbiose já foi observado em várias amibas, entre elas *Acanthamoeba*, *Naegleria* e *Hartmannella*, em espécies de protozoários ciliados do género *Tetrahymena*. É importante referir que o crescimento de *Legionella* em ambiente livre, sem necessitar de um hospedeiro para se desenvolver, apenas se verificou em ambientes laboratoriais (Pires, 1997). Mesmo assim esta bactéria continua a ser classificada como intracelular facultativa (Strassmann e Shu, 2017).

Até hoje, de todos os microrganismos estudados, nenhum apresenta uma adaptação intracelular tão eficiente como o género *Legionella*. A bactéria *Legionella* é conhecida, como já referido acima, por colonizar um vasto número de organismos, dificultando assim alguns dos processos de desinfeção. Em particular, a *L. pneumophila* é um microrganismo que tem não só a capacidade de infetar células procariotas, mas também, eucariotas, como é o exemplo dos macrófagos (Best e Kwaik 2018).

Algumas das espécies de *Legionella* são capazes de provocar doença em mamíferos, como é indicado na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Espécies do género *Legionella* capazes de causar doença Adaptado de (Brooks et al, 2007).

Espécie	Pneumonia	Febre Pontiac
<i>L. pneumophila</i>	+	Serogrupo 1 a 6
<i>L. micdadei</i>	+	
<i>L. gormanii</i>	+	
<i>L. dumoffii</i>	+	
<i>L. bozemanii</i>	+	
<i>L. longbeachae</i>	+	
<i>L. wadsworthii</i>	+	
<i>L. jordanis</i>	+	
<i>L. feeleii</i>	+	+
<i>L. oakridgensis</i>	+	

1.4.3. *Legionella pneumophila*

A *L. pneumophila* é uma bactéria patogénica intracelular que pode habitar diferentes tipos de microrganismos, como é possível observar na Tabela 1.2. Esta tem a particularidade de se conseguir desenvolver em fagócitos mononucleares. *L. pneumophila* é uma bactéria intracelular facultativa sendo que a sua atuação é mais eficaz em monócitos e macrófagos alveolares. Apresenta assim capacidade não só de infetar este tipo de células associadas à defesa do nosso organismo, mas também de se reproduzir inibindo os sistemas de defesa (Ferreira e Sousa, 2000).

Tabela 1.2 – Espécies protistas que suportam o crescimento da bactéria *L. pneumophila*. Adaptado de Best e Kwaik, 2018.

Espécies de protozoários	Filo ¹
<i>Acanthamoeba castellanii</i> , <i>A. culbertsoni</i> , <i>A. hatchetti</i> , <i>A. polyphaga</i> , <i>A. royreba</i> , <i>A. astronyxis</i> , <i>A. jacobsi</i> , <i>A. palestinensis</i> , <i>A. Lenticulata</i>	Amoebozoa
<i>Balamuthia mandrillaris</i>	Amoebozoa
<i>Cochliopodium minus</i>	Amoebozoa
<i>Comandonia operculata</i>	Amoebozoa
<i>Dictyostelium discoideum</i>	Amoebozoa
<i>Echinamoeba exundans</i>	Amoebozoa
<i>Filamoeba nolandi</i>	Amoebozoa
<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	Amoebozoa
<i>Vermamoeba vermiformis</i> (antes conhecida como, <i>Hartmannella vermiformis</i>)	Amoebozoa
<i>Naegleria lovaniensis</i> , <i>N. fowleri</i> , <i>N. gruberi</i> , <i>N. jadini</i>	Percolozoa
<i>Vahlkampfia jugosa</i> , <i>V. ustiana</i>	Percolozoa
<i>Willaertia magna</i>	Percolozoa
<i>Oxytricha bifaria</i>	Ciliophora
<i>Tetrahymena tropicalis</i> , <i>T. pyriformis</i> , <i>T. thermophila</i> , <i>T. vorax</i>	Ciliophora
<i>Stylonychia mytilus</i>	Ciliophora
<i>Paramecium caudatum</i> , <i>P. tetraurelia</i>	Ciliophora

¹ Todos os filo apresentados pertencem ao reino protista com a exceção do filo *Ciliophora* que pertence ao reino Chromista.

Para que a *L. pneumophila* infete um macrófago esta necessita de passar para o interior da célula. Para este efeito dá-se um processo denominado de fagocitose helicoidal, representada na Figura 1.5. A fagocitose helicoidal consiste na formação de um longo e fino pseudópode que irá envolver a bactéria formando assim uma vesícula (Ferreira e Sousa, 2000). Esta vesícula, normalmente fundir-se-ia com lisossomas de modo a formar fagolisossomas, que são responsáveis pela digestão intracelular através da sua acidificação; no entanto, isto não acontece. Algum tempo depois, esta vesícula ficará rodeada por ribossomas que irão auxiliar a multiplicação da *L. pneumophila* até à completa destruição do macrófago (Ferreira e Sousa, 2000).

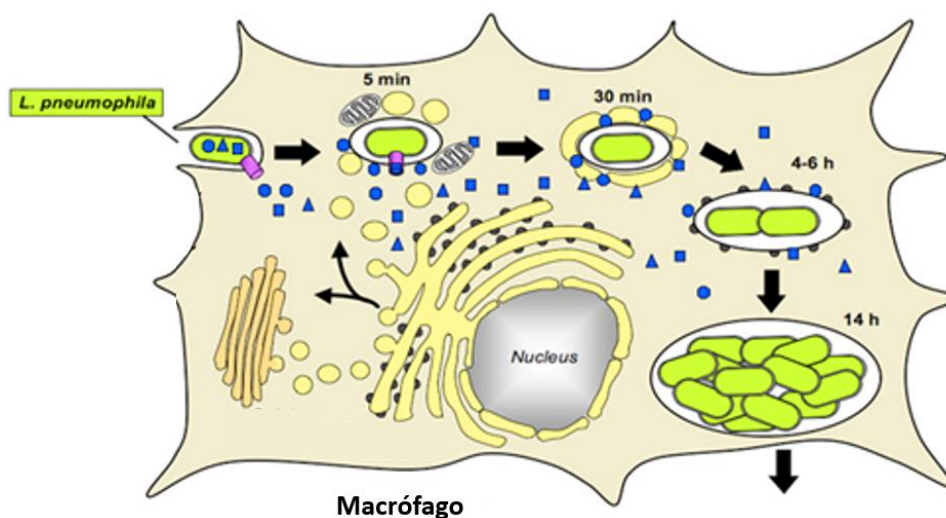


Figura 1.5 – Ciclo de vida de *L. pneumophila* num macrófago. Adaptado de: Machner et al, 2009.

1.4.4. De microrganismo ambiental a agente patogénico acidental

Patogénicos reemergentes são organismos patogénicos cuja incidência tem vindo a aumentar nos últimos anos. Assim, foram considerados patogénicos emergentes 175 espécies de 95 géneros, onde 75 % destas são espécies zoonóticas (espécies que provocam doenças, podendo ser transmitidas dos animais para o ser humano e vice-versa). O aumento deste tipo de organismos está muitas vezes associado ao surgimento de novos ambientes que facilitam o contacto destes organismos com a população a infetar. Isto leva a que muitas espécies tenham evoluído de forma a se adaptarem a novos sistemas ou ambientes, como é o caso da *Legionella* spp.. O desenvolvimento da indústria e o maior uso de sistemas de refrigeração, como por exemplo sistemas

aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC), vieram trazer um novo ambiente para a *Legionella*, proporcionando o habitat que esta necessita (World Health Organization, 2003).

Hoje sabe-se que as bactérias do género *Legionella* sempre fizeram parte da flora aquática. No entanto, a criação de sistemas de água fria e quente dentro das habitações, de sistemas AVAC e de piscinas originam condições que se adaptam ao crescimento da bactéria *Legionella*. Estes sistemas tem a capacidade de formar aerossóis que se tornam potencialmente perigosos para a saúde quando inalados (World Health Organization, 2003). A *Legionella* é um exemplo de bactéria presente em ambientes naturais que explorou um nicho nos sistemas de água criados pelo homem e, por acaso, emergiu como um agente patogénico.

1.4.5. Incidência da doença dos legionários em Portugal e na Europa

Benoliel et al refere-se à *L. pneumophila* como a bactéria que “pode provocar uma infeção respiratória, atualmente conhecida por doença dos legionários (...) A infeção transmite-se por inalação de gotículas de vapor de água contaminada, aerossóis, de dimensões tão pequenas que veiculam a bactéria para os pulmões, possibilitando a sua deposição nos alvéolos pulmonares” (Benoliel et al, 2010).

A doença dos legionários é uma das doenças de declaração obrigatória. Assim é possível seguir a progressão da doença ao longo dos anos, não só em Portugal, mas em toda a Europa. Na Figura 1.6 encontra-se representado o número de casos da doença dos legionários, reportados em Portugal, entre 2006 e 2019. Na Figura 1.7 é possível observar o número de casos na Europa entre 2005 e 2019.

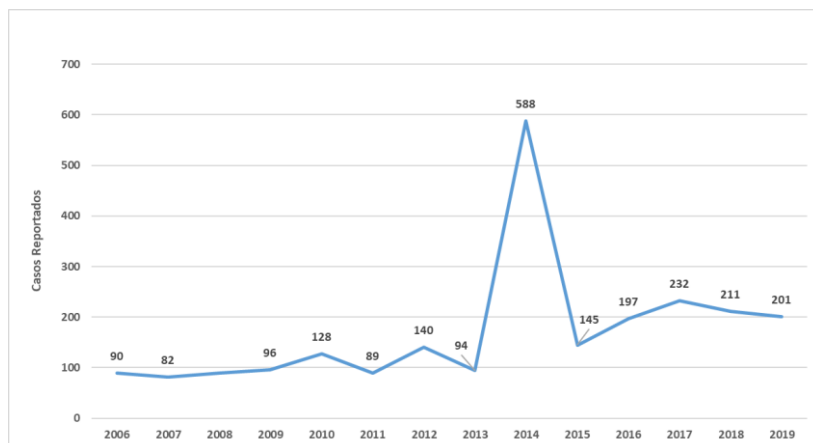


Figura 1.6 – Casos reportados por ano da doença dos legionários em Portugal de 2006 a 2019; adaptado de ECDC, 2020.

O pico representado na Figura 1.6 deve-se ao surto que ocorreu em 2014 no concelho de Vila Franca de Xira, onde foram contabilizados 375 casos. Em todos estes casos foi identificada a bactéria *L. pneumophila* como causadora da pneumonia. Dos 375 casos registados, ocorreram 12 óbitos (George et al, 2014). No entanto, este não foi o único surto em Portugal, sendo que a 3 de novembro de 2017 foi identificado um outro, no Hospital de São Francisco Xavier, tendo este hospital reportado à DGS o diagnóstico de 3 casos de doença dos legionários; a 14 de novembro já tinham sido confirmados 54 casos da doença e 5 destes tinham falecido (DGS, 2017).

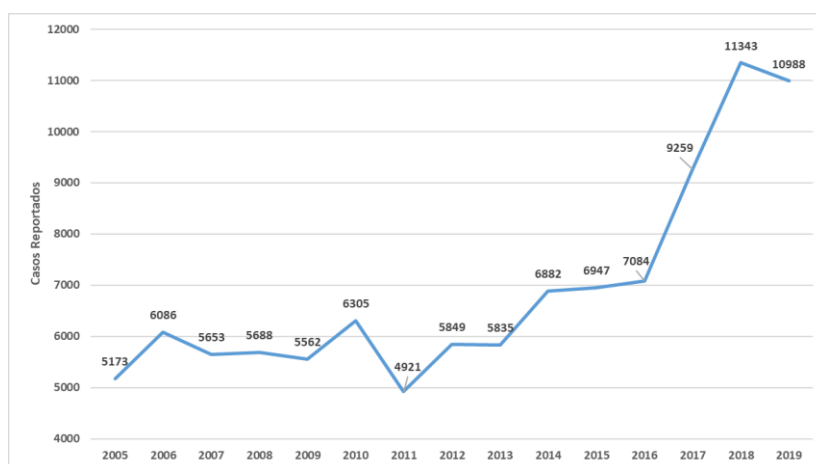


Figura 1.7 - Casos reportados da doença dos legionários na Europa de 2005 a 2019, adaptado de ECDC, 2020.

Como é possível observar na Figura 1.7, nos últimos anos tem-se verificado uma tendência crescente de casos reportados da doença dos legionários na Europa. É importante referir que esta subida não se deve só ao aumento dos casos, mas também a uma vigilância mais apertada da doença (ECDC, 2018).

1.5. Desinfeção e sistemas de abastecimento

Existem vários métodos de desinfeção de água, que vão desde o tratamento físico ao químico, sendo que estes dois podem ainda ser utilizados em paralelo. Quando falamos da desinfeção de água com o objetivo de eliminar, ou diminuir a probabilidade de proliferação de *Legionella* spp. é possível referir três grandes tipos: desinfeção no ponto de consumo, sistemas de *gatekeeper* e, por fim, os métodos que têm como objetivo tratar toda a extensão de água. A desinfeção no ponto de consumo trata-se, por exemplo, de uma filtração, ao contrário dos sistemas *gatekeepers* que consistem num tratamento de ozonização ou através de radiação U.V. (Walraven e Chapman, 2016).

O objetivo de eliminar ou diminuir a *Legionella* é conseguido com sistemas de filtração, apenas se este for utilizado mesmo no ponto de consumo da água. Este método, quando aplicado em locais mais distantes dos pontos finais da conduta, torna-se ineficaz. Nestes casos, as melhores opções serão a ionização com cobre e prata, pontos de rechloragem e o tratamento com monoclорamina e dióxido de cloro (Walraven e Chapman, 2016). Walraven e Chapman concluem que em desinfeção a longo prazo, para *Legionella* spp., apenas o tratamento de ionização com cobre e prata foi testado e, por esta razão, apenas este foi considerado totalmente eficaz. Nos outros métodos não existem dados sobre como estes irão responder a um espaço de tempo alargado (Walraven e Chapman, 2016).

Hipercloragem, monoclорamina, dióxido de cloro e ozonização podem ainda criar compostos tóxicos como, por exemplo, bromatos e trialometanos. Para além disto, estes compostos podem ainda causar a degradação das condutas, uma vez que são corrosivos para o metal (Walraven e Chapman, 2016).

O desgaste corrosivo das condutas, por si só, é um dos aspetos de risco visto que estes potenciam a proliferação de *Legionella* spp., reduzindo o contacto da bactéria com o desinfetante e promovendo um habitat seguro. O biofilme, criado a partir de metal corroído, também fornece às bactérias do género *Legionella* um dos nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento: sais de ferro (Quirino, 2011).

1.6. Metodologias de Análise de risco

A palavra risco é interpretada de diferentes formas consoante o contexto em que é proferida e a pessoa que a exprime. Comumente a palavra risco é associada a perigo ou ameaça, sendo que aparece muitas vezes conjugada com a probabilidade e a possibilidade de algo acontecer (Rausand, 2011). O risco é um evento ou condição que pode ou não ocorrer, porém se ocorrer terá um efeito negativo ou positivo sobre os objetos em estudo. Quando falamos de risco é sempre importante ter em conta dois componentes que o constituem: a probabilidade de ele acontecer e o impacto que terá (Peterson, 2019).

A gestão do risco deve ser uma grande parte do planeamento de um projeto e esta gestão não deve ser só aplicada na parte inicial do projeto. Esta gestão tem como função identificar, classificar e quantificar os riscos existentes, de forma a ser possível geri-los e controlá-los (Peterson, 2019). Quando falamos em gestão de risco o objetivo é garantir o melhor para o sistema de forma a poupar tempo e garantir a qualidade do mesmo (Peterson, 2019).

A avaliação do risco pode ser expressa numa medição quantitativa ou qualitativa. Normalmente existe uma preferência associada à quantificação do risco, visto que esta é mais fácil de apresentar podendo muitas vezes ser passada a gráfico para uma representação mais apelativa, no entanto, esta nem sempre pode ser utilizada (Peterson, 2019). Tanto a forma quantitativa como a qualitativa trazem vantagens e desvantagens a si associadas. A análise qualitativa não usa número ou valores para descrever o risco, esta basear-se numa avaliação normalmente associada a termos como “crítico”, “alto”, “médio”, “baixo” e “insignificante” (Peterson, 2019). Já na análise quantitativa são utilizados números ou equações numéricas para descrever o valor do

risco. Este pode ser um valor dado ou um nível atribuído à gravidade ou à probabilidade, bem como às ameaças e vulnerabilidades do sistema sem esquecer sempre o impacto que esse risco traria ao sistema. Este pode ainda variar na sua complexidade, podendo ser representado numa simples escala, como por exemplo de 1 a 5, ou depender de fórmulas matemáticas complexas (Peterson, 2019). Uma das vantagens mais relevantes da análise qualitativa é o facto de esta ser normalmente fácil de realizar e mais rápida na obtenção de uma avaliação no momento. No entanto, a análise quantitativa é muita vez vista como mais fiável, e mais fácil de manipular os fatores numéricos de forma a reduzir o risco (Peterson, 2019).

Na falta de indicação na legislação portuguesa quanto à forma como se deve realizar a avaliação de risco para a prevenção e controlo da Doença dos Legionários, optou-se por seguir a metodologia descrita no Real Decreto 865/2003 e o seu guia técnico para a prevenção e controlo da Legionelose em instalações (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003.). Este guia além de ser bastante completo, uniformiza a avaliação de risco permitindo o cálculo de índices globais que servirão para, metricamente, quantificar o risco associado a qualquer equipamento/situação. Este é, assim, um método quantitativo que permitirá o cálculo do risco bem como a aplicação de medidas para o reduzir, caso seja necessário.

O Guia técnico do Real Decreto 865/2003 apresenta 12 capítulos onde, cada um deles apresenta um conjunto de equipamentos ou situações de risco, sendo que o primeiro é apenas introdutório. Abaixo encontram-se enumerados os capítulos que foram utilizados neste documento:

- Capítulo 2 - Água fria de consumo humano;
- Capítulo 3 - Sistemas de água quente sanitária;
- Capítulo 4 - Torres de refrigeração e condensadores evaporativos;
- Capítulo 10 - Rega por aspersão em meio urbano;
- Capítulo 11 - Sistemas de água de combate a incêndio;
- Capítulo 13 - Outras instalações que acumulam água e podem produzir aerossóis.

De forma a uniformizar a análise de risco, cada capítulo contém um conjunto de tabelas com as normas a seguir para o cálculo do Índice Global que permite avaliar o risco. Este cálculo é realizado recorrendo à Equação 1, onde IG corresponde ao Índice Global de risco, IE corresponde ao Índice Estrutural, IM ao Índice de Manutenção e IO ao Índice de Operação.

$$IG = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \quad (\text{equação 1})$$

O Índice Global de risco idealmente deve ser inferior a 60. Quando é este o caso deve-se garantir que o sistema cumpre todos os requisitos legais e preservá-lo durante a sua vida útil. Por outro lado, se o Índice Global for maior ou igual a 60 e menor ou igual a 80 deve-se implementar as ações corretivas necessárias para reduzir o índice abaixo de 60 e aumentar a frequência de revisão do sistema. Numa situação extrema em que o Índice Global é superior a 80 devem-se dotar imediatamente medidas corretivas, incluindo se necessário a paragem da instalação até conseguir uma redução do índice e aumentar a frequência de limpeza e desinfeção do sistema, até reduzir o índice abaixo de 60.

A manutenção e limpeza é uma parte essencial para a prevenção da Doença dos Legionários em todas as instalações. Por esse motivo o Índice de Manutenção é considerado separadamente, devendo ser sempre inferior ou igual a 50. De forma a reduzir o Índice Global do risco deve-se procurar reduzir essencialmente os fatores “Alto”. Por fim, é importante referir que todas as obrigações legais devem ser cumpridas independentemente dos valores obtidos na avaliação dos índices individuais ou gerais.

No caso de uma primeira avaliação é aconselhado uma visão crítica, tentando realizar todas as alterações que sejam benéficas ao sistema, mesmo nos sistemas com valores abaixo dos limites. Assim é feita uma primeira avaliação que se define como Índice Global do Risco Inerente (IG_{RI}). Caso se encontrem aspetos a melhorar no sistema procede-se então para uma segunda avaliação que será denominada Índice Global do Risco Residual (IG_{RR}).

1.7. Monitorização da *Legionella* em circuitos de água

1.7.1. Amostragem

A doença dos legionários é uma doença transmitida pela água. Como tal, para prevenir surtos e melhorar a qualidade da água é necessário realizar a monitorização da mesma de forma a assegurar que esta se encontra livre de *Legionella*. De forma a assegurar que os resultados são o mais confiáveis possível é necessário não só usar métodos previamente estudados, mas também assegurar que a colheita da água foi feita de forma a não comprometer a análise (DGS, 2007).

Dependendo do ponto de colheita é necessário realizar uma adaptação do método de amostragem, por exemplo, avaliar a existência ou não de água ou se está presente também biofilme (DGS, 2007). A seleção do local da colheita deve ser realizada pelos técnicos. No entanto, dependendo do tipo de água a analisar a DGS recomenda diferentes tipos de atuações.

Quando se está a realizar análises em redes prediais frias, a escolha do ponto de amostragem deve ser efetuada tendo em conta a rede de água e o histórico da mesma, observando os fatores que incentivam a um melhor crescimento da *Legionella* spp. (DGS, 2007).

Quando se trata de amostra de um sistema de água fria devem ser testados tanque de armazenamento, saída mais afastada do tanque de armazenamento e outras saídas em zonas consideradas como representando risco particular, como por exemplo hospitais. Caso a amostragem seja realizada numa torneira, sempre que possível deve realizar-se a análise sem deixar correr a água (Relacre, 2017).

Na maior parte dos casos, a *Legionella* coloniza locais como a região da torneira, válvulas de mistura, tubos flexíveis e cabeças dos chuveiros. Por isso é necessário, aquando da colheita, se possível, desmontar os sistemas de forma a possibilitar a colheita de uma amostra de água e do biofilme que possa existir. De forma a facilitar a colheita da amostra é aconselhável a utilização de um saco estéril que deve ser cortado

numa ponta por uma tesoura esterilizada ou flamejada, como retrata a Figura 1.8 (Relacre, 2017).



Figura 1.8 - Colheita realizada num chuveiro lava olhos.

Em torres de arrefecimento, os pontos críticos a analisar devem ser: a entrada de água; o interior do tanque; o circuito da torre, onde exista ligação à canalização de água; o bloco evaporativo, onde se deve dar especial ênfase ao biofilme; por fim, deve-se sempre analisar qualquer depósito de água que esteja associado ao equipamento (DGS, 2007).

Outro dos equipamentos críticos são os de climatização do ar. Deve-se, sempre que possível, recolher a água do condensado e, caso exista, deve-se recolher o biofilme dos tabuleiros de condensação, como representado esquematicamente na Figura 1.9. Devem ainda, sempre que possível, ser recolhidas amostras de água em circuito fechado (DGS, 2007).



Figura 1.9 - Colheita com zaragatoa de biofilme. 1. Raspar a superfície diagonalmente de um lado ao outro. 2. Continuar a raspar até cobrir toda a superfície. 3. Raspar de novo na direção oposta. 4. Continuar a raspar até cobrir toda a superfície (Relacre, 2017).

Segundo a Norma 19458:2006 - *Qualidade da água – Amostragem para análise microbiológica*, as amostras que sejam destinadas à análise de *Legionella* devem ser mantidas à temperatura ambiente e nunca mais de 24 horas após a colheita. (ISO 19458:2006, 2006).

1.7.2. Métodos de análise de *L. pneumophila* e *Legionella* spp.

Existem vários métodos que permitem a detecção e quantificação de *Legionella* spp., como por exemplo: imunofluorescência direta, ensaio de imunoabsorção enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA), radio imunoensaio (RIA) e ainda testes de aglutinação em látex. É importante ainda referir o teste de diagnóstico molecular, utilizando a reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR; Baratto e Megiolaro, 2012; Parija, 2012).

Para além dos métodos referidos, é possível a quantificação de *Legionella* spp. e *L. pneumophila* através dos seguintes métodos: cultura em placa (utilizando um meio apropriado), *Legiolert* e *Legipid*, os quais serão apresentados abaixo.

1.7.2.1. Cultura em placa

O BCYE (*Buffered Charcoal Yeast Extract*), é o meio mais utilizado para a pesquisa de *Legionella* spp.. Este meio contém extrato de levedura, carvão ativado, α -cetogluturato, solução tampão, KOH, L-cisteína e pirofosfato férrico (Pires, 1997).

Existem ainda mais três meios de cultivo da *Legionella*: GVPC (Glicina Vancomicina Polimixina Cicloheximida), MWY (*Modified Wadowsky Yee*) e BCYE+AB. O BCYE é o meio base para a construção do GVPC, visto que a única diferença entre os dois está na adição, ao meio GVPC, de alguns compostos: glicina, vancomicina, polimixina B e cicloheximida (Pires, 1997). O meio MWY) é o mais complexo dos 3, uma vez que contém (para além dos componentes presentes no GVPC): anisomicina, azul de bromotimol e roxo de bromocresol (Best e Kwai, 2018). O quarto meio de cultura consiste na adição de dois antibióticos ao meio BCYE; este denomina-se de BCYE+AB e tem incorporado o antimicótico pimaricina e o antibacteriano cefazolina (Thermoscientific, 2017). Este meio é bastante importante no isolamento da *L. pneumophila*, visto que a bactéria (ao

contrário de outros microrganismos) não acede facilmente aos nutrientes presentes no meio BCYE. Assim, com a adição destes compostos, reduz-se a flora competitiva existente na amostra, possibilitando um desenvolvimento mais rápido da *L. pneumophila* (HiMedia Laboratories, 2017).

Na confirmação do método cultural é usado o meio BCYE-cys. Este meio de cultura é em tudo semelhante ao BCYE, onde apenas é retirado a L-cisteína, uma vez que sem este aminoácido a bactéria não se multiplica.

O método de cultura em placa encontra-se descrito na ISO 11731:2017, e apresenta várias vantagens, como por exemplo, permitir a enumeração não só de *Legionella* spp., mas também de outras espécies de *Legionella*. Assim, neste trabalho, foram utilizados os meios BCYE, GVPC e BCYE+AB, como meios de cultivo da bactéria.

No caso da pesquisa de *Legionella* spp. e *L. pneumophila* a norma ISO 11731:2017 obriga a uma confirmação final por serologia. Normalmente esta realiza-se através de um teste aglutinação em látex.

O teste de aglutinação em látex tem como objetivo permitir uma visualização, a olho nu, da ligação antigénio-anticorpo de forma a ser possível a identificação de certos microrganismos, como é o caso da *Legionella* spp. (Turgeon, 2013). As moléculas do anticorpo estão presentes no teste ligadas a uma esfera de látex. Esta esfera, normalmente, tem ligados a si vários anticorpos de forma a ampliar o número de moléculas de antigénio que se ligam (Turgeon, 2013; Wanger et al., 2017). Quando existe, na amostra a testar, o antigénio que se pretende identificar este liga-se aos anticorpos. Assim ocorre uma aglomeração sendo possível ver, a olho nu, esta aglutinação, como se pode observar na Figura 1.10 (Turgeon, 2013).

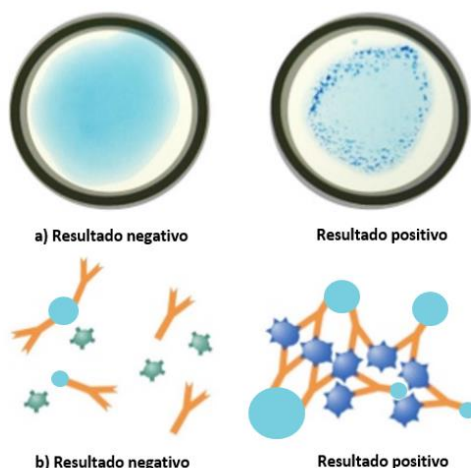


Figura 1.10 - Resultados possíveis de um teste de aglutinação em latex a) resultado negativo e positivo a olho nu b) resultado negativo e positivo a nível molecular (Studyblue, 2020.).

Este método de análise tem a si associadas várias vantagens. A vantagem mais notória é a rapidez; em alguns minutos, confirma um resultado. Outras vantagens são, por exemplo, a não necessidade da utilização de equipamento especializado ou caro e, ainda, a facilidade da realização do teste e da interpretação do resultado (Wanger et al., 2017).

Os testes de aglutinação em látex devem ser realizados em condições padronizadas. Essas condições são: pH, osmolaridade e concentração de iões da solução. A variação destes fatores pode interferir no resultado e produzir falsos-positivos ou falsos-negativos (Turgeon, 2013; Wanger et al., 2017).

1.7.2.2. Legiolert

O *Legiolert* é um método que deteta *L. pneumophila* em amostras de água. Tem como princípio a deteção de enzimas associadas à bactéria. O método utiliza um substrato que irá ser hidrolisado pelas enzimas produzidas pela *L. pneumophila*, como esquematizado na Figura 1.11. Este substrato é enriquecido com aminoácidos, vitaminas e outros nutrientes, de forma a facilitar o crescimento de *L. pneumophila* (IDEXX UK, 2019; Spies et al., 2018).

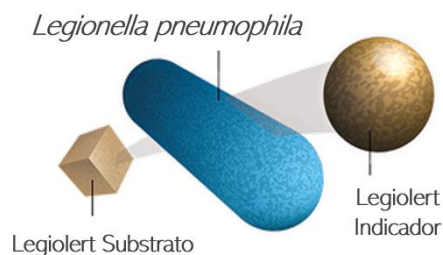


Figura 1.11 - Atuação do *Legiolert*. Adaptado de IDEXX UK, 2019.

As bactérias desta espécie que se encontrem em crescimento ativo vão produzir a enzima que irá reagir com o substrato. Esta reação dá origem a um composto que é denominado de *Legiolert* indicador, que possui uma cor marron (IDEXX UK, 2019; Spies et al., 2018). A IDEXX, empresa que fabrica o *Legiolert*, mantém o substrato e o indicador em segredo comercial, não sendo, por isso, possível apresentar informações mais específicas sobre o princípio de funcionamento do método.

1.7.2.3. Legipid® Fast Detection Test Legionella spp.

O *Legipid* é um teste que deteta *Legionella* spp., através de uma interação imunomagnética. Este teste combina a imunocaptura com ensaio imunoenzimático para a deteção e quantificação de micro-organismos.

De forma a poder separar as células de *Legionella* spp. são adicionados à solução partículas magnéticas revestidas com anticorpos que reconhecem a bactéria. O complexo que junta as partículas magnéticas e a *Legionella* spp. é lavado e ressuspenso de forma a poder entrar em contacto com um segundo anticorpo anti-*Legionella*, que se encontra ligado a uma enzima. Realiza-se de seguida uma lavagem. Caso não exista *Legionella* em suspensão não existirá nenhuma bactéria ligada ao magneto e assim, caso existam outro tipo de bactérias em solução estas serão descartadas. O último passo consiste na adição de um substrato cromogéneo, o qual é hidrolisado caso a enzima esteja ligada ao complexo. A hidrólise do substrato origina um composto corado, suscetível de ser quantificado através de espectrofotometria de UV-vis. Este processo está representado na Figura 1.12 (Albalat, 2014; Biótica, s.d.).

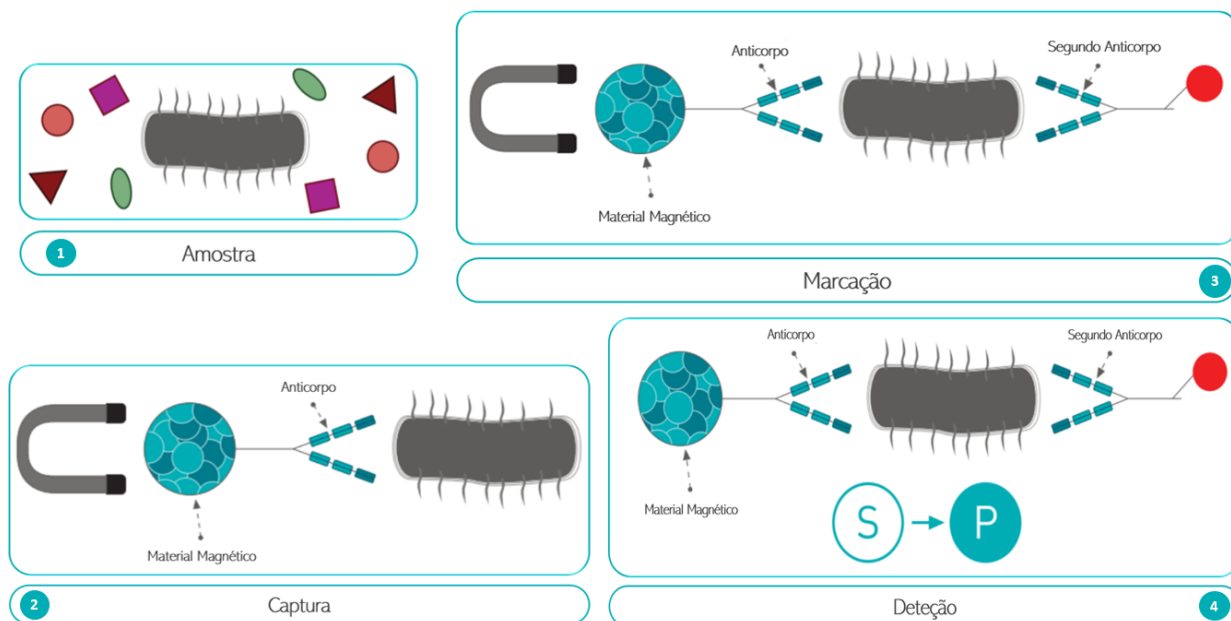


Figura 1.12 - Fases da quantificação de *Legionella* spp. *a* através do método Legipid®. Adaptado de: (Thermalindo Sarana Laboratoria, 2019)

1.7.3. Limite de quantificação dos métodos de análise

Na Tabela 1.3 encontram-se os limites de quantificação de cada método utilizado para quantificar *Legionella* spp. e/ou *L. pneumophila*.

Tabela 1.3 – Limites de quantificação dos diferentes métodos usados.

Método	Limite de quantificação
Cultura em placa	1 UFC
Legiolert	1 UFC*
Legipid® Legionella Fast Detection	60 UFC _{eq} *

*Dados fornecidos pelos fornecedores

Capítulo 2 – Materiais e métodos

2.1 Amostragem

2.1.1 Colheita de amostras de água destinada ao consumo humano

Antes de deixar correr a água e sem desinfetar a torneira, abrir o recipiente (tendo o cuidado para não tocar no gargalo e no interior da tampa), manter a tampa virada para baixo, sem a pousar; caso seja mesmo necessário, pousar a tampa em local limpo virada para cima. Colher cerca de 1000 mL de água e fechar o recipiente;

Depois de efetuada a colheita deve-se, então, efetuar a determinação do desinfetante residual, através de um colorímetro digital portátil, e a temperatura da água.

2.1.2 Colheita em sistemas que necessitem de colheita de biofilme

Em locais como torneiras, chuveiros e sistemas AVAC deve ser recolhido, caso seja possível, uma amostra de biofilme junto com a amostra de água. Deve-se abrir o recipiente, conforme as boas práticas já indicadas na colheita de amostras de água destinada ao consumo humano. Colher cerca de 1000 mL, caso possível. De seguida, deve-se fechar a torneira e raspar com uma zaragatoa estéril o local onde se suspeita que exista biofilme. Abrir de novo o recipiente e inserir no seu interior a zaragatoa, tendo o cuidado de quebrar ou cortar (com uma tesoura estéril) a ponta da mesma que esteve em contacto com as mãos do operador. Depois de efetuada a colheita deve-se então efetuar a determinação do desinfetante residual e a temperatura da água.

2.2 Quantificação de *Legionella spp.* e *L. pneumophila*

De acordo com a norma *ISO 11731 – Water quality — Enumeration of Legionella* a escolha do método de análise deve ter em conta a amostra a analisar. Esta norma classifica as amostras em quatro grupos diferentes:

- Amostras com alta concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes;

- Amostras com baixa concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes;
- Amostras com alta concentração de microrganismos interferentes;
- Amostras com uma concentração extremamente alta de microrganismos interferentes.

2.2.1 Sementeiras

2.2.1.1 Amostras com alta concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes

Coloca-se a amostra diretamente na placa, ou se for esperado que o número de UFC/L de *Legionella* exceda o valor de 100, realiza-se a inoculação por espalhamento de 0,1 a 0,5 ml da amostra, numa placa de ágar BCYE e numa placa de ágar BCYE + AB.

2.2.1.2 Amostras com baixa concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes

Filtra-se o volume de amostra de 1000 mL, sempre que possível, e coloca-se o filtro de membrana não tratado diretamente numa placa de agar BCYE. Deve-se realizar, ainda, um tratamento ácido, de acordo com o procedimento descrito no anexo A1; posteriormente, a membrana filtrante deve ser colocada numa das seguintes placas: BCYE + AB ou GVPC.

2.2.1.3 Amostras com alta concentração de microrganismos interferentes

As amostras podem ser manipuladas diretamente ou com diluições (1:10). Deve dividir-se a amostra em três partes. A primeira porção deve ser filtrada sem aplicação de tratamento, a segunda deve ser sujeita a um tratamento de calor, de acordo com o procedimento descrito no anexo A2 e, por fim, a terceira deve ser sujeita a um tratamento ácido. Nas amostras tratadas, a membrana filtrante deve ser colocada numa placa de GVPC.

2.2.1.4 Amostras com uma concentração extremamente alta de microrganismos interferentes

Deve ser realizado, neste caso, o tratamento combinado de calor e ácido, de acordo com o procedimento descrito no anexo A. Após a realização do mesmo deve-se filtrar o volume pretendido e, caso necessário, realizar diluições.

É possível encontrar os procedimentos associados aos diferentes tipos de amostra no anexo B.

2.2.2 Incubação

As placas devem ser incubadas a uma temperatura de 36 ± 2 °C durante 7 a 10 dias, sendo que devem ser analisadas ao longo do tempo. É ainda necessário criar uma atmosfera húmida de forma a prevenir a desidratação do meio de cultura.

2.2.3 Análise das placas

É aconselhável a realização de uma primeira análise entre o segundo e o quinto dia, já que o crescimento excessivo, tanto de colónias de *Legionella* como de outras bactérias, pode comprometer o resultado ao fim de 10 dias.

Deve-se recorrer a um microscópio de dissecação, para facilitar a visualização de colónias de *Legionella* as quais podem ser facilmente ocultadas por colónias de outras bactérias. A utilização deste utensílio também vai permitir uma melhor visualização do aspeto vítreo das colónias de *Legionella*.

2.2.4 Confirmação das presumíveis colónias de *Legionella* spp.

Quando existe a suspeita de existência de colónias de *Legionella* estas devem ser repicadas para placas de BCYE e BCYE-cys. Caso as colónias sejam apenas de um tipo, devem-se repicar três dessas colónias. No caso de existirem mais que um tipo, deve-se repicar, pelo menos, uma colónia de cada tipo.

A repicagem deve ser realizada tendo o máximo de cuidado para não arrastar meio de cultura. Esta deve ainda ser realizada primeiro para a placa de BCYE-cys e só depois para a de BCYE, de forma a reduzir ao máximo o arraste de meio de cultura viável ao crescimento de *Legionella*, para o meio de cultura inviável ao seu crescimento.

As placas devem ser incubadas a 36 ± 2 °C durante 2 a 5 dias.

2.2.5 Teste de aglutinação em látex

Retira-se os reagentes do frigorífico deixando que atinjam a temperatura ambiente. Agita-se as suspensões de látex com o auxílio de um vortex, expelindo de seguida o látex que se encontra no conta-gotas com o objetivo de misturar completamente o material. Coloca-se 1 gota de cada um dos reagentes do teste látex no interior e próximo da margem de um círculo do cartão de reação. Adiciona-se 1 gota da suspensão tampão diluente em cada um dos 4 círculos de teste. Não deixando que os reagentes látex e o tampão se misturem nesta fase. Com auxílio de uma ansa, repica-se uma colónia de pelo menos 1 mm (utilizar 2 ou mais se as colónias forem menores) e mistura-se com o tampão. Obtêm-se melhores resultados, homogeneizando bem até à formação de uma suspensão uniforme.

Repetir o processo com colónias semelhantes para cada um dos outros reagentes. Misturar os reagentes látex e as suspensões e espalhar a mistura com auxílio da ansa, de forma a cobrir as áreas de reação. Segura-se o cartão realizando movimentos giratórios suaves durante não mais que 1 minuto, verificando a presença de aglutinação em condições normais de iluminação. Uma vez concluído o teste, descarta-se os cartões de reação de forma segura e regista-se o resultado no modelo presente no Anexo E

2.3 Quantificação de *L. pneumophila* – Legiolert

2.3.1 Água potável

Homogeneizar a amostra por agitação. De seguida, verte-se a amostra para um frasco 100 mL. Deve-se de seguida avaliar a dureza da amostra utilizando as tiras indicadoras fornecidas pelo fabricante com 4 níveis de dureza. Caso seja determinado

que a água esta nos 2 patamares superiores de dureza (3 ou 4) adiciona-se 1 mL de suplemento de dureza. Caso esta se encontre nos patamares mais baixos de dureza (1 ou 2) adiciona-se 0,33 de suplemento de dureza.

De seguida, junta-se o reagente do *Legiolert*, garantindo que todo o pó é completamente dissolvido. Posteriormente, verte-se o conteúdo do frasco para uma galeria, selando-a, como se encontra representado na Figura 2.13.

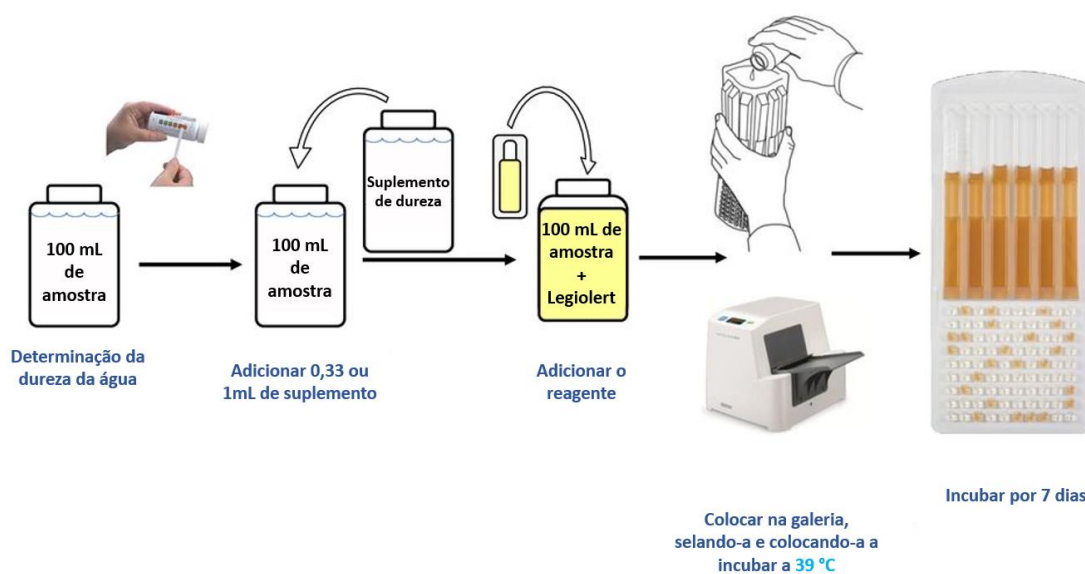


Figura 2.13 – Representação esquemática do procedimento do método de quantificação de *Legiolert* para água potável.

2.3.2 Água não potável

Adiciona-se o reagente *Legiolert* a 100 mL de água estéril. Posteriormente, mistura-se 2 mL da amostra com 2 mL do pré-tratamento e aguarda-se 60 segundos. Adiciona-se 2 mL da mistura à solução de *Legiolert*, preparada com água estéril. Verifica-se se todo o reagente está devidamente dissolvido e verte-se o conteúdo do frasco para uma galeria, selando-a, como se encontra representado na Figura 2.14.

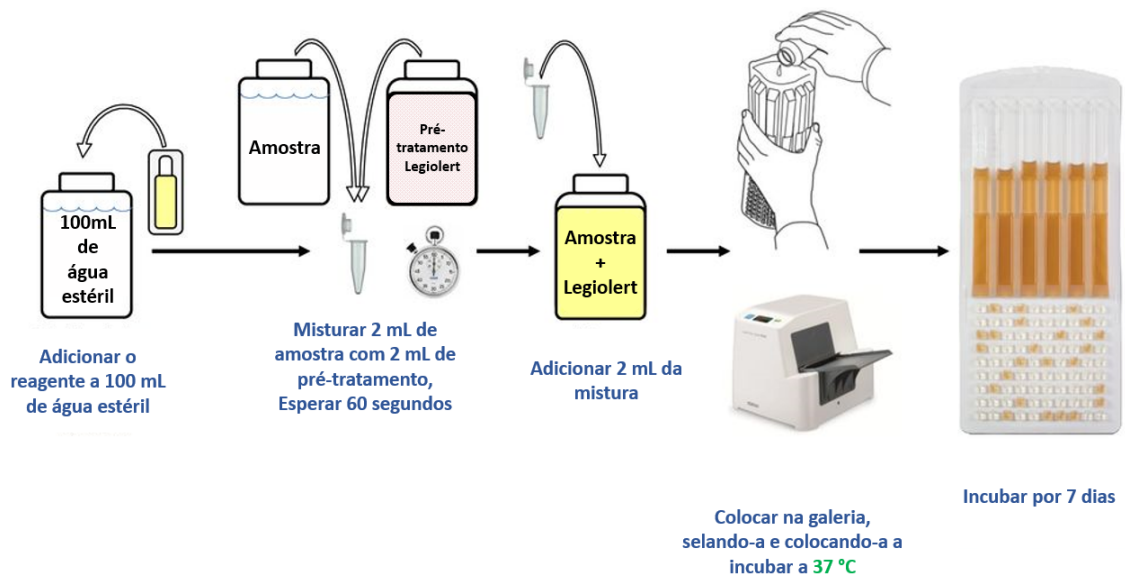


Figura 2.14 - Representação esquemática do procedimento do método de quantificação de *Legiolert* para água não potável.

É importante ainda denotar que todos os reagentes utilizados no Legiolert são do segredo do fabricante e por isso não temos acesso à sua constituição.

No fim da análise deve regista-se o resultado no modelo presente no Anexo E.

2.4 Quantificação de *Legionella* spp. - *Legipid*® *Legionella Fast Detection*

2.4.1 Pré-tratamento da amostra

Antes de proceder à filtração da amostra, deve-se preparar um frasco com o diluente fornecido pelo fabricante. De seguida, filtra-se 1 litro de amostra utilizando membranas de 0,45 µm de porosidade.

Posteriormente, separa-se o filtro do sistema de filtração e coloca-se o mesmo no frasco anteriormente preparado, assegurando que a parte de cima do filtro fica em contacto com o diluente. Caso seja necessário, pode-se cortar o filtro recorrendo a uma tesoura estéril.

Depois de colocado em contacto com o diluente este deve ser agitado. Essa agitação pode ser realizada de 3 formas: a) manual (2 minutos); b) vortex (2 minutos) e c) banho de ultrassons (5 minutos).



Figura 2.15 – Pré-tratamento da amostra.

2.4.2 Análise com o kit *Legipid*[®] *Legionella Fast Detection*

2.4.2.1 Fase de captura

Identificar as cuvetes e transferir o diluente que esteve em contacto com a amostra para as cuvetes. Adicionar diluente à cuvete do controlo negativo.

Agitar o recipiente que contém as partículas magnéticas e pipetar 1 mL para cada cuvete. De seguida realiza-se uma agitação orbital. As cuvetes devem ser colocadas horizontalmente no agitador a 80 rpm por 15 minutos.

Para a remoção das partículas magnéticas do resto da solução deve-se montar o sistema MP4, que está representado na Figura 2.16. Aguardar 5 minutos para reter as partículas magnéticas. Descartar o sobrenadante esvaziando as cuvetes do lado oposto aos hímenes. Desmontar o MP4 e insira o suporte da cuvete, na vertical, no agitador orbital. Em seguida, adicionar 4,5 ml do reagente de lavagem a cada cuvete. Agitar sem as tampas a 350 rpm por 10 segundos para ressuspender as partículas.

Montar o MP4 e aguarde 3 minutos para reter as partículas magnéticas. Descartar o sobrenadante esvaziando as cuvetes do lado oposto aos ímanes.

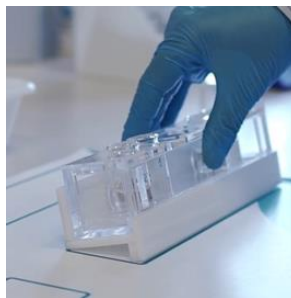


Figura 2.16 - Sistema MP4.

2.4.2.2 Fase de marcação

Adicionar 1 mL de reagente, que contem o segundo anticorpo marcado, em cada cuvete. Agitar, a 250 rpm por 10 segundos e depois a 80 rpm por 10 minutos. Montar o sistema MP4 e aguardar 3 minutos para reter as partículas magnéticas. Descartar o sobrenadante esvaziando as cuvetes do lado oposto aos ímanes.

Desmontar o sistema MP4 e inserir os suportes das cuvetes na vertical na plataforma orbital. Em seguida, adicionar 4,5 mL do reagente de lavagem em cada cuvete. Agitar a 350 rpm por 10 segundos, sem tampas, para ressuspender as partículas. Montar o sistema MP4 e aguardar 3 minutos para reter as partículas magnéticas. Descartar o sobrenadante esvaziando as cuvetes do lado oposto dos ímanes. Repetir o processo de lavagem mais 2 vezes

2.4.2.3 Fase de detecção

Desmontar o sistema MP4 e preparar o reagente que contém as enzimas, como demonstrado na Figura 2.17. Uma vez preparado o reagente L4, deve ser usado imediatamente.



Figura 2.17 - Preparação do reagente L4.

Adicionar, imediatamente, 1 mL a cada cuvete. Colocar no agitador a 80 rpm durante 2 minutos. Efetuar uma agitação de 250 rpm durante 10 segundos para ressuspender as partículas. De seguida, parar a agitação e adicionar 100 μ L do reagente de paragem que irá parar a reação enzimática. Agitar durante 5 segundos a 80 rpm. Montar o sistema MP4 e aguarde 5 minutos para reter as partículas magnéticas.



Figura 2.18 - Demonstração da adição do reagente de paragem.

2.4.3. Leitura do resultado

1. Transferir 1 mL dos sobrenadantes, controlo negativo e testes, cada um na leitura correspondente da célula.

Nota importante: pipetar 1 mL do sobrenadante do lado oposto ao magneto, tendo o cuidado de não arrastar as partículas.

2. Selecionar o comprimento de onda de 430 nm no espectrofotómetro.
3. Ajustar o zero do espectrofotómetro, utilizando o controlo negativo.
4. Medir a absorvância do sobrenadante de cada teste.
5. Registrar o resultado no modelo presente no Anexo E.

Capítulo 3 – Resultados e discussão

3.1 Monitorização de *Legionella* em circuitos de água – Métodos de análise

3.1.1. Cultura em placa

A norma ISO 11731:2017 define diferentes possibilidades para a realização das análises sendo que neste trabalho se optou, na sua generalidade, pela filtração direta, associando sempre um tipo de tratamento. Por permitir a análise de um maior volume de amostra, sem comprometer a sua esterilidade, optou-se pela utilização, na maior parte dos casos, do tratamento ácido associado ao meio BCYE+AB. Este tratamento, aliado ao agente antibacteriano e antimicótico presente no meio, reduz substancialmente a flora microbiana que cresce na placa. Esta diferença é bem visível na Figura 3.19.

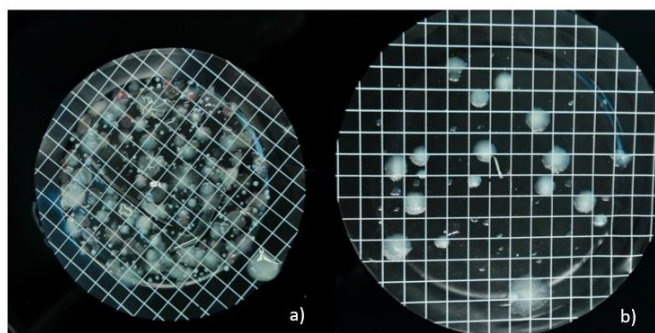


Figura 3.19 – Imagem de membranas em meio de cultura para pesquisa de *Legionella* spp. a) Membrana em BCYE sem aplicação de tratamento ácido. b) Membrana em BCYE+AB com aplicação prévia de tratamento ácido.

De forma a controlar a incubação das placas colocou-se um branco a acompanhar cada ensaio. O controlo de qualidade foi realizado recorrendo a lentículas de *L. pneumophila*, usando pelo menos um controlo por lote.

Quanto à repicagem, esta deve ser feita desde o primeiro momento de suspeita, uma vez que, como os meios de cultura da *Legionella* sendo bastante nutritivos existe a possibilidade de um crescimento desmedido de outro tipo de microrganismo, como é possível observar na Figura 3.20.



Figura 3.20 - Placa com crescimento abrupto de um fungo desconhecido.

A confirmação de colónias revelou-se um desafio, uma vez que a morfologia das diferentes espécies de *Legionella* variam, como já referido acima. Assim sendo, era necessário testar o maior número possível de colónia típicas.

Para garantir a viabilidade do processo de repicagem, sempre que esta era realizada, fazia-se acompanhar a mesma de um controlo positivo realizado com uma estirpe já cultivada em BCYE a partir da lentícula de *L. pneumophila*.

Quando existiu um possível positivo, como representado na Figura 3.21, foram realizados testes de aglutinação em latex.



Figura 3.21 - Positivo presumível de *Legionella* spp.; à esquerda: placa de BCYE com crescimento para os seis tipos de colonias analisadas; á direita: placa de BCYE-cys, sem crescimento para a colónia destacada na figura, sendo por isso esta um positivo.

Cada teste de aglutinação em latex foi sempre acompanhado de um controlo negativo e positivo, representados nos poços 4 e 5 da Figura 3.22, respetivamente.

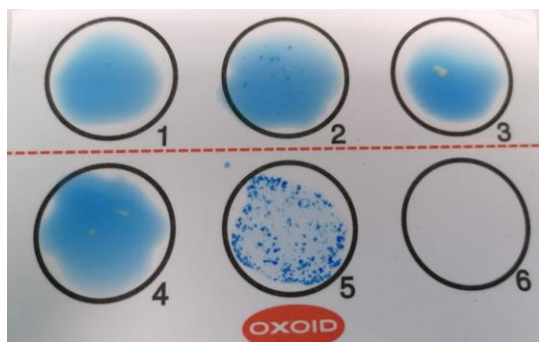


Figura 3.22 - Teste de Látex para a pesquisa de *Legionella* spp.

3.1.2 Quantificação de *L. pneumophila* – Legiolert

O método para a quantificação de *L. pneumophila* – Legiolert revelou-se ser um método bastante fácil de usar, com fácil leitura e obtenção dos resultados, por cruzamento dos poços grandes com os pequenos, usando uma tabela como a que se encontra no 6.6. Anexo F – Tabela Legiolert. O controlo de qualidade foi realizado uma vez por lote, com lentículas de *L. pneumophila*. Na Figura 3.23 está retratado um exemplo de um resultado positivo.

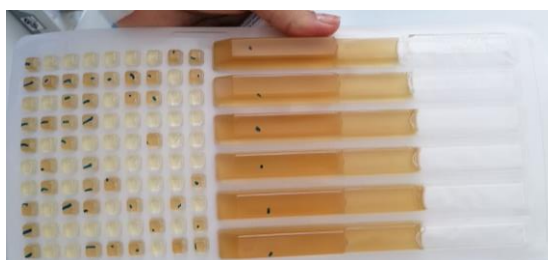


Figura 3.23 – Resulto positivo de *L. pneumophila* com o método de pesquisa Legiolert.

No entanto, o método apenas possibilita a utilização de um volume muito baixo (1 mL) no teste de água não potável. Para além disso, não era fácil qualificar água como potável ou não, uma vez que, por exemplo no caso dos sistemas AVAC não existia volume suficiente para a realização de análises de potabilidade.

Esta decisão é bastante importante, pois caso não sejam administrados os tratamentos corretos nas amostras para incubar na galeria, pode existir um crescimento anormal de outras espécies e contaminar o resultado, o que pode vir a dificultar a leitura do mesmo, como é o caso da Figura 3.24



Figura 3.24 - Teste de *Legiolert* de um sistema de AVAC.

3.1.3 Quantificação de *Legionella* spp. - *Legipid*® *Legionella Fast Detection*

O método de análise *Legipid*® *Legionella Fast Detection* tem como principal vantagem a obtenção de resultados no espaço de 1 hora. No entanto, revelou-se um método trabalhoso, não possibilitando a identificação da espécie de *Legionella* spp., caso esta se encontre presente na amostra. Tem, no entanto, a vantagem de não necessitar de esterilidade ou de grandes equipamentos para a realização da análise e de permitir analisar sempre grandes volumes de amostra. A leitura é realizada lendo a absorvância do produto final da análise. Uma imagem das cuvetes pode ser observada na Figura 3.25.

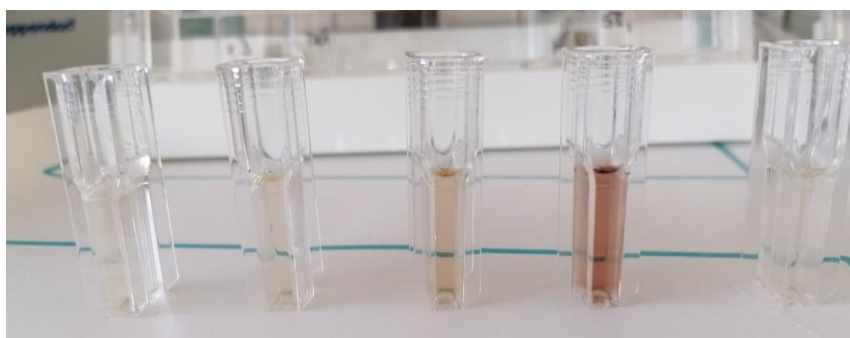


Figura 3.25 – Resultado de *Legipid*® *Legionella Fast Detection* na fase de leitura do resultado.

Como já referido, este método necessita do acompanhamento de um branco em cada teste. Foi ainda realizado um controlo positivo, disponibilizado pelo fornecedor. Este controlo foi realizado pelo menos 2 vezes em cada lote.

3.1.4 Comparação dos métodos

Para a comparação dos 3 métodos foram realizadas 154 determinações, onde foram feitas 50 análises por *Legipid*, 51 por *Legiolert* e 53 por método de cultura em placa (Tabelas 3.4 a 3.7). Das 50 análises de *Legipid* 14 foram positivas e em 36 das amostras não foi detetada a presença de *Legionella* spp. (<60). Com o método *Legiolert* foram determinadas 51 amostras não tendo sido detetada em nenhuma delas a presença de *L. pneumophila*. No método cultural, das 53 análises realizadas, apenas em 2 das amostras foi detetada a presença de *Legionella* spp., não tendo sido encontrado nenhum resultado positivo para *L. pneumophila*.

É importante denotar que as tabelas que se seguem apresentam valores que tem em conta, muitas vezes, o cálculo da diluição efetuada para possibilitar a realização da análise. Sempre que este procedimento foi adotado, encontra-se referido em nota de rodapé.

Na Tabela 3.4, estão representados os resultados de cada um dos métodos referentes a amostras de água quente sanitária.

Tabela 3.4 – Tabela de resultados das diferentes análises realizadas em água quente sanitária.

Data	Código Amostra	Temperatura (° C)	Cloro residual livre (mg/L)	<i>Legipid</i> - <i>Legionella</i> spp. (UFCEq/L)	<i>Legiolert</i> - <i>L. pneumophila</i> (NMP/100mL)	Cultura em placa - <i>Legionella</i> spp. (UFC/L)	Cultura em placa - <i>Legionella pneumophila</i> (UFC/L)
11/12/2019	M	69,7	0,57	<60	0	0	0
	N	69,7	0,57	ND	0	0	0
12/12/2019	O	50,3	0,05	<60	0	0	0
	P	50,3	0,05	<60	<100*	6	0
	Q	49,9	0,05	<60	0	0	0
	R	49,9	0,05	<60	<100*	0	0
	S	50,2	0,09	<60	0	0	0

*resultado compreendido entre 0 e 99, uma vez que foi realizada uma diluição de 100x.

Foi efetuada uma diluição de 10 ou 100 x, de acordo com as especificações dos métodos ou por impossibilidade de filtrar maior volume de amostra.

Observando a tabela é possível salientar que apenas a amostra P apresenta 6 UFC/L de *Legionella* spp. em cultura de placa, valor que é coerente com os outros testes, uma vez que este se encontra dentro do intervalo dos resultados dos outros métodos.

É importante denotar que as amostras P e R foram recolhidas recorrendo a uma zaragatoa. Foram efetuadas colheitas de amostras da água utilizada no ponto de amostragem onde se recolheu as amostras P e R, correspondentes a O e Q, respetivamente.

Na Tabela 3.5 é possível observar os resultados referentes à água fria de consumo humano.

Tabela 3.5 – Tabela de resultados das diferentes análises realizadas em água fria de consumo humano.

Data	Código Amostra	Temperatura (° C)	Cloro residual livre (mg/L)	<i>Legipid - Legionella</i> spp. (UFCeq/L)	<i>Legiolert - L. pneumophila</i> (NMP/100mL)	Cultura em placa - <i>Legionella</i> spp. (UFC/L)	Cultura em placa - <i>L. pneumophila</i> (UFC/L)
04/12/2019	E	11,4	1,10	<60	0	0	0
	F	15,0	0,84	<60	0	0	0
06/12/2019	G	16,2	0,84	<60	0	0	0
	H	16,3	0,89	<60	0	0	0
	L	16,3	0,93	<60	0	0	0
12/12/2019	T	13,3	0,82	<60	0	0	0
16/12/2019	V	12,0	0,79	<60	0	0	0
	X	12,2	0,90	<60	0	0	0
17/12/2019	Z	13,6	0,72	<60	0	0	0
30/06/2020	C	21,0	1,03	<60	0	0	0
14/07/2020	L	18,1	0,60	<60	0	20	0
15/07/2020	E	26,4	1,07	<60	0	0	0
	F	25,6	0,64	<60	0	0	0
14/07/2020	G	23,7	0,78	<60	0	0	0
	AD	22,0	0,92	<60	0	0	0
20/07/2020	V	20,8	0,85	<60	0	0	0
	AE	24,9	0,83	<60	0	0	0
27/07/2020	AF	24,5	0,70	<60	0	0	0
30/07/2020	L	15,5	0,92	<60	NR*	0	0
	T	26,1	0,87	<60	NR*	0	0
31/07/2020	AG	20,3	1,04	NR*	0	0	0
	AH	24,8	1,30	NR*	0	0	0
	AI	23,3	0,83	NR*	0	0	0

NR – análises não realizadas por falta de reagente.

Na tabela acima é possível verificar que todos os valores são bastante coerentes. No ponto L, recolhido no dia 14 de julho, foi possível detetar a presença de *Legionella* spp., pelo método cultural (20 UFC/L), sendo negativo para *L. pneumophila*. Estes

resultados são coerentes com os obtidos pelos outros métodos uma vez que o *Legiolert* também apresenta um resultado negativo para *L. pneumophila* e o método *Legipid* não deteta a bactéria, uma vez que o valor se encontra abaixo do limite de quantificação do método (60 UFC_{eq}/L) (Tabela 1.3).

Nas Tabelas 3.6 e 3.7 estão representados os resultados para a água natural doce e para os sistemas de rega e de incêndio, respetivamente.

Tabela 3.6 – Tabela de resultados das diferentes análises realizadas em água natural doce superficial e subterrânea.

Data	Código Amostra	Temperatura (° C)	Matriz da amostra	<i>Legipid</i> - <i>Legionella</i> spp. (UFC _{eq} /L)	<i>Legiolert</i> - <i>L. pneumophila</i> (NMP/100mL)	Cultura em placa - <i>Legionella</i> spp. (UFC/L)	Cultura em placa - <i>L. pneumophila</i> (UFC/L)
02/12/2019	A	13,7	AND _{SP}	1800	<100*	<10**	<10**
	B	20,1	AND _{SB}	<60	0	0	0
04/12/2019	D	8,9	AND _{SP}	170	<100*	<10**	<10**
06/12/2019	I	15,9	AND _{SB}	<60	0	0	0
	J	16,0	AND _{SB}	<60	0	0	0
16/12/2019	U	11,1	AND _{SP}	260	<100*	<10**	<10**
17/12/2019	Y	12,0	AND _{SP}	770	<100*	<100**	<100**
	AA	10,5	AND _{SP}	1200	<100*	<10**	<10**
	AB	10,8	AND _{SP}	1100	<100*	<10**	<10**
30/06/2020	A	22,4	AND _{SP}	209	<100*	<10**	<10**
	AC	22,4	AND _{SB}	<60	0	0	0
14/07/2020	I	18,1	AND _{SB}	<60	0	0	0
	J	18,1	AND _{SB}	<60	0	0	0
15/07/2020	D	NR	AND _{SP}	116	<100*	<100**	<100**
20/07/2020	U	23,1	AND _{SP}	218	<100*	<10**	<10**
27/07/2020	Y	19,0	AND _{SP}	220	<100*	<100**	<100**
28/07/2020	AA	19,1	AND _{SP}	94	NR	<100**	<100**
	AB	19,1	AND _{SP}	<60	NR	<100**	<100**

NR – análises não realizadas por falta de reagente.

AND_{SP} – água natural doce superficial.

AND_{SB} – água natural doce subterrânea.

* quando o resultado é <100 significa que está compreendido entre 0 e 99, devido à utilização de um menor volume de amostra.

**quando o resultado é <10 significa que está compreendido entre os valores de 0 e 9, devido à utilização de um menor volume de amostra.

Foi efetuada uma diluição de 10 ou 100 x, de acordo com as especificações dos métodos ou por impossibilidade de filtrar maior volume de amostra.

Quando analisamos os valores da Tabela 3.6 podemos ver que, na generalidade, os valores obtidos por *Legipid* são mais elevados que nos outros métodos, se bem que esta comparação deva ser feita com cuidado. Tomando como exemplo o ponto Y, na

amostra obtida no dia 17 de dezembro de 2019, pelo método *Legipid* foi obtido um valor de 770 UFC_{eq}/L, pelo método de *Legiolert* <100 NMP/100 mL e pelo método cultural <100 UFC/ L de *Legionella* spp. e de *L. pneumophila*. Tendo em conta a incerteza do método *Legiolert*, os resultados obtidos pelos métodos *Legipid* e *Legiolert* podem ser coerentes uma vez que o resultado obtido pelo *Legipid* (770 UFC_{eq}/L) se encontra dentro do intervalo possível para o método *Legiolert* (NMP entre 0 – 99/100 mL). No entanto, quando comparamos os métodos *Legipid* e cultural, observa-se um valor superior quando a amostra é analisada por *Legipid* (770 UFC_{eq}/L > 0-100 UFC/L).

É importante referir ainda que com a necessidade de fazer inocular um volume menor de amostra nos métodos *Legiolert* e filtrar também um menor volume no método de cultura em placa se perde informação sobre a amostra alargando o intervalo em que o resultado pode estar compreendido.

Tabela 3.7 – Tabela com resultados de amostras realizadas em água do sistema de rega, sistema de combate a incêndios e controlos positivos.

Data	Código Amostra	Matriz da amostra	Temperatura (° C)	Cloro residual livre (mg/L)	<i>Legipid</i> - <i>Legionella</i> spp. (UFC _{eq} /L)	<i>Legiolert</i> - <i>L. pneumophila</i> (NMP/100mL)	Cultura em placa - <i>Legionella</i> spp. (UFC/L)	Cultura em placa - <i>Legionella pneumophila</i> (UFC/L)
17/07/2020	C+	NA	NA	NA	ND	5	33	33
27/07/2020	C+	NA	NA	NA	183	181	92	92
30/07/2020	C+	NA	NA	NA	22138	NR	89	89
04/09/2020	AJ	SR	20,4	NA	1299	0	0	0
	AL	SR	22,7	NA	19911	0	0	0
	AM	SI	21,7	0,12	<60	0	0	0
	AN	SI	25,2	0,43	<60	0	0	0

C+ – controlo positivo

NA – não aplicável, uma vez que não é adicionado à água qualquer tipo de desinfetante.

NR – análises não realizadas por falta de reagente.

SI – sistema de incêndio.

SR – sistema de rega.

Os resultados obtidos no sistema de rega são bastante incoerentes, sendo que o *Legipid* apresenta valores muito elevados, quando nenhum dos outros métodos deteta a presença das bactérias que pesquisam. Seria necessário a realização de mais testes para determinar qual dos valores se encontra mais próximo do valor real e se não existiu nenhuma interferência no resultado.

O sistema de combate a incêndios é abastecido pelo sistema de água fria de consumo humano fornecido às instalações. Uma vez que se trata de uma água tratada, este facto poderá explicar a razão de, nesta matriz de água, nenhum dos métodos ter detetado a presença de *Legionella*.

Mesmo os controlos positivos não apresentam valores coerentes verificando-se também nestes a tendência do método *Legipid* para a obtenção de valores mais elevados de *Legionella*.

É possível que as bactérias quantificadas por *Legipid* se encontrem num estado não viável ou viável, mas não cultivável, o que poderá explicar a deteção em menor número (ou a sua ausência) nos métodos de cultura em placa e *Legiolert*. De facto, ambos os métodos requerem que existam bactérias com capacidade proliferativa (método cultural) ou metabolicamente ativas (*Legiolert*) para originar um resultado positivo. No entanto, este facto, por si só, poderá não ser suficiente para explicar os valores obtidos por *Legipid*, de um modo geral mais elevados, comparativamente aos originados pelo método cultural ou *Legiolert*.

3.2 Análise de risco

A *Legionella* é um microrganismo que necessita de condições específicas para o seu crescimento. No entanto, possui uma ampla gama de temperatura onde se desenvolve, como ilustrado na Figura 1.3. Esta bactéria multiplica-se a temperatura acima de 20 °C. Muitos sistemas de distribuição de água para consumo humano na empresa apresentam durante uma grande parte do ano uma temperatura favorável ao crescimento de *Legionella*. Podemos observar na Figura 3.26 a evolução, ao longo de um ano, da temperatura da água retirada em quatro pontos de amostragem da rede de abastecimento da empresa Águas do Douro e Paiva.

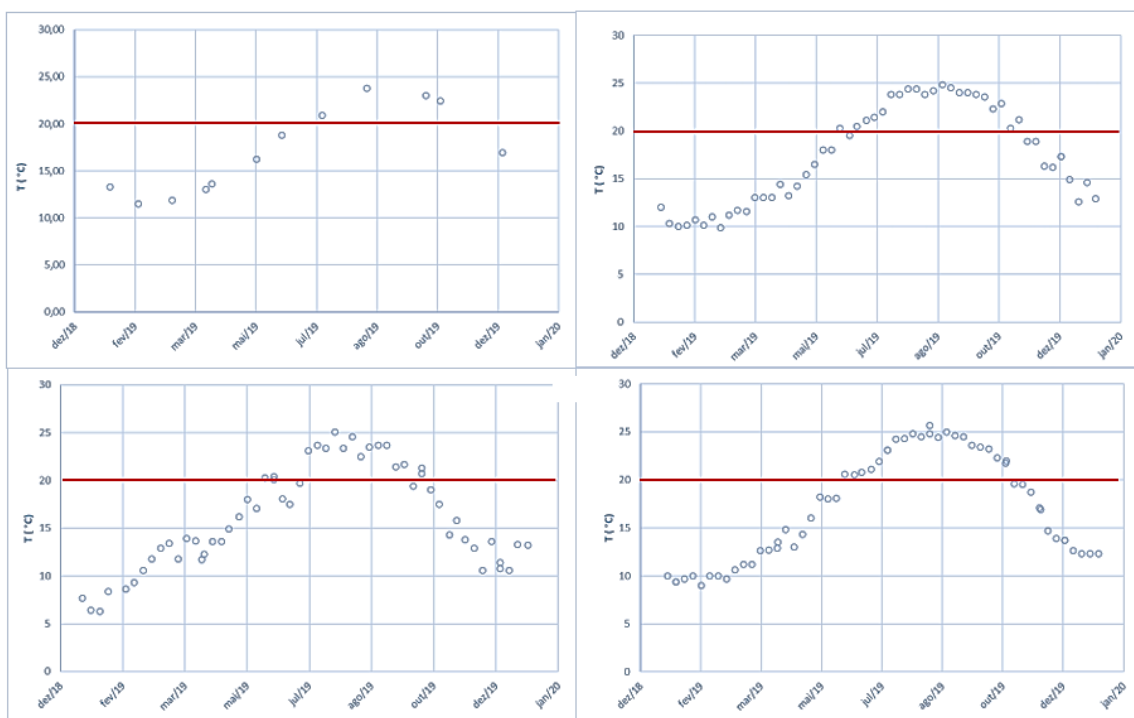


Figura 3.26 - Gráficos de temperaturas de quatro diferentes pontos de sistemas de água fria de consumo humano, monitorizados ao longo de 12 meses (1 de janeiro de 2019 a 1 de janeiro de 2020). Dados fornecidos pela empresa Águas do Douro e Paiva.

Desta forma, foi considerado essencial a realização de uma análise de risco nos sistemas água fria de consumo humano. Assim, para avaliar os pontos críticos do sistema, recorreu-se ao mapa de distribuição representado na Figura 1.1 onde foram escolhidos pontos de amostragem, o mais distantes possível da origem da água tratada. Analisou-se ainda a água à entrada e saída de cada ETA. Foram, ainda, analisados outros sistemas considerados de risco, para a proliferação da bactéria, existentes na empresa, os quais se encontram abaixo enumerados:

- Sistemas de água quente sanitária
- Sistemas AVAC
- Rega por aspersão em meio urbano
- Sistemas de água de combate a incêndio
- Outras instalações que acumulam água e podem produzir aerossóis (chuveiros e lava olhos).

3.2.1 Resultados da análise de risco

Para a realização da análise de risco recorreu-se às tabelas apresentadas no 6.3. Anexo C. O cálculo do risco foi efetuado tendo como base 9 pontos, os quais foram selecionados de forma a que todas as situações de risco se encontrassem representadas.

Para cada um dos pontos referidos na Tabela 3.8 foi calculado o IG_{RI} e o IG_{RR} para os casos onde era possível realizar alterações. O cálculo de cada um destes pontos está presente no Anexo D.

Um dos critérios a ter em conta na análise de risco é a quantificação de *Legionella* spp. e, em alguns casos, de *L. pneumophila*. Para este efeito foram utilizados os valores das análises de quantificação de *Legionella* spp. e *L. pneumophila*, obtidos pelo método de cultura em placa.

Como possível é observar na Tabela 3.8, não existe qualquer ponto com valores de Índice Global superior a 60. É ainda importante denotar que para valores de risco mais baixo, pequenas alterações, como a limpeza dos sistemas, provoca uma redução quase total do risco, como é o caso dos pontos B e C. Os sistemas que apresentam valores de Índice Global mais elevados são os sistemas de água quente sanitária, com 45,4 e 26,6 (pontos D e E, respetivamente), o sistema de combate a incêndio (com um valor de 34,1) e o sistema de rega, com o valor de 31. Estes sistemas são problemáticos por diferentes razões. O sistema de água quente sanitária encontra-se dentro de um intervalo de temperatura crítica para a proliferação de bactérias do género *Legionella*. O sistema de incêndio apresenta, como principal agravante para o Índice Global, uma baixa frequência de utilização. Já o sistema de rega da empresa não possui qualquer tipo de desinfecção, o que tem um grande peso no cálculo do Índice Global.

Existem diferentes tipos de alterações que podem ser implementadas para a diminuição do risco. No entanto, as mais comuns são: a limpeza dos sistemas, a alteração das temperaturas e a pesquisa recorrente de *Legionella* spp. e *L. pneumophila*.

Tabela 3.8 – Resultados da análise de risco para diferentes tipos de sistemas geradores de aerossóis.

Tipo de sistema	Ponto	IG_{RI}	IG_{RR}	IG_{RI} - IG_{RR}	Redução do Índice Global %
Água fria de consumo humano	A	15,3	8,1	7,2	47,0
	B	10,1	0,9	9,2	91,1
	C	8,1	0,9	7,2	88,9
Sistemas de água quente sanitária	D	45,4	20	25,4	55,9
	E	26,6	18	8,6	32,3
Condensadores evaporativos	F	3,6	3,6	0	0
Rega por aspersão em meio urbano	G	31	28,5	2,5	8,1
Sistemas de água de combate a incêndio	H	34,1	34,1	0	0
Chuveiro lava-olhos	I	12,2	9,7	2,5	20,5

As alterações com mais peso para este sistema de análise de risco são as que se referem à modificação da estrutura do equipamento. Contudo, estas não são fáceis de implementar e implicam um custo elevado. Por esta razão e por não termos obtido valores de risco acima dos limites, não foram sugeridas alterações mais profundas aos sistemas que produzem aerossóis.

Capítulo 4 – Conclusões

A doença dos legionários é atualmente uma doença de declaração obrigatória. A *Legionella* é uma bactéria que apresenta uma forma de adaptação única, na natureza e nos sistemas que usamos diariamente. Desta forma, a melhor maneira de garantirmos a segurança de todos deve passar por uma análise de risco detalhada, tendo como objetivo controlar o mesmo e eliminá-lo ou diminuí-lo o máximo possível.

Para a realidade da empresa, sugere-se que se adote o método de cultura em placa uma vez que este permite a pesquisa de *Legionella* spp. e de *L. pneumophila*, em simultâneo, não dependendo de outro teste para complementar o seu resultado. Este é também o método mais económico, com um custo de aproximadamente 35€/amostra, enquanto os outros métodos rondam o valor de 60€/amostra. Adicionalmente, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que este método funciona bem para a generalidade das matrizes analisadas na empresa.

Neste trabalho foram realizadas diversas análises de forma a identificar e calcular o risco da presença desta bactéria para a realidade da empresa Águas do Douro e Paiva. Foi possível perceber que existem diversos sistemas que possuem alguns dos aspetos considerados críticos para o crescimento da *Legionella*, como por exemplo a temperatura.

Os equipamentos tipicamente mais críticos são os que produzem maior quantidade de aerossóis com dimensões mais pequenas e com temperaturas que rondem os 37 °C, o que se reflete no valor do risco. Olhando para os resultados é possível aferir que, tipicamente, os equipamentos que possuem estas características são os de água quente sanitária (IG_{RI} 45,4 e IG_{RI} 26,6) e, por isso, sugere-se a retirada de todos os chuveiros que não estejam em utilização devido ao risco associado à estagnação da água. Os outros equipamentos de risco devem ainda seguir uma boa prática de limpeza e manutenção tendo sempre em conta o ajuste necessário de temperatura, caso possível, para que esta não se situe na zona crítica.

Capítulo 5 – Trabalho futuro

Sugere-se, como trabalho futuro, que sejam exploradas as diferentes formas de concentração de amostra descritas na *ISO 11731 - Water quality — Enumeration of Legionella*, para além da filtração, de forma a perceber se, no caso de matrizes mais complexas e com mais interferentes se este método ajudará a aumentar o volume de água analisada. Adicionalmente, sugere-se a comparação do método de cultura com o de PCR, uma vez que este é cada vez mais utilizado e apresenta sobre o método de cultura a enorme vantagem de permitir análises num tempo bastante reduzido. Por fim é sugerido que se realizem mais análises em matrizes de água natural doce e no sistema de rega, visto que os resultados nem sempre foram coerentes.

Capítulo 6 – Bibliografia

Águas de Douro e Paiva, S.A. (2019a). Acedido a 26 de novembro de 2019 de <https://www.addp.pt/dados.php?ref=quem-somos>

Águas de Douro e Paiva, S.A. (2019b). Acedido a 26 de novembro de 2019 de <https://www.addp.pt/dados.php?ref=mapa-sistema>

Águas de Douro e Paiva, S.A. (2019c). Acedido a 26 de novembro de 2019 de <https://www.addp.pt/dados.php?ref=laboratorio>

Albalat, G. R., Broch, B. B. e Bono, M. J. (2014). *Microbiological methods - Method Modification of the Legipid® Legionella Fast Detection Test Kit*. Journal of AOAC International, 97, 1403-1409

Baratto, C. M., e Megiolaro, F. (2012). *Comparação de diferentes protocolos de extração de DNA de bactérias para utilização em RAPD-PCR*. Unoesc & Ciência – ACET, 3, 121–130

Benoiel, M. J., Fernando, A. L., e Diegues, P. (2010). *Prevenção e controlo de Legionella nos sistemas de água*. (3ª ed). Caparica - Comissão Setorial para Água: Instituto Português da Qualidade

Best, A., e Kwaik, Y. A. (2018). *Evolution of the arsenal of Legionella pneumophila effectors to modulate protist hosts*. MBio, 9, 1–16
<https://doi.org/10.1128/mBio.01313-18>

Biótica (s.d.) *Legipid® Legionella Fast Detection - Catalog number: 311-10-01*. Versão 15.0. Disponível em <https://www.biotica.es/uploads/Legipid-%20pack%2010%20analysis.v15.0.pdf>

Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., e Morse, S. A. (2007). *Medical Microbiology* (24ª ed.), Estados Unidos da América: Appleton & Lange.
<https://doi.org/10.1036/0071476660>

- DGS – Direção Geral de Saúde. (2007). *Técnicas de colheita de amostras*. Disponível em <https://www.dgs.pt/delegado-de-saude-regional-de-lisboa-e-vale-do-tejo/paginas-acessorias/ficheiros-externos/legionela/colheitas-rotina-pdf.aspx>
- DGS – Direção Geral de Saúde. (2013). *Prevenção da Doença dos Legionários*. Lisboa. Disponível em <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/prevencao-da-doenca-dos-legionarios-sistemas-de-tratamento-vantagens-e-desvantagens.aspx>
- DGS – Direção Geral de Saúde. (2017). *Surto de Doença dos Legionários no Hospital São Francisco de Xavier – Síntese*. Disponível em <https://www.dgs.pt/em-destaque/surto-de-doenca-dos-legionarios-no-hospital-sao-francisco-de-xavier-sintese-pdf.aspx>
- ECDC – *European Centre for Disease Prevention and Control*. (2018). *Legionnaires' disease Annual Epidemiological Report for 2017*.
- ECDC – *European Centre for Disease Prevention and Control*. (2020). *Disease data from ECDC Surveillance Atlas - Legionnaires disease*. Acedido a 14 de outubro de 2020 de <https://www.ecdc.europa.eu/en/legionnaires-disease/surveillance/atlas>
- Ferreira, W. F. C., e Sousa, J. C. F. (2000). *Microbiologia Vol II*. Lisboa: Lidel - edições técnicas, Lda.
- Fields, B. S., Benson, R. F., e Besser, R. E. (2002). *Legionella and legionnaires' disease: 25 Years of investigation*. *Clinical Microbiology Reviews*, 15, 506–526. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.3.506-526.2002>
- George, F., Almeida, F., Ribeiro, L. M. C., Banza, N., e Lacasta, N. (2014). *Surto de Doença Dos Legionários em Vila Franca De Xira descrição sumária do Surto*. Disponível em <https://www.dgs.pt/a-direccao-geral-da-saude/comunicados-e-despachos-do-director-geral/surto-de-doenca-dos-legionarios-em-vila-franca-de-xira-descricao-sumaria-do-surto.aspx>

HiMedia Laboratories. (2017). *Buffered Charcoal Yeast Extract Agar Medium (BCYE Medium) M813I Composition*. Disponível em <http://himedialabs.com/TD/M813I.pdf>

IDEXX UK. (2019). *Legiolert: detection of Legionella pneumophila*. Acedido a 27 de novembro de 2019 de <https://www.idexx.co.uk/en-gb/water/water-products-services/legiolert/>

ISO 19458:2006. (2006). Water quality — Sampling for microbiological analysis.

Laboratorios Omega. (2019). *Análisis de Legionella - Laboratorios Omega*. Acedido a 26 de novembro de 2019 de <https://www.laboratoriosomega.es/analisis-de-legionella/>

Lin, S. D. (2002). The indicator concept and its application in water supply. Em S. Lingireddy (Ed.), *Control of Microorganism in Drinking Water*, 51–80. Virginia, Estados Unidos da América: ASCE - American Society of Civil Engineers.

Machner, M., Aldea, M. R., Chen, Y., Gaspar, A., e Thomas, A. (2009). *Annual Report of the Division of Intramural Research*. Acedido a 10 de dezembro de 2019 de NICHD | Unit on Microbial Pathogenesis website: <https://annualreport.nichd.nih.gov/2009/ump.html>

Parija, S. C. (2012). *Microbiology & Immunology* (2ª ed.). Pudhucherry, India: Elsevier.

Peterson, K. E. (2019). What Is Risk Management? Em: *The Professional Protection Officer - Practical Security Strategies and Emerging Trends*. S. J. Davies & Lawrence J. Fennelly (Eds), 367-372 Butterworth-Heinemann: Elsevier Inc.

Pires, A. M. V. (1997). *Biologia das Bactérias do Género Legionella*. Tese de Doutoramento, Universidade de Coimbra.

Quirino, J. P. R. de S. (2011). *Doença dos Legionários: Uma Revisão Crítica*. Dissertação, Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde.

- Rausand, M. (2011). *Risk Assessment* (1ª ed.). Hoboken, New Jersey:-John Wiley & Sons, Inc.
- Relacre (2017). *Guia Relacre 28 - Amostragem de águas*. Disponível em http://www.relacre.pt/assets/relacreassets/files/commissionsandpublications/GuiaRELACRE28_Amostragem%20de%20Aguas_VF_20171218.pdf
- Spies, K., Pleischl, S., Lange, B., Langer, B., Hübner, I., Jurzik, L., Luden, K., Exner, M. (2018). *Comparison of the Legiolert™/Quanti-Tray® MPN test for the enumeration of Legionella pneumophila from potable water samples with the German regulatory requirements methods ISO 11731-2 and ISO 11731*. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 221 (7), 1047–1053.
- Strassmann, J. E., e Shu, L. (2017). *Ancient bacteria–amoeba relationships and pathogenic animal bacteria*. PLoS Biology, 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002460>
- Studyblue. (2020). Agglutination Tests. Acedido a 5 de fevereiro de 2020 de <https://www.studyblue.com/#flashcard/view/7062229>
- Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. (2003). *Guia Técnica Para La Prevención Y Control De La Legionelosis En Instalaciones Objeto Del Âmbito De Aplicación Del Real Decreto 865/2003*
- Thermalindo Sarana Laboratoria. (2019). *Identifikasi Legionella hanya 1 jam dengan Legipid®*. Acedido a 23 de dezembro de 2019. Disponível em <http://thermalindo.com/identifikasi-legionella-hanya-1-jam-dengan-legipid/>
- Turgeon, M. L. (2013). *Immunology and Serology in Laboratory Medicine* (5ª ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Walraven, N., e Chapman, C. (2016). *The efficacy of various disinfection methods against Legionella pneumophila in water systems - A literature review*. Holland Water BV. Disponível em <https://hollandwater.com/wp-content/uploads/2016/10/10-comparion-Legionella-Disinfection-Techniques-22-09-2016.pdf>.

Wanger, A., Chavez, V., Huang, R. S. P., Wahed, A., Actor, J. K., e Dasgupta, A. (2017). *Antigen and Antibody Testing*. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology*, 221–232.

World Health Organization (2002). *Emerging issues in water and infectious disease*. WHO Library: França. Disponível em <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42751>

Capítulo 7 – Anexos

6.1. Anexo A – Tratamento das amostras para cultura em placa

A.1 Tratamento ácido

Preparação da solução ácida

Para preparar a solução ácida, misture 3,9 mL de uma solução 0,2 mol/L de ácido clorídrico (HCl) com 25 mL de uma solução 0,2 mol/L de cloreto de potássio (KCl). Ajuste a pH $2,2 \pm 0,2$ por adição de uma solução de hidróxido de potássio (KOH) 1 mol/L. Armazene num recipiente de vidro adequado, no escuro, à temperatura ambiente por não mais de 1 mês.

Aplicação do tratamento

Após filtração da água a analisar, transfira cerca de 30 mL da solução ácida para a membrana filtrante. Deixe atuar durante $5 \pm 0,5$ min e remova (por filtração) a solução ácida. Lave a membrana filtrante com, pelo menos, 20 mL de diluente de recuperação máxima. É importante que o diluente não entre em contacto com a superfície do funil que não esteve em contato com a solução ácida.

A.2 – Tratamento pelo calor

A amostra a tratar deve ter um volume reduzido de, no máximo, 5 mL e é colocada num banho a 50 ± 1 °C durante 30 ± 2 minutos.

É possível tratar grandes volumes de amostra. Neste caso, é necessário utilizar um duplicado da amostra, ou seja, um frasco com a mesma quantidade de amostra e as mesmas características. Neste frasco será colocada uma sonda e o tempo só começará a contar quando, dentro do duplicado, seja atingida a temperatura de 50 °C.

6.2. Anexo B – Esquemas dos diferentes procedimentos de cultura em placa

B.1 Amostras com alta concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes

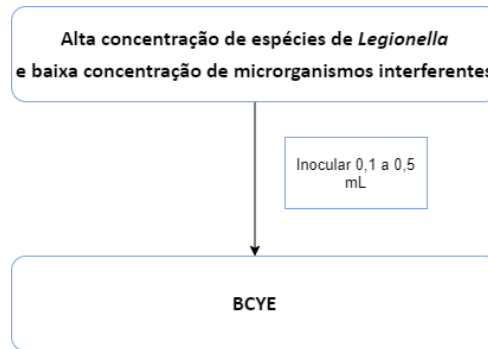


Figura B.27 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra com alta concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes adaptada, da Norma 11731:2017.

B.2 Amostras com baixa concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes

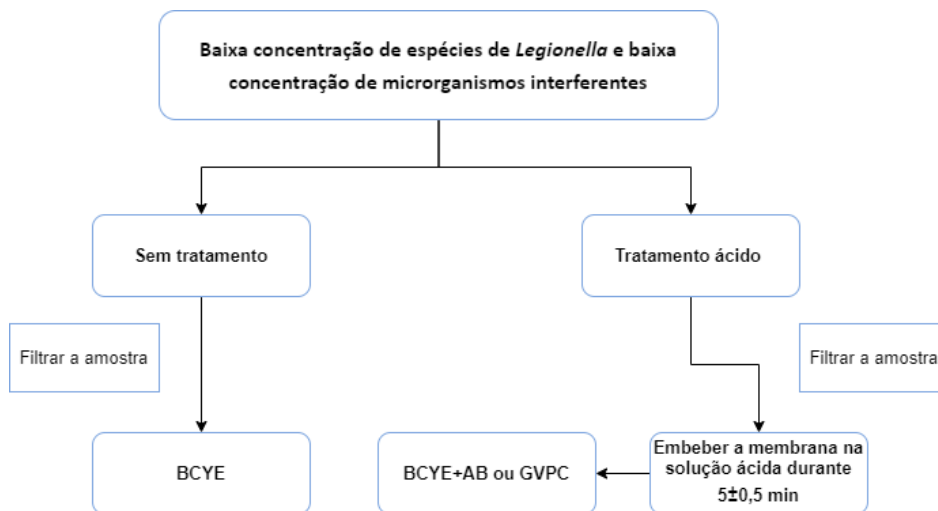


Figura B.28 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra com baixa concentração de espécies de *Legionella* e baixa concentração de microrganismos interferentes, adaptada da Norma 11731:2017.

B.3 Amostras com alta concentração de microrganismos interferentes

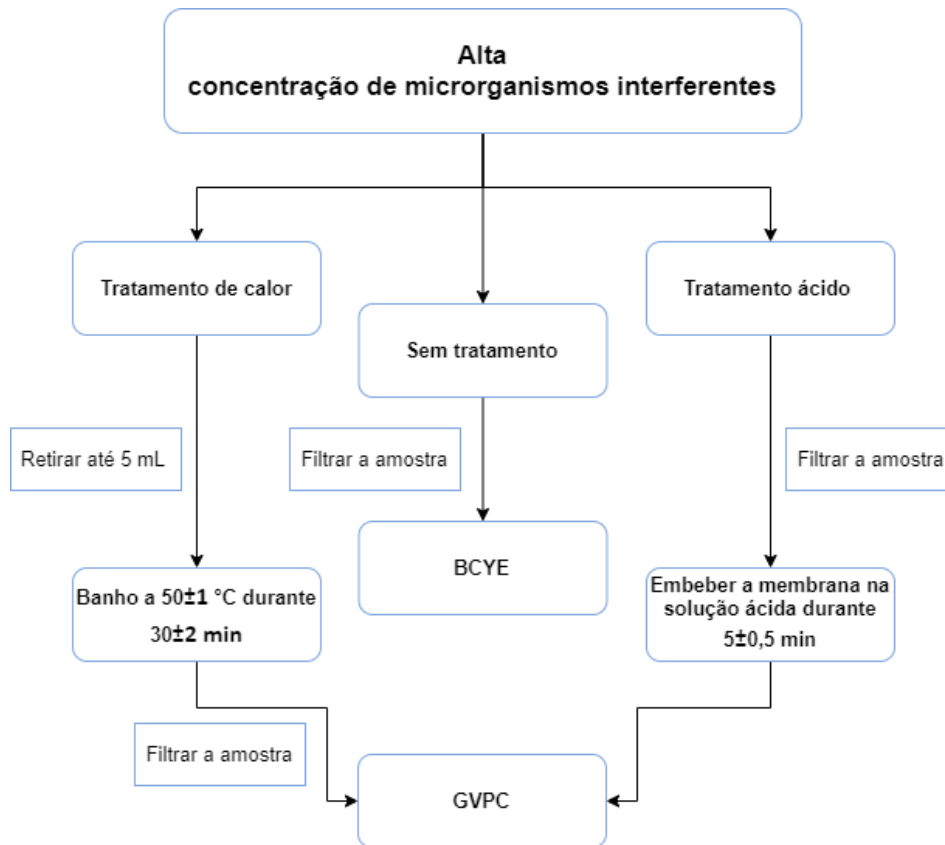


Figura B.29 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra com alta concentração de microrganismos interferentes, adaptada da Norma 11731:2017.

B.4 Amostras com uma concentração extremamente alta de microrganismos interferentes

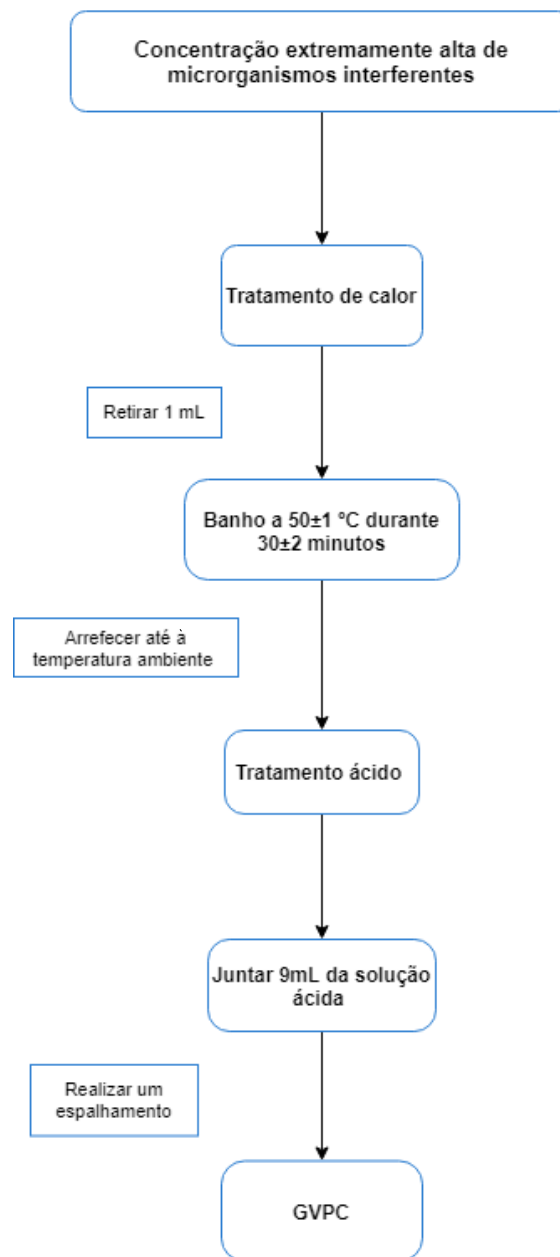


Figura B.30 - Representação esquemática do procedimento a seguir na filtração de uma amostra uma concentração extremamente alta de microrganismos interferentes, adaptada da Norma 11731:2017.

6.3. Anexo C – Tabelas para a avaliação do risco

C1 - Água Fria de Consumo Humano

Tabela C.9 – Tabela de avaliação de risco em água fria de consumo humano através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Depósitos de acumulação	Não existe.	Existe, com controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Controlar. Revisão do funcionamento dos equipamentos de tratamento.	Existe, sem controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Instalar sistemas de regulação automática e eliminar depósitos não necessários.
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.
Localização do depósito	Interior.	Exterior, mas protegido da luz solar.	Mudar localização para interior.	Exterior sem proteção.	Proteger ou mudar localização para interior.
Zonas onde a água pode ficar estagnada	Zona de permanência mínima (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente.	Zonas onde a água permanece estagnada e troços sem utilização (>5 m).	Purgar periodicamente e eliminar os troços não utilizados.
Frequência de renovação no depósito	Sem depósitos ou com renovação diária.	Renovação a cada 3 dias.	Reduzir o volume armazenado.	Renovação superior a 3 dias.	Diminuir o volume de armazenamento.

Tabela C.10 – Tabela de avaliação de risco em água fria de consumo humano através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Parâmetros FQ – Nível de Cloro residual livre	Pontos terminais >0,2 mg/L.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Sem depósito de acumulação.	Instalar depósitos com sistema automático de recloração, que assegure um tempo de contacto mínimo de 30 min.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Com depósito de acumulação.	Instalar cloração automática, com recirculação, caudal 20% do volume do depósito.
Contaminação microbiológica	Sem <i>Legionella</i> no controlo analítico.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção de choque.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção segundo o protocolo de surto.
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfeção de choque.
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.
Estado do sistema de tratamento (filtros, anti-incrustantes ou anti-corrosivos, sistemas de desinfeção)	Instalação dispõe de um sistema de tratamento adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispõe de um sistema de tratamento adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfeção.

Tabela C.11 – Tabela de avaliação de risco em água fria de consumo humano através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura média da água de abastecimento	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.
Temperatura média da água no sistema	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.
Frequência de utilização dos pontos terminais de consumo	Os pontos terminais de consumo são utilizados diariamente.	Os pontos terminais de consumo são utilizados no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	Os pontos terminais de consumo são utilizados com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.

Tabela C.12 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em água fria de consumo humano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Índice Estrutural		
	Baixo	Médio	Alto
Depósitos de acumulação	0	8	16
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	0	3	6
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	0	9	18
Pontos de emissão de aerossóis	0	7	14
Localização do depósito	0	6	12
Zonas onde a água pode ficar estagnada	0	11	22
Frequência de renovação no depósito	0	6	12

Tabela C.13 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em água fria de consumo humano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Índice de Manutenção		
	Baixo	Médio	Alto
Parâmetros FQ – Nível de Cloro residual livre	0	9	18
Contaminação microbiológica	0	12	24
Estado de higienização	0	12	24
Estado mecânico	0	8	16
Estado do sistema de tratamento (filtros, anti-incrustantes ou anti-corrosivos, sistemas de desinfecção)	0	9	18

Tabela C.14 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em água fria de consumo humano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Índice de Operação		
	Baixo	Médio	Alto
Temperatura média da água de abastecimento	0	10	20
Temperatura média da água no sistema	0	20	40
Frequência de utilização dos pontos terminais de consumo	0	20	40

C.2 - Água quente sanitária

Tabela C.15 – Tabela de avaliação de risco em água quente sanitária através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Depósitos de acumulação	Não existe.	Único depósito com relação altura/diâmetro >2 ou vários ligados em série.	Não aplicável. É um fator de <i>design</i> .	Único depósito com relação altura/diâmetro <2 ou vários ligados em paralelo.	Ligar os depósitos em série.
Acessibilidade aos depósitos	Não existe depósito, ou existem depósitos com acesso simples.	Depósito com acesso difícil ao interior.	Melhorar o acesso ou substituir os depósitos.	Depósitos sem acesso ao interior.	Disponibilizar acesso ou substituir os depósitos.
Existência de válvula de purga nos depósitos	Existe válvula de purga que permite esvaziar todo o conteúdo.	Existe válvula de purga que não permite esvaziar todo o conteúdo.	Instalar uma válvula no ponto mais baixo do depósito.	Não existe válvula de purga.	Instalar uma válvula no ponto mais baixo do depósito.
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.
Válvulas de drenagem do circuito hidráulico	Existe uma ou várias válvulas de drenagem no circuito que permitem esvaziar todo o seu conteúdo num curto período (max. 24 h).	Existe uma ou várias válvulas de drenagem no circuito mas que não permitem esvaziar todo o seu conteúdo, ou o seu dimensionamento impede o esvaziamento num curto período de tempo (max. 24 h).	Instalar uma ou várias válvulas que permitam o esvaziamento completo do circuito e dos seus sedimentos.	Não existe nenhuma válvula de esvaziamento do circuito.	Instalar uma ou várias válvulas que permitam o esvaziamento completo do circuito e dos seus sedimentos.
Zonas onde a água pode permanecer estagnada (incluindo trechos de reserva)	Zonas de estagnação ou mínimas (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente estas zonas, deixando correr a água alguns minutos.	Zonas onde a água permanece estagnada e trechos que não se utilizam (>5 m).	Purgar periodicamente estas zonas, deixando correr a água alguns minutos. Eliminar os trechos não utilizados.

Tabela C.16 – Tabela de avaliação de risco em água quente sanitária através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Controlo da temperatura no acumulador final	Temperatura média no acumulador >60 °C em todos os momentos.	Temperatura média no acumulador >60 °C quando o consumo é pequeno. Temperatura <60 °C em horas de elevado consumo.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	Temperatura no acumulador <60 °C.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.
Controlo da temperatura nos elementos terminais e no retorno (1 min após abertura do elemento terminal)	Temperatura >50 °C em todos os momentos.	Existem pontos em que a temperatura desce 50 °C em alturas de maior consumo.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	A temperatura de um ou vários elementos terminais, ou do retorno <50 °C.	Equilibrar o sistema hidráulicamente. Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.
Contaminação microbiológica	Sem presença de <i>Legionella</i> no controlo analítico.	<i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção de choque. Nova análise passado ≈15 dias.	<i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. ≥1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção segundo o protocolo de surto. Nova análise passado ≈15 dias.
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfeção de choque.
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.

Tabela C.17 – Tabela de avaliação de risco em água quente sanitária através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura de ajuste no sistema	≥60 °C no acumulador.	≥60 °C no acumulador, mas a temperatura desce em horas de elevado consumo.	Aumentar o ajuste no sistema.	Temperatura de ajuste <60 °C e o sistema não tem potencia para alcançar mais de 60 °C no acumulador.	Aumentar o ajuste ou aumentar a potência calorífica do sistema.
Frequência de utilização das instalações	As instalações são utilizadas diariamente.	As instalações são utilizadas no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	As instalações são utilizadas esporadicamente, com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.

Tabela C.18 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em sistemas de água quente sanitária (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Índice Estrutural		
	Baixo	Médio	Alto
Depósitos de acumulação	0	8	16
Acessibilidade aos depósitos	0	5	10
Existência de válvula de purga nos depósitos	0	6	12
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	0	4	8
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	0	8	16
Pontos de emissão de aerossóis	0	5	10
Válvulas de drenagem do circuito hidráulico	0	6	12
Zonas onde a água pode permanecer estagnada (incluindo trechos de reserva)	0	8	16

Tabela C.19 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em sistemas de água quente sanitária (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Índice de Manutenção		
	Baixo	Médio	Alto
Controlo da temperatura no acumulador final	0	11	22
Controlo da temperatura nos elementos terminais e no retorno (1 min após abertura do elemento terminal)	0	11	22
Contaminação microbiológica	0	12	24
Estado de higienização	0	8	16
Estado mecânico	0	8	16

Tabela C.20 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em sistemas de água quente sanitária (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Índice de Operação		
	Baixo	Médio	Alto
Temperatura de ajuste no sistema	0	30	60
Frequência de utilização das instalações	0	20	40

C.3 - Torres de refrigeração e condensadores evaporativos

Tabela C.21 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Proveniência da água	Água fria de consumo humano.	Captação própria tratada.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada. Proveniente de ETAR.	Controlar a contaminação microbiológica. Introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.
Água estagnada	Água com movimento constante em todas as tubagens e reservatórios, permitindo acesso do biocida a todos os pontos da instalação.	Elementos que mantêm ocasionalmente água estagnada (bombas de reserva, bypass, etc.).	Estabelecer programa de movimento periódica da água nos ditos elementos, garantindo o acesso do biocida a todos os pontos da instalação.	Existência de zonas mortas, depósitos e equipamentos fora de utilização, bypass, etc. sem justificação técnica.	Eliminar os ditos elementos.
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Aplicar separador de gotas.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Aplicar separador de gotas.
Pontos de emissão de aerossóis. Em redor da torre.	Instalação totalmente isolada dos elementos a proteger.	Existem elementos a proteger, embora longe do ponto de emissão, ou dispõem de barreiras de proteção.	Assegurar a distância de proteção.	Próximo dos elementos a proteger &tomadas de ar exterior, janelas, etc.).	Assegurar a distância de proteção.

Tabela C.22 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco estrutural (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Condições atmosféricas (vento, humidade relativa, temperatura ambiente)	O efeito das condições atmosféricas não é significativo. Foram tomadas medidas de mitigação (triagem, minimização de emissão, etc.).	Os ventos predominantes direcionam o aerossol para áreas de baixa ou média densidade populacional.	Quando possível, mudar a localização da torre para sotavento. Se for impossível, tomar medidas para proteger e/ou minimizar a emissão.	Existência de ventos dominantes que direcionam o aerossol para áreas de alta densidade populacional ou elementos a proteger.	Altere a localização da torre para sotavento. Se for impossível, tomar medidas de proteção e minimizar a emissão.
Localização da instalação	Em zona afastada de áreas habitadas: rurais, industriais, etc.	Zona urbana de baixa ou média densidade populacional.	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.	Zona urbana de elevada densidade populacional, com locais de risco particular: hospitais, lares de idosos, etc.	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.

Tabela C.23 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Parâmetros FQ	Cumprir com as especificações.	Não cumprir com algumas especificações.	Repetir o ensaio e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.	Não cumprir com as especificações.	Rever o programa de tratamento da água e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.
Contaminação microbiológica	Aeróbios totais <10.000 UFC/L e <i>Legionella</i> spp. < 100 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Aeróbios totais 10.000 – 100.000 UFC/L e <i>Legionella</i> spp. 100 – 1.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	Aeróbios totais >100.000 UFC/L e <i>Legionella</i> spp. > 1.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.
Presença de algas	Sem presença de algas.	Ligeira presença de algas.	Eliminar as algas. Aplicar algicidas. Proteger a água da radiação solar.	Elevada presença de algas.	Eliminar as algas. Aplicar algicidas. Proteger a água da radiação solar.
Estado higiénico da instalação	Sem lodo, biofilme, turvação, etc.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfecção preventiva.
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes, ou proteger.

Tabela C.24 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco de manutenção (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfeção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfeção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento e desinfeção, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfeção.

Tabela C.25 – Tabela de avaliação de risco em torres de refrigeração e condensadores evaporativos através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura da água	<20 °C >50 °C	20 – 35 °C 37 a 50 °C	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.	35-37 °C	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.
Frequência de funcionamento	A torre funciona em contínuo, realiza recirculação diária de água com biocida.	A torre permanece parada por períodos inferiores a um mês.	Colocar em funcionamento diário as bombas de recirculação junto com o sistema dosagem de biocida, para garantir a correta distribuição do biocida (recircular pelo menos 2 volumes de sistema).	A torre permanece parada por períodos superiores a um mês.	Limpar e desinfetar antes de reiniciar. Para baixar o nível de risco colocar em funcionamento as bombas de recirculação em conjunto com o sistema de dosagem biocida, para garantir a distribuição correta do biocida (recircular pelo menos 2 volumes do sistema).

Tabela C.26 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em torres de refrigeração e condensadores evaporativos (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Índice Estrutural		
	Baixo	Médio	Alto
Proveniência da água	0	8	16
Água estagnada	0	5	10
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	0	4	8
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	0	11	22
Pontos de emissão de aerossóis. Em redor da torre.	0	10	20
Condições atmosféricas (vento, humidade relativa, temperatura ambiente)	0	4	8
Localização da instalação	0	8	16

Tabela C.27 – Tabela de conversão numérica do índice do risco de manutenção em torres de refrigeração e condensadores evaporativos (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Índice de Manutenção		
	Baixo	Médio	Alto
Parâmetros FQ	0	8	16
Contaminação microbiológica	0	11	22
Presença de algas	0	5	10
Estado higiénico da instalação	0	11	22
Estado mecânico da instalação	0	7	14
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	0	8	16

Tabela C.28 – Tabela de conversão numérica do índice do risco de operação em torres de refrigeração e condensadores evaporativos (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Índice de Operação		
	Baixo	Médio	Alto
Temperatura da água	0	20	40
Frequência de funcionamento	0	30	60

C.4 - Rega por aspersão em meio urbano

Tabela C.29 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Proveniência da água	Rede de distribuição pública.	Captação própria tratada ou água reutilizada.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada.	Controlar a contaminação microbiológica. Introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação e à ação de biocidas.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais. Se necessário introduzir equipamentos de tratamento.
Tipo de aerossolização	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização
Pontos de emissão de aerossóis.	Instalação totalmente isolada dos elementos a proteger, ou zonas de circulação de pessoas.	Existem elementos a proteger, embora longe do ponto de emissão.	Instalar algum tipo de barreira de separação.	Próximo dos elementos a proteger (zonas de circulação de pessoas, tomadas de ar exterior, janelas, etc.).	Aumentar a distância. Instalar algum tipo de barreira de separação.

Tabela C.30 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco estrutural (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Condições atmosféricas (vento, humidade relativa, temperatura ambiente)	O efeito dos ventos não é significativo.	Os ventos predominantes direcionam o aerossol para áreas de baixa ou média densidade populacional.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta as condições atmosféricas.	Existência de ventos dominantes que direcionam o aerossol para áreas de alta densidade populacional ou elementos a proteger.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta as condições atmosféricas.
Localização da instalação	Em zona afastada de áreas habitadas.	Zona urbana de baixa ou média densidade populacional.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta a localização.	Zona urbana de elevada densidade populacional, com locais de risco particular: hospitais, lares de idosos, etc.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta a localização.

Tabela C.31 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Parâmetros FQ - Nível de biocida	O nível de biocida é controlado de forma automática ou com uma periodicidade mínima semanal.	É adicionado biocida, mas a sua concentração é controlada com periodicidade mínima mensal.	Aumentar a frequência de controlo do biocida.	Não é adicionado biocida ou este é controlado com uma periodicidade superior a um mês.	Adicionar biocida. Aumentar a frequência de controlo de biocida.
Contaminação microbiológica	Controlos analíticos: Aeróbios totais <100.000 UFC/L; ausência de <i>Legionella spp.</i> .	Controlos analíticos: Aeróbios totais ≥100.000 UFC/L; <i>Legionella spp.</i> <1.000 UFC/L.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	Controlos analíticos: Aeróbios totais ≥100.000 UFC/L, inclusive depois de realizar uma desinfeção preventiva; <i>Legionella spp.</i> ≥ 1.000 UFC/L.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.
Estado higiénico da instalação	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfeção preventiva.
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfeção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfeção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação não dispõe de um sistema de tratamento e desinfeção.	Instalar um sistema de tratamento e desinfeção.

Tabela C.32 – Tabela de avaliação de risco em sistemas de rega por aspersão em meio urbano através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura média da água de abastecimento	<20 °C	20 – 30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.
Temperatura média da água no sistema	<20 °C	20 – 30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens. Aumentar a frequência de consumo.	>30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens. Aumentar a frequência de consumo.
Frequência de utilização	O sistema é utilizado diariamente.	O sistema é utilizado pelo menos semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização.	O sistema é usado esporadicamente, com uma frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização.
Horário de funcionamento	Utilização preferencialmente noturna.	Utilização diurna em horas de baixa frequência de passagem de pessoas.	Programar a utilização para durante a noite.	Utilização sempre diurna em horas de passagem frequente de pessoas.	Programar a utilização para durante a noite.

Tabela C.33 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em sistemas de rega por aspersão em meio urbano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Índice Estrutural		
	Baixo	Médio	Alto
Proveniência da água	0	9	18
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	0	4	8
Tipo de aerossolização	0	13	26
Pontos de emissão de aerossóis.	0	10	20
Condições atmosféricas (vento, humidade relativa, temperatura ambiente)	0	5	10
Localização da instalação	0	9	18

Tabela C.34 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em sistemas de rega por aspersão em meio urbano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Índice de Manutenção		
	Baixo	Médio	Alto
Parâmetros FQ - Nível de biocida	0	9	18
Contaminação microbiológica	0	12	24
Estado higiénico da instalação	0	12	24
Estado mecânico da instalação	0	8	16
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	0	9	18

Tabela C.35 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em sistemas de rega por aspersão em meio urbano (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Índice de Operação		
	Baixo	Médio	Alto
Temperatura média da água de abastecimento	0	10	20
Temperatura média da água no sistema	0	10	20
Frequência de utilização	0	15	30
Horário de funcionamento	0	15	30

C.5 - Rede de incêndio

Tabela C.36 – Tabela de avaliação de risco em redes de incêndio através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Proveniência da água	Água de consumo humano.	Captação própria tratada.	Controlar. Revisão do funcionamento correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada. Proveniente de ETAR.	Controlar a contaminação microbiológica. Introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.
Água estagnada	A água desloca-se desde o depósito (tratada) até aos pontos finais mediante um sistema de recirculação de água, constante ou periódico, de forma que o biocida acede a todos os pontos da instalação.	O sistema mantém água estagnada. Não existe modo de recircular ou esvaziar a água da rede exceto pelos sprinklers.	Estabelecer programa de movimento periódico da água nos ditos elementos, garantindo o acesso do biocida a todos os pontos da instalação.	Existência de zonas mortas, depósitos e equipamentos fora de utilização, bypass, etc. sem justificação técnica.	Eliminar os ditos elementos.
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.
Tipo de aerossolização	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Não aplicável.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Não aplicável.
Conexão a outras redes	Instalação totalmente separada de outras redes.	Instalação ligada a outras redes, mas dispõe de válvula anti-retorno ou seccionador.	Separar fisicamente a instalação.	Instalação ligada a outras redes, mas sem nenhum tipo de válvula anti-retorno ou seccionador.	Separar fisicamente a instalação, instalar válvulas anti-retorno ou seccionador.

Tabela C.37 – Tabela de avaliação de risco em redes de incêndio através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Parâmetros FQ	Cumprir com as especificações.	Não cumprir com algumas especificações e o incumprimento é pontual.	Repetir o ensaio e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.	Não cumprir com as especificações.	Rever o programa de tratamento da água e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.
Contaminação microbiológica	<i>Legionella</i> spp. < 1.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	<i>Legionella</i> spp. 1.000 – 10.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	<i>Legionella</i> spp. > 10.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.
Estado higiénico da instalação	Sem lodo, biofilme, turvação, etc.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfecção preventiva.
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.
Estado do sistema de tratamento e desinfecção	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfecção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfecção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação não dispõe de um sistema de tratamento e desinfecção.	Instalar um sistema de tratamento e desinfecção.

Tabela C.38 – Tabela de avaliação de risco em redes de incêndio através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura da água do sistema	<15 °C	15°C – 25 °C	Estudar a causa do aquecimento da água e corrigi-la.	>25 °C	Estudar a causa do aquecimento da água e corrigi-la.
Frequência de pulverização	As provas hidráulicas realizam-se sempre com o edifício vazio e por pessoal especializado.	As provas hidráulicas realizam-se com o edifício ocupado, mas tomam-se medidas para evitar a exposição por estranhos.	Programar as provas com o edifício vazio.	As provas hidráulicas realizam-se com o edifício ocupado.	Programar as provas com o edifício vazio, ou tomar medidas para evitar a exposição por estranhos.

Tabela C.39 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em redes de incêndios (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Índice Estrutural		
	Baixo	Médio	Alto
Proveniência da água	0	6	12
Água estagnada	0	6	12
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	0	3	6
Tipo de aerossolização	0	10	20
Conexão a outras redes	0	25	50

Tabela C.40 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em redes de incêndios (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Índice de Manutenção		
	Baixo	Médio	Alto
Parâmetros FQ	0	8	16
Contaminação microbiológica	0	13	26
Estado higiénico da instalação	0	11	22
Estado mecânico da instalação	0	7	14
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	0	11	22

Tabela C.41 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em redes de incêndios (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Índice de Operação		
	Baixo	Médio	Alto
Temperatura da água do sistema	0	20	40
Frequência de pulverização	0	30	60

C.6 - Outras instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis

Tabela C.42 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco estrutural (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Proveniência da água	Água fria de consumo humano.	Captação própria tratada.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada.	Controlar a contaminação microbiológica. Caso necessário introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.
Água estagnada	A capacidade do reservatório/tubagens é menor que o gasto diário	A capacidade do reservatório/tubagens é maior que o gasto diário, mas menor que o semanal.	Reduza, se possível, a capacidade de armazenamento. Controle a contaminação microbiológica com a frequência indicada e, se necessário, introduza equipamentos de desinfecção.	A capacidade do reservatório/tubagens é maior que o gasto semanal.	Reduza, se possível, a capacidade de armazenamento. Controle a contaminação microbiológica com a frequência indicada e, se necessário, introduza equipamentos de desinfecção.
Recirculação de água	Não existe recirculação de água.	Existe recirculação de água. O volume total do circuito recircula num tempo menor ou igual a 4 horas.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Existe recirculação de água. O volume total do circuito recircula num tempo superior a 4 horas.	Se possível, aumente o fluxo de recirculação.
Tipo de aerossolização	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Aplicar separador de gotas.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Aplicar separador de gotas.

Tabela C.43 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco estrutural (continuação) (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.
Emissão de aerossol	A emissão de aerossóis é isolada de elementos a serem protegidos ou áreas de trânsito humano.	A emissão de aerossóis é encontrada próximo a elementos de proteção ou em áreas de trânsito humano.	Se possível, instale algum tipo de barreira de separação.	A emissão de aerossóis é encontrada em uma área com pontos de risco especial: hospitais, lares de idosos, etc.	Se possível, instale algum tipo de barreira de separação.

Tabela C.44 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco de manutenção (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003)..

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Contaminação microbiológica	Aeróbios totais <10.000 UFC/mL e <i>Legionella</i> spp. ausente	Aeróbios totais > 100.000 UFC/mL e <i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	<i>Legionella</i> spp. > 1.000 UFC/L	Segundo o critério estabelecido para os resultados.
Estado higiénico da instalação	Sem lodo, biofilme, turvação, etc.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfecção preventiva.
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes, ou proteger.
Estado do sistema de tratamento e desinfecção	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfecção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfecção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento e desinfecção, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfecção.

Tabela C.45 – Tabela de avaliação de risco em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis através da avaliação do risco de operação (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura da água estagnada	<20 °C	20 – 30 °C	Melhorar o isolamento das tubagens	>30 °C	Melhorar o isolamento das tubagens
Temperatura da água do sistema	< 20 °C ou ≥ 50 °C.	20 – 34 °C ou 38-49 °C.	Melhorar o isolamento das tubagens. Ajustar a temperatura do sistema	35-37 °C.	Melhorar o isolamento das tubagens. Ajustar a temperatura do sistema
Frequência de funcionamento	O sistema é usado diariamente	o sistema é usado pelo menos 1 vez por semana	Aumentar a frequência de uso	O sistema usa-se esporadicamente	Aumentar a frequência de uso
Horário de funcionamento	A instalação é utilizada quando a passagem de pessoas é praticamente nula.	A instalação é utilizada em horas de passagem pouco frequente de pessoas.	Se possível, use a instalação quando a passagem de pessoas for menor.	A instalação é utilizada quando a passagem de pessoas é muito frequente.	Se possível, use a instalação quando a passagem de pessoas for menor.

Tabela C.46 – Tabela de conversão numérica do índice de risco estrutural em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003)..

Fatores de risco Estrutural	Índice Estrutural		
	Baixo	Médio	Alto
Proveniência da água	0	9	18
Água estagnada	0	8	16
Recirculação de água	0	10	20
Tipo de aerossolização	0	11	22
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	0	4	8
Emissão de aerossol	0	8	16

Tabela C.47 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de manutenção em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Manutenção	Índice de Manutenção		
	Baixo	Médio	Alto
Contaminação microbiológica	0	15	30
Estado higiénico da instalação	0	15	30
Estado mecânico da instalação	0	9	18
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	0	11	22

Tabela C. 48 – Tabela de conversão numérica do índice de risco de operação em instalações que acumulam água e que podem produzir aerossóis (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral, 2003).

Fatores de risco de Operação	Índice de Operação		
	Baixo	Médio	Alto
Temperatura da água estagnada	0	10	20
Temperatura da água do sistema	0	10	20
Frequência de funcionamento	0	15	30
Horário de funcionamento	0	15	30

6.4 - Anexo D – Análise de Risco

D.1 – Análise de risco do Ponto A – Água fria para consumo humano

Tabela D.49 – Análise do risco estrutural do Ponto A.

Fatores de risco Estrutural	Baixo		Médio		Alto		Índice Estrutural			Índice Estrutural com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		
Depósitos de acumulação	Não existe.	Existe, com controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Controlar. Revisão do funcionamento dos equipamentos de tratamento.	Existe, sem controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Instalar sistemas de regulação automática e eliminar depósitos não necessários.	0	8	16	0	-	0
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	3	6	3	-	3
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.	0	9	18	0	-	0
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.	0	7	14	0	-	0
Localização do depósito	Interior.	Exterior, mas protegido da luz solar.	Mudar localização para interior.	Exterior sem proteção.	Proteger ou mudar localização para interior.	0	6	12	0	-	0
Zonas onde a água pode ficar estagnada	Zona de permanência mínima (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente.	Zonas onde a água permanece estagnada e troços sem utilização (>5 m).	Purgar periodicamente e eliminar os troços não utilizados.	0	11	22	0	-	0
Frequência de renovação no depósito	Sem depósitos ou com renovação diária.	Renovação a cada 3 dias.	Reduzir o volume armazenado.	Renovação superior a 3 dias.	Diminuir o volume de armazenamento.	0	6	12	0	-	0
						0	50	100	3		3

Tabela D.50 – Análise do risco de manutenção do Ponto A.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Manutenção com correção	Pontuação
Parâmetros FQ – Nível de Cloro residual livre	Pontos terminais >0,2 mg/L.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Sem depósito de acumulação.	Instalar depósitos com sistema automático de recloração, que assegure um tempo de contacto mínimo de 30 min.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Com depósito de acumulação.	Instalar cloração automática, com recirculação, caudal 20% do volume do depósito.	0	9	18	0	-	0
Contaminação microbiológica	Sem <i>Legionella</i> no controlo analítico.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfecção de choque.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. ≥1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfecção segundo o protocolo de surto.	0	12	24	12	Realização de mais 3 análises de forma a perceber se foi um evento isolado	0
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfecção de choque.	0	12	24	12	-	12
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	8	16	0	-	0
Estado do sistema de tratamento (filtros, anti-incrustantes ou anti-corrosivos, sistemas de desinfecção)	Instalação dispões de um sistema de tratamento adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfecção.	0	9	18	0	-	0
						0	50	100	24		12

Tabela D.51 – Análise do risco de operação do Ponto A.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto			
Temperatura média da água de abastecimento	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	10	20	0	~	0
Temperatura média da água no sistema	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	20	40	0	~	0
Frequência de utilização dos pontos terminais de consumo	Os pontos terminais de consumo são utilizados diariamente.	Os pontos terminais de consumo são utilizados no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	Os pontos terminais de consumo são utilizados com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	0	20	40	0	~	0
						0	50	100	0		0

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 3 + 0,6 \times 24 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 15,3$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 3 + 0,6 \times 12 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 8,1$$

D.2 – Análise de risco do Ponto B – Água fria de consumo humano

Tabela D.52 – Análise do risco estrutural do Ponto B.

Fatores de risco Estrutural	Baixo		Médio		Alto		Índice Estrutural			Pontuação	Índice Estrutural com correção	
	Fator	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		correção	Pontuação
Depósitos de acumulação	Não existe.	Existe, com controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Controlar. Revisão do funcionamento dos equipamentos de tratamento.	Existe, sem controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Instalar sistemas de regulação automática e eliminar depósitos não necessários.	0	8	16	0	-	0	
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	3	6	3	-	3	
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.	0	9	18	0	-	0	
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.	0	7	14	0	-	0	
Localização do depósito	Interior.	Exterior, mas protegido da luz solar.	Mudar localização para interior.	Exterior sem proteção.	Proteger ou mudar localização para interior.	0	6	12	0	-	0	
Zonas onde a água pode ficar estagnada	Zona de permanência mínima (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente.	Zonas onde a água permanece estagnada e troços sem utilização (>5 m).	Purgar periodicamente e eliminar os troços não utilizados.	0	11	22	0	-	0	
Frequência de renovação no depósito	Sem depósitos ou com renovação diária.	Renovação a cada 3 dias.	Reduzir o volume armazenado.	Renovação superior a 3 dias.	Diminuir o volume de armazenamento.	0	6	12	0	-	0	
						0	50	100	3	3		

Tabela D.53 – Análise do risco de manutenção do Ponto B.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Índice de Manutenção com correção	Pontuação
Parâmetros FQ – Nível de Cloro residual livre	Pontos terminais >0,2 mg/L.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Sem depósito de acumulação.	Instalar depósitos com sistema automático de recloração, que assegure um tempo de contacto mínimo de 30 min.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Com depósito de acumulação.	Instalar cloração automática, com recirculação, caudal 20% do volume do depósito.	0	9	18	0	-	0
Contaminação microbiológica	Sem <i>Legionella</i> no controlo analítico.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção de choque.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. ≥1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção segundo o protocolo de surto.	0	12	24	0	-	0
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfeção de choque.	0	12	24	12	Limpeza da instalação	0
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	8	16	0	-	0
Estado do sistema de tratamento (filtros, anti-incrustantes ou anti-corrosivos, sistemas de desinfeção)	Instalação dispões de um sistema de tratamento adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfeção.	0	9	18	0	-	0
						0	50	100	12	0	

Tabela D.54 – Análise do risco de operação do Ponto B.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Operação com correção	Pontuação
Temperatura média da água de abastecimento	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	10	20	10	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0
Temperatura média da água no sistema	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	20	40	10	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0
Frequência de utilização dos pontos terminais de consumo	Os pontos terminais de consumo são utilizados diariamente.	Os pontos terminais de consumo são utilizados no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	Os pontos terminais de consumo são utilizados com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	0	20	40	0	-	0
						0	50	100	20		0

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 3 + 0,6 \times 12 + 0,1 \times 20 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 10,1$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 3 + 0,6 \times 0 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,9$$

D.3 – Análise de risco do Ponto C – Água fria de consumo humano

Tabela D.55 – Análise do risco estrutural do Ponto C.

Fatores de risco Estrutural	Baixo		Médio		Alto		Índice Estrutural			Índice Estrutural com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	Pontuação		
Depósitos de acumulação	Não existe.	Existe, com controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Controlar. Revisão do funcionamento dos equipamentos de tratamento.	Existe, sem controlo e regulação do nível de desinfetante residual.	Instalar sistemas de regulação automática e eliminar depósitos não necessários.	0	8	16	0	-	0
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	3	6	3	-	3
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.	0	9	18	0	-	0
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.	0	7	14	0	-	0
Localização do depósito	Interior.	Exterior, mas protegido da luz solar.	Mudar localização para interior.	Exterior sem proteção.	Proteger ou mudar localização para interior.	0	6	12	0	-	0
Zonas onde a água pode ficar estagnada	Zona de permanência mínima (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente.	Zonas onde a água permanece estagnada e troços sem utilização (>5 m).	Purgar periodicamente e eliminar os troços não utilizados.	0	11	22	0	-	0
Frequência de renovação no depósito	Sem depósitos ou com renovação diária.	Renovação a cada 3 dias.	Reduzir o volume armazenado.	Renovação superior a 3 dias.	Diminuir o volume de armazenamento.	0	6	12	0	-	0
						0	50	100	3		3

Tabela D.56 – Análise de risco de manutenção do ponto C.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto			
Parâmetros FQ – Nível de Cloro residual livre	Pontos terminais >0,2 mg/L.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Sem depósito de acumulação.	Instalar depósitos com sistema automático de recloração, que assegure um tempo de contacto mínimo de 30 min.	Pontos terminais <0,2 mg/L. Com depósito de acumulação.	Instalar cloração automática, com recirculação, caudal 20% do volume do depósito.	0	9	18	0	-	0
Contaminação microbiológica	Sem <i>Legionella</i> no controlo analítico.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção de choque.	Com <i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. ≥1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção segundo o protocolo de surto.	0	12	24	0	~	0
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfeção de choque.	0	12	24	12	Limpeza caso possível	0
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	8	16	0	-	0
Estado do sistema de tratamento (filtros, anti-incrustantes ou anti-corrosivos, sistemas de desinfeção)	Instalação dispões de um sistema de tratamento adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfeção.	0	9	18	0	-	0
						0	50	100	12		0

Tabela D.57 – Análise de risco de operação no Ponto C.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção		Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		-	-	
Temperatura média da água de abastecimento	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	10	20	0	-	0	
Temperatura média da água no sistema	<20 °C.	20-25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>25 °C.	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	20	40	0	-	0	
Frequência de utilização dos pontos terminais de consumo	Os pontos terminais de consumo são utilizados diariamente.	Os pontos terminais de consumo são utilizados no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	Os pontos terminais de consumo são utilizados com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	0	20	40	0	-	0	
						0	50	100	0		0	

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 3 + 0,6 \times 12 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 8,1$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 3 + 0,6 \times 0 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,9$$

D.4 – Análise de risco do Ponto D – Água quente sanitária

Tabela D.58 – Análise de risco estrutural no Ponto D.

Fatores de risco Estrutural	BAIXO		MÉDIO		ALTO		Índice Estrutural			Índice Estrutural com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	Pontuação		
Depósitos de acumulação	Não existe.	Único depósito com relação altura/diâmetro > 2 ou vários ligados em série.	Não aplicável. É um fator de design.	Único depósito com relação altura/diâmetro < 2 ou vários ligados em paralelo.	Ligar os depósitos em série.	0	8	16	8	-	8
Acessibilidade aos depósitos	Não existe depósito, ou existem depósitos com acesso simples.	Depósito com acesso difícil ao interior.	Melhorar o acesso ou substituir os depósitos.	Depósitos sem acesso ao interior.	Disponibilizar acesso ou substituir os depósitos.	0	5	10	5	-	5
Existência de válvula de purga nos depósitos	Existe válvula de purga que permite esvaziar todo o conteúdo.	Existe válvula de purga que não permite esvaziar todo o conteúdo.	Instalar uma válvula no ponto mais baixo do depósito.	Não existe válvula de purga.	Instalar uma válvula no ponto mais baixo do depósito.	0	6	12	6	-	6
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	4	8	0	-	0
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.	0	8	16	16	-	16
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.	0	5	10	5	-	5
Válvulas de drenagem do circuito hidráulico	Existe uma ou várias válvulas de drenagem no circuito que permitem esvaziar todo o seu conteúdo num curto período (max. 24 h).	Existe uma ou várias válvulas de drenagem no circuito, mas que não permitem esvaziar todo o seu conteúdo, ou o seu dimensionamento impede o esvaziamento num curto período de tempo (max. 24 h).	Instalar uma ou várias válvulas que permitam o esvaziamento completo do circuito e dos seus sedimentos.	Não existe nenhuma válvula de esvaziamento do circuito.	Instalar uma ou várias válvulas que permitam o esvaziamento completo do circuito e dos seus sedimentos.	0	6	12	12	-	12

Tabela D.59 – Análise de risco estrutural no Ponto D (continuação).

Fatores de risco Estrutural	BAIXO		MÉDIO		ALTO		Índice Estrutural				Índice Estrutural com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	Pontuação	Índice Estrutural com correção	Pontuação	
Zonas onde a água pode permanecer estagnada (incluindo trechos de reserva)	Zonas de estagnação ou mínimas (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente estas zonas, deixando correr a água alguns minutos.	Zonas onde a água permanece estagnada e trechos que não se utilizam (>5 m).	Purgar periodicamente estas zonas, deixando correr a água alguns minutos. Eliminar os trechos não utilizados.	0	8	16	8	-	8	
						0	50	100	60		60	

Tabela D.60 – Análise do risco de manutenção para o ponto D.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Índice de Manutenção com correção	Pontuação
Controlo da temperatura no acumulador final	Temperatura média no acumulador >60 °C em todos os momentos.	Temperatura média no acumulador >60 °C quando o consumo é pequeno. Temperatura <60 °C em horas de elevado consumo.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	Temperatura no acumulador <60 °C	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	0	11	22	11	Aumento da temperatura no cilindro	0
Controlo da temperatura nos elementos terminais e no retorno (1 min após abertura do elemento terminal)	Temperatura >50 °C em todos os momentos.	Existem pontos em que a temperatura desce 50 °C em alturas de maior consumo.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	A temperatura de um ou vários elementos terminais, ou do retorno <50 °C.	Equilibrar o sistema hidráulicamente. Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	0	11	22	0	-	0
Contaminação microbiológica	Sem presença de <i>Legionella</i> no controlo analítico.	<i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfecção de choque. Nova análise passado ≈15 dias.	<i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. ≥1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfecção segundo o protocolo de surto. Nova análise passado ≈15 dias.	0	12	24	12	Desinfecção do chuveiro	0
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfecção de choque.	0	8	16	8	Descargas periódicas para evitar a acumulação de biofilmes	0
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	8	16	8	Substituição do chuveiro	0
						0	50	100	39	0	

Tabela D.61 – Análise do risco de operação para o ponto D.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Índice de Operação com correção	Pontuação
Temperatura de ajuste no sistema	≥60°C no acumulador.	≥60 °C no acumulador, mas a temperatura desce em horas de elevado consumo.	Aumentar o ajuste no sistema.	Temperatura de ajuste <60 °C e o sistema não tem potencia para alcançar mais de 60 °C no acumulador.	Aumentar o ajuste ou aumentar a potência calorífica do sistema.	0	30	60	0	-	0
Frequência de utilização das instalações	As instalações são utilizadas diariamente.	As instalações são utilizadas no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	As instalações são utilizadas esporadicamente, com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	0	20	40	40	Fazer descargas semanais	20
						0	50	100	40		20

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 60 + 0,6 \times 39 + 0,1 \times 40 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 45,4$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 60 + 0,6 \times 0 + 0,1 \times 20 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 20,0$$

D.5 – Análise de risco do Ponto E – Água quente sanitária

Tabela D.62 – Análise de risco estrutural no Ponto E.

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto		Índice Estrutural			Pontuação	Índice Estrutural com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Baixo	Pontuação
Depósitos de acumulação	Não existe.	Único depósito com relação altura/diâmetro >2 ou vários ligados em série.	Não aplicável. É um fator de <i>design</i> .	Único depósito com relação altura/diâmetro <2 ou vários ligados em paralelo.	Ligar os depósitos em série.	0	8	16	8	-	8
Acessibilidade aos depósitos	Não existe depósito, ou existem depósitos com acesso simples.	Depósito com acesso difícil ao interior.	Melhorar o acesso ou substituir os depósitos.	Depósitos sem acesso ao interior.	Disponibilizar acesso ou substituir os depósitos.	0	5	10	5	-	5
Existência de válvula de purga nos depósitos	Existe válvula de purga que permite esvaziar todo o conteúdo.	Existe válvula de purga que não permite esvaziar todo o conteúdo.	Instalar uma válvula no ponto mais baixo do depósito.	Não existe válvula de purga.	Instalar uma válvula no ponto mais baixo do depósito.	0	6	12	6	-	6
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Metálicos e plásticos resistentes à agressividade da água e biocidas.	Betão, metais e plástico não resistente às características da água.	Substituição dos materiais ou proteção. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	4	8	0	-	0
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização.	0	8	16	16	-	16
Pontos de emissão de aerossóis	Pontos individuais isolados (<5 pontos).	Vários pontos de emissão (5-25 pontos).	Controlar e rever.	Grande n.º de pontos de emissão (>25 pontos).	Controlar e rever.	0	5	10	5	-	5

Tabela D.63 – Análise de risco estrutural no Ponto E. (continuação)

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto		Índice Estrutural			Índice Estrutural com correção	Pontuação	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto			Pontuação
Válvulas de drenagem do circuito hidráulico	Existe uma ou várias válvulas de drenagem no circuito que permitem esvaziar todo o seu conteúdo num curto período de tempo (max. 24 h).	Existe uma ou várias válvulas de drenagem no circuito mas que não permitem esvaziar todo o seu conteúdo, ou o seu dimensionamento impede o esvaziamento num curto período de tempo (max. 24 h).	Instalar uma ou várias válvulas que permitam o esvaziamento completo do circuito e dos seus sedimentos.	Não existe nenhuma válvula de esvaziamento do circuito.	Instalar uma ou várias válvulas que permitam o esvaziamento completo do circuito e dos seus sedimentos.	0	6	12	12	-	12
Zonas onde a água pode permanecer estagnada (incluindo trechos de reserva)	Zonas de estagnação ou mínimas (<1 m de tubo).	Zonas onde a água permanece estagnada (1-5 m).	Purgar periodicamente estas zonas, deixando correr a água alguns minutos.	Zonas onde a água permanece estagnada e trechos que não se utilizam (>5 m).	Purgar periodicamente estas zonas, deixando correr a água alguns minutos. Eliminar os trechos não utilizados.	0	8	16	8	-	8
						0	50	100	60		60

Tabela D.64 – Análise do risco de manutenção para o ponto E.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Baixo	Pontuação
Controlo da temperatura no acumulador final	Temperatura média no acumulador >60 °C em todos os momentos.	Temperatura média no acumulador >60 °C quando o consumo é pequeno. Temperatura <60°C em horas de elevado consumo.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	Temperatura no acumulador <60 °C.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	0	11	22	0	Aumento da temperatura no cilindro	0
Controlo da temperatura nos elementos terminais e no retorno (1 min após abertura do elemento terminal)	Temperatura >50 °C em todos os momentos.	Existem pontos em que a temperatura desce 50 °C em alturas de maior consumo.	Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	A temperatura de um ou vários elementos terminais, ou do retorno <50 °C.	Equilibrar o sistema hidráulicamente. Aumentar o isolamento da instalação e/ou potência calorífica do sistema.	0	11	22	0	-	0
Contaminação microbiológica	Sem presença de <i>Legionella</i> no controlo analítico.	<i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção de choque. Nova análise passado ≈15 dias.	<i>Legionella</i> no controlo analítico. (<i>Legionella</i> spp. ≥1.000 UFC/L).	Limpeza e desinfeção segundo o protocolo de surto. Nova análise passado ≈15 dias.	0	12	24	0	-	0
Estado de higienização	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada.	Limpeza e desinfeção de choque.	0	8	16	8	Limpeza dos equipamentos	0
Estado mecânico	Bom estado de conservação. Não se deteta corrosão ou incrustação.	Alguns elementos apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação, corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir ou tratar os elementos com corrosão e/ou incrustação. Verificar o sistema de tratamento. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	8	16	8	Substituição do chuveiro	0
						0	50	100	16		

Tabela D.65 – Análise do risco de operação para o ponto E.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção		Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		com correção	Pontuação	
Temperatura de ajuste no sistema	≥60 °C no acumulador.	≥60 °C no acumulador, mas a temperatura desce em horas de elevado consumo.	Aumentar o ajuste no sistema.	Temperatura de ajuste <60 °C e o sistema não tem potencia para alcançar mais de 60 °C no acumulador.	Aumentar o ajuste ou aumentar a potência calorífica do sistema.	0	30	60	0	-	0	
Frequência de utilização das instalações	As instalações são utilizadas diariamente.	As instalações são utilizadas no mínimo semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	As instalações são utilizadas esporadicamente, com frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização. Deixar correr a água periodicamente durante alguns minutos.	0	20	40	0	Fazer descargas semanais	0	
						0	50	100	0		0	

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 60 + 0,6 \times 16 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 26,6$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 60 + 0,6 \times 0 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 18,0$$

D.6 – Análise de risco do Ponto F – Sistema AVAC

Tabela D.66 – Análise de risco estrutural no Ponto F.

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto		Índice Estrutural			Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	
Proveniência da água	Água fria de consumo humano.	Captação própria tratada.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada. Proveniente de ETAR.	Controlar a contaminação microbiológica. Introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.	0	8	16	0
Água estagnada	Água com movimento constante em todas as tubagens e reservatórios, permitindo acesso do biocida a todos os pontos da instalação.	Elementos que mantêm ocasionalmente água estagnada (bombas de reserva, bypass, etc.).	Estabelecer programa de movimento periódica da água nos ditos elementos, garantindo o acesso do biocida a todos os pontos da instalação.	Existência de zonas mortas, depósitos e equipamentos fora de utilização, bypass, etc. sem justificação técnica.	Eliminar os ditos elementos.	0	5	10	0
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	4	8	0
Tipo de aerossolização (duches, outros sistemas)	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Aplicar separador de gotas.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Aplicar separador de gotas.	0	11	22	0
Pontos de emissão de aerossóis. Em redor da torre.	Instalação totalmente isolada dos elementos a proteger.	Existem elementos a proteger, embora longe do ponto de emissão, ou dispõem de barreiras de proteção.	Assegurar a distância de proteção.	Próximo dos elementos a proteger (tomadas de ar exterior, janelas, etc.).	Assegurar a distância de proteção.	0	10	20	0
Condições atmosféricas (vento, humidade relativa, temperatura ambiente)	O efeito das condições atmosféricas não é significativo. Foram tomadas medidas de mitigação (triagem, minimização de emissão, etc.).	Os ventos predominantes direcionam o aerossol para áreas de baixa ou média densidade populacional.	Quando possível, mudar a localização da torre para sotavento. Se for impossível, tomar medidas para proteger e/ou minimizar a emissão.	Existência de ventos dominantes que direcionam o aerossol para áreas de alta densidade populacional ou elementos a proteger.	Altere a localização da torre para sotavento. Se for impossível, tomar medidas de proteção e minimizar a emissão.	0	4	8	4
						0	50	100	12

Tabela D.67 – Análise de risco estrutural no Ponto F (continuação).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Localização da instalação	Em zona afastada de áreas habitadas: rurais, industriais, etc.	Zona urbana de baixa ou média densidade populacional.	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.	Zona urbana de elevada densidade populacional, com locais de risco particular: hospitais, lares de idosos, etc.	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.

Índice Estrutural			Pontuação
Baixo	Médio	Alto	
0	8	16	8
0	50	100	12

Tabela D.68 – Análise do risco de manutenção para o ponto F

Fatores de risco de Manutenção	BAIXO	MÉDIO		ALTO		Índice de Manutenção			Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	
Parâmetros FQ	Cumprir com as especificações.	Não cumprir com algumas especificações.	Repetir o ensaio e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.	Não cumprir com as especificações.	Rever o programa de tratamento da água e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.	0	8	16	0
Contaminação microbiológica	Aeróbios totais <10.000 UFC/L e <i>Legionella</i> spp. < 100 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Aeróbios totais 10.000 – 100.000 UFC/L e <i>Legionella</i> spp. 100 – 1.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	Aeróbios totais >100.000 UFC/L e <i>Legionella</i> spp. > 1.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	0	11	22	0
Presença de algas	Sem presença de algas.	Ligeira presença de algas.	Eliminar as algas. Aplicar algicidas. Proteger a água da radiação solar.	Elevada presença de algas.	Eliminar as algas. Aplicar algicidas. Proteger a água da radiação solar.	0	5	10	0
Estado higiénico da instalação	Sem lodo, biofilme, turvação, etc.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfecção preventiva.	0	11	22	0
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes, ou proteger.	0	7	14	0
Estado do sistema de tratamento e desinfecção	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfecção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfecção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento e desinfecção, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfecção.	0	8	16	0
						0	50	100	0

Tabela D.69 – Análise do risco de operação para o ponto F.

Fatores de risco de Operação						Índice de Operação			Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	
Temperatura da água	<20 °C >50 °C	20 – 35 °C 37 a 50 °C	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.	35-37 °C	Não se aplica. O seu impacto será mitigado com medidas adicionais de prevenção.	0	20	40	0
Frequência de funcionamento	A torre funciona em contínuo, realiza recirculação diária de água com biocida.	A torre permanece parada por períodos inferiores a um mês.	Colocar em funcionamento diário as bombas de recirculação junto com o sistema dosagem de biocida, para garantir a correta distribuição do biocida (recircular pelo menos 2 volumes de sistema).	A torre permanece parada por períodos superiores a um mês.	Limpar e desinfetar antes de reiniciar. Para baixar o nível de risco colocar em funcionamento as bombas de recirculação em conjunto com o sistema de dosagem biocida, para garantir a distribuição correta do biocida (recircular pelo menos 2 volumes do sistema).	0	30	60	0
						0	50	100	0

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 12 + 0,6 \times 0 + 0,1 \times 0 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 3,6$$

D.7 – Análise de risco do Ponto G – Sistema de Rega

Tabela D.70 – Análise de risco estrutural no Ponto G.

Fatores de risco Estrutural	Baixo		Médio		Alto		Índice Estrutural			Pontuação	Índice Estrutural com correção		Pontuação
	Fator	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		-		
Proveniência da água	Rede de distribuição pública.	Captação própria tratada ou água reutilizada.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada.	Controlar a contaminação microbiológica. Introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.	0	9	18	18	-	18		
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação e à ação de biocidas.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais. Se necessário introduzir equipamentos de tratamento.	0	4	8	0	-	0		
Tipo de aerossolização	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Substituir o sistema de aerossolização.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Substituir o sistema de aerossolização	0	13	26	26	-	26		
Pontos de emissão de aerossóis.	Instalação totalmente isolada dos elementos a proteger, ou zonas de circulação de pessoas.	Existem elementos a proteger, embora longe do ponto de emissão.	Instalar algum tipo de barreira de separação.	Próximo dos elementos a proteger (zonas de circulação de pessoas, tomadas de ar exterior, janelas, etc.).	Aumentar a distância. Instalar algum tipo de barreira de separação.	0	10	20	10	-	10		
Condições atmosféricas (vento, humidade relativa, temperatura ambiente)	O efeito dos ventos não é significativo.	Os ventos predominantes direcionam o aerossol para áreas de baixa ou média densidade populacional.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta as condições atmosféricas.	Existência de ventos dominantes que direcionam o aerossol para áreas de alta densidade populacional ou elementos a proteger.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta as condições atmosféricas.	0	5	10	5	-	5		
						0	50	100	59		59		

Tabela D.71 – Análise de risco estrutural no Ponto G (continuação).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Localização da instalação	Em zona afastada de áreas habitadas.	Zona urbana de baixa ou média densidade populacional.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta a localização.	Zona urbana de elevada densidade populacional, com locais de risco particular: hospitais, lares de idosos, etc.	Se aplicável no projeto e/ou renovação, ter em conta a localização.

Índice Estrutural			Pontuação
Baixo	Médio	Alto	
0	9	18	0
0	50	100	59

Índice Estrutural com correção	Pontuação
-	0
	59

Tabela D.72 – Análise do risco de manutenção para o ponto G.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo		Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	Baixo		Pontuação	
Parâmetros FQ - Nível de biocida	O nível de biocida é controlado de forma automática ou com uma periodicidade mínima semanal.	É adicionado biocida, mas a sua concentração é controlada com periodicidade mínima mensal.	Aumentar a frequência de controlo do biocida.	Não é adicionado biocida ou este é controlado com uma periodicidade superior a um mês.	Adicionar biocida. Aumentar a frequência de controlo de biocida.	0	9	18	0	-	0	
Contaminação microbiológica	Controlos analíticos: Aeróbios totais <100.000 UFC/L; ausência de <i>Legionella</i> spp.	Controlos analíticos: Aeróbios totais ≥100.000 UFC/L; <i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	Controlos analíticos: Aeróbios totais ≥100.000 UFC/L, inclusive depois de realizar uma desinfecção preventiva; <i>Legionella</i> spp. ≥ 1.000 UFC/L.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	0	12	24	0	-	0	
Estado higiénico da instalação	Limpa e sem biofilme.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfecção preventiva.	0	12	24	0	-	0	
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	8	16	0	-	0	
Estado do sistema de tratamento e desinfecção	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfecção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfecção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação não dispõe de um sistema de tratamento e desinfecção.	Instalar um sistema de tratamento e desinfecção.	0	9	18	18	-	18	
						0	50	100	18	18		

Tabela D.73 – Análise do risco de operação para o ponto G.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto			
Temperatura média da água de abastecimento	<20 °C	20 – 30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	>30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens.	0	10	20	10	-	10
Temperatura média da água no sistema	<20 °C	20 – 30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens. Aumentar a frequência de consumo.	>30 °C	Melhorar as medidas de isolamento das tubagens. Aumentar a frequência de consumo.	0	10	20	0	-	0
Frequência de utilização	O sistema é utilizado diariamente.	O sistema é utilizado pelo menos semanalmente.	Aumentar a frequência de utilização.	O sistema é usado esporadicamente, com uma frequência superior a uma semana.	Aumentar a frequência de utilização.	0	15	30	0	-	0
Horário de funcionamento	Utilização preferencialmente noturna.	Utilização diurna em horas de baixa frequência de passagem de pessoas.	Programar a utilização para durante a noite.	Utilização sempre diurna em horas de passagem frequente de pessoas.	Programar a utilização para durante a noite.	0	15	30	15	Rega noturna	0
						0	50	100	25		10

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 59 + 0,6 \times 18 + 0,1 \times 25 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 31,0$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 59 + 0,6 \times 18 + 0,1 \times 10 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 28,5$$

D.8 – Análise de risco do Ponto H – Sistema de incêndio

Tabela D.74 – Análise de risco estrutural no Ponto H.

Fatores de risco Estrutural	Baixo		Médio		Alto		Índice Estrutural			Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		
Proveniência da água	Água de consumo humano.	Captação própria tratada.	Controlar. Revisão do funcionamento correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada. Proveniente de ETAR.	Controlar a contaminação microbiológica. Introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.	0	6	12	0	
Água estagnada	A água desloca-se desde o depósito (tratada) até aos pontos finais mediante um sistema de recirculação de água, constante ou periódico, de forma que o biocida acede a todos os pontos da instalação.	O sistema mantém água estagnada. Não existe modo de recircular ou esvaziar a água da rede exceto pelos sprinklers.	Estabelecer programa de movimento periódico da água nos ditos elementos, garantindo o acesso do biocida a todos os pontos da instalação.	Existência de zonas mortas, depósitos e equipamentos fora de utilização, bypass, etc. sem justificação técnica.	Eliminar os ditos elementos.	0	6	12	6	
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Substituição dos materiais.	0	3	6	0	
Tipo de aerossolização	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Não aplicável.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Não aplicável.	0	10	20	10	
Conexão a outras redes	Instalação totalmente separada de outras redes.	Instalação ligada a outras redes, mas dispõe de válvula anti-retorno ou seccionador.	Separar fisicamente a instalação.	Instalação ligada a outras redes, mas sem nenhum tipo de válvula anti-retorno ou seccionador.	Separar fisicamente a instalação, instalar válvulas anti-retorno ou seccionador.	0	25	50	25	
						0	50	100	41	

Tabela D.75 – Análise do risco de manutenção para o ponto H.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	
Parâmetros FQ	Cumprir com as especificações.	Não cumprir com algumas especificações e o incumprimento é pontual.	Repetir o ensaio e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.	Não cumprir com as especificações.	Rever o programa de tratamento da água e adotar medidas corretivas específicas para cada parâmetro.	0	8	16	0
Contaminação microbiológica	<i>Legionella</i> spp. < 1.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	<i>Legionella</i> spp. 1.000 – 10.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	<i>Legionella</i> spp. > 10.000 UFC/L, em todos os controlos analíticos.	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	0	13	26	0
Estado higiénico da instalação	Sem lodo, biofilme, turvação, etc.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfeção preventiva.	0	11	22	11
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes.	0	7	14	0
Estado do sistema de tratamento e desinfeção	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfeção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispõe de um sistema de tratamento e desinfeção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação não dispõe de um sistema de tratamento e desinfeção.	Instalar um sistema de tratamento e desinfeção.	0	11	22	22
						0	50	100	33

Tabela D.76 – Análise do risco de operação para o ponto H.

Fatores de risco de Operação					
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Temperatura da água do sistema	<15 °C	15°C – 25 °C	Estudar a causa do aquecimento da água e corrigi-la.	>25 °C	Estudar a causa do aquecimento da água e corrigi-la.
Frequência de pulverização	As provas hidráulicas realizam-se sempre com o edifício vazio e por pessoal especializado.	As provas hidráulicas realizam-se com o edifício ocupado, mas tomam-se medidas para evitar a exposição por estranhos.	Programar as provas com o edifício vazio.	As provas hidráulicas realizam-se com o edifício ocupado.	Programar as provas com o edifício vazio, ou tomar medidas para evitar a exposição por estranhos.

Índice de Operação			Pontuação
Baixo	Médio	Alto	
0	20	40	20
0	30	60	0
0	50	100	20

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 41 + 0,6 \times 33 + 0,1 \times 20 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 34,1$$

D.9 – Análise de risco do Ponto I – Chuveiro Lava Olhos.

Tabela D.77 – Análise de risco estrutural no Ponto I.

Fatores de risco Estrutural	Baixo		Médio		Alto		Índice Estrutural			Índice Estrutural com correção	Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto	Pontuação		
Proveniência da água	Água fria de consumo humano.	Captação própria tratada.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Captação própria não tratada.	Controlar a contaminação microbiológica. Caso necessário introduzir equipamentos de tratamento, mínimo com filtração e desinfecção.	0	9	18	0	-	0
Água estagnada	A capacidade do reservatório/tubagens é menor que o gasto diário	A capacidade do reservatório/tubagens é maior que o gasto diário, mas menor que o semanal.	Reduza, se possível, a capacidade de armazenamento.	A capacidade do reservatório/tubagens é maior que o gasto semanal.	Reduza, se possível, a capacidade de armazenamento.	0	8	16	0	-	0
Recirculação de água	Não existe recirculação de água.	Existe recirculação de água. O volume total do circuito recircula num tempo menor ou igual a 4 horas.	Controle a contaminação microbiológica com a frequência indicada e, se necessário, introduza equipamentos de desinfecção.	Existe recirculação de água. O volume total do circuito recircula num tempo superior a 4 horas.	Controle a contaminação microbiológica com a frequência indicada e, se necessário, introduza equipamentos de desinfecção.	0	10	20	0	-	0
Tipo de aerossolização	Nível baixo de aerossolização.	Nível elevado de aerossolização, com gotas grandes que caem por gravidade.	Controlar. Revisão do funcionamento do correto dos equipamentos de tratamento.	Nível muito elevado de aerossolização, com gotas pequenas que são transportadas pelo ar.	Se possível, aumente o fluxo de recirculação.	0	11	22	11	-	11
Materiais (composição, rugosidade, corrosão)	Materiais metálicos e/ou plásticos resistentes à ação agressiva da água e biocidas.	Betão, materiais metálicos e/ou plásticos não resistentes à água da instalação.	Aplicar separador de gotas.	Outros materiais (couro, madeira, celulose) em contacto com a água que favoreçam o desenvolvimento de bactérias.	Aplicar separador de gotas.	0	4	8	0	-	0

Tabela D.78 – Análise de risco estrutural no Ponto I (continuação).

Fatores de risco Estrutural	Baixo	Médio		Alto	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações
Emissão de aerossol	A emissão de aerossóis é isolada de elementos a serem protegidos ou áreas de trânsito humano.	A emissão de aerossóis é encontrada próximo a elementos de proteção ou em áreas de trânsito humano.	Substituição dos materiais ou proteções adequadas. Adição de inibidores de corrosão.	A emissão de aerossóis é encontrada em uma área com pontos de risco especial: hospitais, lares de idosos, etc.	Substituição dos materiais.

Índice Estrutural			Pontuação
Baixo	Médio	Alto	
0	8	16	8
0	50	100	19

Índice Estrutural com correção	Pontuação
-	8
	19

Tabela D.79 – Análise do risco de manutenção para o ponto I.

Fatores de risco de Manutenção	Baixo	Médio		Alto		Índice de Manutenção			Pontuação	Índice de Manutenção com correção	
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Baixo	Pontuação
Contaminação microbiológica	Aeróbios totais <10.000 UFC/mL <i>Legionella</i> spp. ausente	Aeróbios totais > 100.000 UFC/mL e <i>Legionella</i> spp. <1.000 UFC/L	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	<i>Legionella</i> spp. > 1.000 UFC/L	Segundo o critério estabelecido para os resultados.	0	15	30	0	-	0
Estado higiênico da instalação	Sem lodo, biofilme, turvação, etc.	Áreas com biofilme e sujidade não generalizada.	Limpeza da instalação.	Instalação com biofilme e sujidade generalizada visível.	Limpeza e desinfecção preventiva.	0	15	30	15	-	15
Estado mecânico da instalação	Bom estado de conservação. Sem presença de corrosão nem incrustação.	Alguns elementos da instalação apresentam corrosão e/ou incrustação.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Verificar o sistema de tratamento.	Mau estado geral de conservação: corrosão e/ou incrustação generalizada.	Substituir, tratar e/ou proteger os elementos com corrosão e/ou incrustações. Adicionar inibidores de corrosão ou utilizar materiais mais resistentes, ou proteger.	0	9	18	0	-	0
Estado do sistema de tratamento e desinfecção	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfecção adequado e a funcionar corretamente.	Instalação dispões de um sistema de tratamento e desinfecção adequado, mas não funciona corretamente.	Rever, reparar ou substituir o sistema de tratamento.	A instalação necessita de um sistema de tratamento e desinfecção, mas não dispõe dele.	Instalar um sistema de tratamento e desinfecção.	0	11	22	0	-	0
						0	50	100	15		15

Tabela D.80 – Análise do risco de operação para o ponto I.

Fatores de risco de Operação	Baixo	Médio		Alto		Índice de Operação			Pontuação	Índice de Operação com correção		Pontuação
	Fator	Fator	Ações	Fator	Ações	Baixo	Médio	Alto		Índice de Operação com correção	Pontuação	
Temperatura da água estagnada	<20 °C	20 – 30 °C	Melhorar o isolamento das tubagens	>30 °C	Melhorar o isolamento das tubagens	0	10	20	10	-	10	
Temperatura da água do sistema	< 20 °C ou ≥ 50 °C.	20 – 34 °C ou 38-49 °C.	Melhorar o isolamento das tubagens. Ajustar a temperatura do sistema	35-37 °C.	Melhorar o isolamento das tubagens. Ajustar a temperatura do sistema	0	10	20	10	-		
Frequência de funcionamento	O sistema é usado diariamente	o sistema é usado pelo menos 1 vez por semana	Aumentar a frequência de uso	O sistema usa-se esporadicamente	Aumentar a frequência de uso	0	15	30	30	Descargas semanais	15	
Horário de funcionamento	A instalação é utilizada quando a passagem de pessoas é praticamente nula.	A instalação é utilizada em horas de passagem pouco frequente de pessoas.	Se possível, use a instalação quando a passagem de pessoas for menor.	A instalação é utilizada quando a passagem de pessoas é muito frequente.	Se possível, use a instalação quando a passagem de pessoas for menor.	0	15	30	15	-	15	
						0	50	100	65		40	

$$IG_{RI} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 0,3 \times 19 + 0,6 \times 15 + 0,1 \times 65 \leftrightarrow$$

$$IG_{RI} = 12,2$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times IE + 0,6 \times IM + 0,1 \times IO \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 0,3 \times 19 + 0,6 \times 15 + 0,1 \times 40 \leftrightarrow$$

$$IG_{RR} = 9,7$$

6.5 Anexo E – Modelos de Registo

Figura E.31 - Modelo de registo para o método de cultura (página 1).



Assunto Quantificação de *Legionella spp.*

AMOSTRA LIMS		Analista	
Ponto Amostragem		DATA	

Amostra:				Data:
Tratamento:	Sem tratamento <input type="checkbox"/>	Tratamento Acido <input type="checkbox"/>	Tratamento de Calor <input type="checkbox"/>	Combinado <input type="checkbox"/>
Meio de cultura:	BCYE <input type="checkbox"/>	GVPC <input type="checkbox"/>	BCYE+AB <input type="checkbox"/>	Volume inoculado:
Contagens				
Confirmação bioquímica				
Serologia				
UFC/L	<i>Legionella spp.</i>			
	<i>Legionella pneumophila</i>			

Figura E.32 - Modelo de registo para o método de cultura (página 2).

MODELO continuação

Parâmetros/Meios de cultura	Branco	Controlo Positivo	Controlo Negativo
BCYE		<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
GVPC		<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
BCYE+AB		<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>

Meios de cultura	BCYE	BCYE-cys
<i>Legionella pneumophila</i>		

Figura E.33 - Modelo de registo para o Legiolert



MODELO

Assunto Tomas de Amostra em Microbiologia – *Legionella pneumophila*

AMOSTRA LIMS		Analista	
Ponto Amostragem		DATA	

PARÂMETRO	Meio/Teste	mL			mL			UFC/100 mL
	Legiolert	G	P	MPN	G	P	MPN	
<i>L.pneumophila</i>	Poços positivos (cor castanha)							

Parâmetros/Meios de cultura	Branco	Controlo Positivo	Controlo Negativo
Legiolert		<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>

Figura E.34 – Modelo de registo para o método *Legipid*[®] *Fast Detection Test Legionella spp.*

 **MODELO**

Código _____ Revisão 0

Assunto Quantificação de *Legionella spp.* - Legipid

AMOSTRA LIMS		Analista	
Ponto Amostragem		DATA	

PARÂMETRO	Absorvância	Concentração, CFU ₁₀₀ / teste
<i>Legionella spp.</i>		

Legenda:

ND - Não Detetado

Parâmetros/Meios de cultura	Branco	Controlo Positivo	Controlo Negativo
Legipid			

6.6. Anexo F – Tabela Legiolert

Tabela NMP para Quanti -Tray*/Legiolert* de 96 poços

		N.º de poços grandes positivos						
		0	1	2	3	4	5	6
	0	<1	1,1	2,3	3,9	5,8	8,4	12,6
	1	1,0	2,2	3,5	5,2	7,4	10,4	15,5
	2	2,0	3,2	4,7	6,6	9,0	12,4	18,7
	3	3,0	4,3	5,9	7,9	10,6	14,6	22,3
	4	4,0	5,4	7,2	9,4	12,3	16,9	26,4
	5	5,0	6,5	8,4	10,8	14,1	19,4	31,0
	6	6,0	7,7	9,7	12,3	15,9	21,9	36,1
	7	7,0	8,8	10,9	13,8	17,8	24,6	41,6
	8	8,1	9,9	12,2	15,3	19,8	27,5	47,4
	9	9,1	11,0	13,5	16,8	21,7	30,5	53,4
	10	10,1	12,2	14,8	18,4	23,8	33,5	59,6
	11	11,1	13,3	16,1	20,0	25,9	36,7	65,9
	12	12,1	14,5	17,5	21,6	28,0	40,0	72,3
	13	13,2	15,6	18,8	23,3	30,2	43,3	78,8
	14	14,2	16,8	20,2	24,9	32,4	46,7	85,4
	15	15,2	18,0	21,5	26,6	34,7	50,1	92,1
	16	16,3	19,1	22,9	28,3	37,0	53,6	98,9
	17	17,3	20,3	24,3	30,1	39,3	57,1	105,7
	18	18,3	21,5	25,7	31,8	41,6	60,6	112,7
	19	19,4	22,7	27,1	33,6	44,0	64,2	119,8
	20	20,4	23,9	28,5	35,3	46,4	67,8	126,9
	21	21,4	25,1	30,0	37,1	48,8	71,5	134,2
	22	22,5	26,3	31,4	38,9	51,2	75,1	141,6
	23	23,5	27,5	32,9	40,7	53,7	78,8	149,0
	24	24,6	28,7	34,3	42,6	56,1	82,5	156,6
	25	25,6	29,9	35,8	44,4	58,6	86,3	164,4
	26	26,7	31,1	37,2	46,2	61,1	90,1	172,2
	27	27,7	32,4	38,7	48,1	63,6	93,9	180,1
	28	28,8	33,6	40,2	49,9	66,1	97,7	188,2
	29	29,9	34,8	41,7	51,8	68,6	101,6	196,4
	30	30,9	36,1	43,1	53,7	71,1	105,5	204,8
	31	32,0	37,3	44,6	55,6	73,7	109,4	213,3
	32	33,1	38,5	46,1	57,5	76,2	113,3	221,9
	33	34,1	39,8	47,6	59,4	78,8	117,3	230,7
	34	35,2	41,0	49,2	61,3	81,4	121,3	239,6
	35	36,3	42,3	50,7	63,2	84,0	125,4	248,7
	36	37,3	43,5	52,2	65,1	86,6	129,5	258,0
	37	38,4	44,8	53,7	67,1	89,3	133,6	267,4
	38	39,5	46,1	55,3	69,0	91,9	137,7	277,1
	39	40,6	47,3	56,8	71,0	94,6	141,9	286,9
	40	41,7	48,6	58,3	72,9	97,2	146,1	296,9
	41	42,8	49,9	59,9	74,9	99,9	150,4	307,1
	42	43,8	51,2	61,4	76,8	102,6	154,7	317,5
	43	44,9	52,5	63,0	78,8	105,4	159,0	328,1
	44	46,0	53,7	64,5	80,8	108,1	163,4	339,0
	45	47,1	55,0	66,1	82,8	110,8	167,8	350,1
	46	48,2	56,3	67,7	84,8	113,6	172,2	361,4
	47	49,3	57,6	69,3	86,8	116,4	176,7	373,0
	48	50,4	58,9	70,8	88,8	119,2	181,2	384,9
	49	51,5	60,2	72,4	90,9	122,0	185,8	397,1
	50	52,6	61,5	74,0	92,9	124,8	190,4	409,6
	51	53,8	62,8	75,6	94,9	127,6	195,1	422,3
	52	54,9	64,1	77,2	97,0	130,5	199,7	435,5
	53	56,0	65,5	78,8	99,1	133,4	204,5	448,9
	54	57,1	66,8	80,4	101,1	136,2	209,3	462,8
	55	58,2	68,1	82,1	103,2	139,2	214,1	477,0
	56	59,3	69,4	83,7	105,3	142,1	218,9	491,6
	57	60,5	70,8	85,3	107,4	145,0	223,9	506,7
	58	61,6	72,1	86,9	109,5	148,0	228,8	522,3
	59	62,7	73,4	88,6	111,6	150,9	233,8	538,3
	60	63,9	74,8	90,2	113,7	153,9	238,9	554,9
	61	65,0	76,1	91,9	115,9	156,9	244,0	572,0
	62	66,1	77,5	93,5	118,0	160,0	249,2	589,7
	63	67,3	78,8	95,2	120,1	163,0	254,4	608,1
	64	68,4	80,2	96,8	122,3	166,1	259,7	627,1
	65	69,6	81,5	98,5	124,5	169,2	265,0	646,9
	66	70,7	82,9	100,2	126,6	172,3	270,4	667,6
	67	71,9	84,3	101,9	128,8	175,4	275,9	689,0
	68	73,0	85,6	103,6	131,0	178,5	281,4	711,5
	69	74,2	87,0	105,3	133,2	181,7	287,0	735,0
	70	75,3	88,4	107,0	135,4	184,9	292,6	759,6
	71	76,5	89,8	108,7	137,7	188,1	298,3	785,5
	72	77,7	91,2	110,4	139,9	191,3	304,0	812,8
	73	78,8	92,6	112,1	142,1	194,5	309,9	841,7
	74	80,0	93,9	113,8	144,4	197,8	315,8	872,3
	75	81,2	95,3	115,5	146,7	201,1	321,7	904,9
	76	82,3	96,7	117,3	148,9	204,4	327,8	939,8
	77	83,5	98,2	119,0	151,2	207,7	333,9	977,2
	78	84,7	99,6	120,8	153,5	211,0	340,0	1017,6
	79	85,9	101,0	122,5	155,8	214,4	346,3	1061,6
	80	87,1	102,4	124,3	158,1	217,8	352,6	1109,7
	81	88,3	103,8	126,0	160,5	221,2	359,1	1162,9
	82	89,5	105,2	127,8	162,8	224,6	365,6	1222,4
	83	90,7	106,7	129,6	165,2	228,1	372,1	1289,8
	84	91,9	108,1	131,4	167,5	231,6	378,8	1367,7
	85	93,1	109,5	133,2	169,9	235,1	385,6	1459,8
	86	94,3	111,0	135,0	172,3	238,6	392,4	1572,5
	87	95,5	112,4	136,8	174,7	242,2	399,4	1717,8
	88	96,7	113,9	138,6	177,1	245,8	406,4	1922,6
	89	97,9	115,3	140,4	179,5	249,4	413,6	2272,6
	90	99,1	116,8	142,2	181,9	253,0	420,8	>2272,6