

Horario de recepción de muestras para el Análisis de Legionella en CNTA**LUNES a JUEVES de 7:00 h a 16:30 h****VIERNES y VÍSPERAS DE FESTIVO: de 7:00 h a 12:00 h****(fuera de este horario consultar con el Departamento de Bioensayos: Microbiología).**

Nota: el presente documento no pretende ser una guía de toma de muestras para Legionella (para ello hay que consultar Norma UNE 100030:2017. Prevención y control de la proliferación y diseminación de Legionella en instalaciones) sino unas orientaciones básicas de gestión del muestro y envío de las muestras a CNTA.

1.- PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE LEGIONELLA:

- **INFORMACION IMPORTANTE:** En caso de que el agua esté tratada con un biocida, para evitar su acción bactericida, en la toma de la muestra **hay que añadir un neutralizante específico del mismo** (y que a su vez no sea bactericida) a los recipientes en los que se vaya a recoger.

En estos casos, la empresa solicitante **debe indicar al laboratorio el biocida utilizado**, así como el neutralizante añadido en la recogida de la muestra.

- o Agua con residuos de cloro u otros halógenos (biocidas oxidantes): El tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) es un buen agente de cloración que neutraliza todos los residuos halógenos. El tiosulfato de sodio no tiene efecto sobre la muestra y puede emplearse también para aguas no cloradas. La masa teórica de tiosulfato de sodio (pentahidratado) necesaria para inactivar 1 mg de cloro es 7.1 mg. Para inactivar una concentración de cloro residual de entre 2 y 5 mg/L sería suficiente añadir 1 mL de la solución (1.8%) para 1 L de agua. En algunos tipos de agua, pueden encontrarse concentraciones más elevadas de cloro (piscinas, medidas de desinfección...), por lo que será necesaria una mayor cantidad de tiosulfato de sodio para inhibirla.
- o Para otros biocidas todavía no es practicable la adición de un neutralizante universal, por lo que se añadirá el neutralizante referido por la empresa suministradora del biocida, según el protocolo que indique. También puede consultarse en la siguiente página del ministerio de

<https://www.mscbs.gob.es/ca/ciudadanos/productos.do?tipo=plaguicidas>

En caso de que CNTA no disponga de dicha información, en el informe de análisis se hará constar que NO SE TIENE CONSTANCIA DE LA NEUTRALIZACIÓN DEL BIOCIDA UTILIZADO y que, por lo tanto, no se dispone de la suficiente información para interpretar correctamente los resultados del ensayo.

2.- VOLUMEN DE MUESTRA Y TIPO DE ENVASE

El **volumen mínimo necesario** para realizar el análisis de Legionella es de 1 L en un envase estéril. Recipientes más pequeños (100-500 mL) pueden usarse para lodos, depósitos o sedimentos.

El volumen que tomar debe ser el adecuado para que en una sola muestra se puedan efectuar simultáneamente la totalidad de los análisis bacteriológicos y estará en función de la técnica analítica a utilizar. Para los análisis de Legionella, como mínimo, 1000 mL.

3.- TÉCNICA DE TOMA DE MUESTRA DE AGUAS

- Todos los movimientos deberán realizarse sin interrupciones, al abrigo de corrientes de aire y con las máximas precauciones de asepsia.
- Realizar todo el proceso de la toma de muestras con, gorro, guantes desechables estériles y bata de laboratorio; o en su defecto, lavarse las manos correctamente antes y después de la toma de muestras.

- Antes de la toma de muestra se marcará el frasco mediante rotulador resistente al agua, con una referencia que permita su identificación Limpiar y desinfectar el grifo/dispensador con una toallita desinfectante.
- Abrir el grifo para que el agua fluya abundantemente y se renueve el agua contenida en la tubería que lo alimenta, durante tres minutos aproximadamente.
- Se destapará el frasco estéril sin tocar la boca del mismo ni el interior del tapón ni el punto de la toma de muestra (grifo, boca, etc..)
- Colocar los tapones boca arriba en un lugar limpio y seco.
- No homogeneizar con el agua a muestrear si el envase ya contiene tiosulfato.
- Tomar el volumen de muestra dentro del recipiente. En todos los casos la muestra de agua no deberá llenar totalmente el frasco, siendo necesario dejar un espacio interior a fin de facilitar su homogeneización en el momento de iniciar el análisis.
- En función del punto de muestreo tener en cuenta las siguientes consideraciones:
 - 1. Grifos:**

Se destapará el frasco estéril sin tocar la boca del mismo ni el interior del tapón. Posteriormente, se recoge el resto de la muestra hasta llegar a 1L como mínimo.
 - 2. Sistemas de refrigeración (torres de refrigeración, condensadores...).**

Una parte de la muestra de agua se tomará de la balsa en un punto alejado del aporte y de la inyección de biocida, y otra parte del retorno, constituyendo una única muestra. Dado que Legionella puede estar presente formando parte de biofilms, se deben incluir restos e incrustaciones mediante el raspado con un hisopo estéril que se añade al mismo envase que la muestra
 - 3. Pozos, depósitos y piscinas:**

Si se dispone de bomba de captación se opera como se ha indicado en el caso del grifo.
Con esta salvedad se introducirá en la masa de agua el frasco de muestreo, sostenido con un cordel y tomar la muestra
También podrán utilizarse aparatos especiales lastrados que permiten introducir el frasco estéril y destaparlo a la profundidad deseada. En estos casos deberán utilizarse frascos con tapón a presión.
Si es posible, se cogerá muestra de la parte baja del depósito, así como de los posibles sedimentos, de una zona alejada al aporte de agua y de la dispensación del biocida en los casos en que aplique.
 - 4. Manantiales:**

En manantiales naturales o fuentes de caudal continuo, sin dispositivos de intermitencia, se tomará la muestra directamente sin tomar medidas especiales de drenaje.
 - 5. Bocas de riego:**

Para el muestreo en bocas de riego se utilizarán acoplamientos especiales que permitan operar como en el caso de un grifo.
 - 6. Lodos, depósitos o sedimentos:**

Se tomarán con material estéril de modo que la muestra sea representativa de la globalidad de depósitos presentes.
 - 7. Análisis de biofilms mediante hisopos o torundas:**

Quitar el filtro o cabezal del grifo a muestrear. Insertar el hisopo al interior y girarlo tres veces y raspar sobre el filtro o cabezal si se aprecia biofilm. Devolver el hisopo a su tubo con medio de transporte, cerrarlo bien para evitar fugas y refrigerarlo para su envío.
- Cerrar inmediatamente los envases una vez tomadas las muestras. Las muestras se cerrarán convenientemente y se precintarán, en caso necesario, de forma que quede garantizada su inviolabilidad y se mantendrán refrigeradas hasta el envío a CNTA.

4- IDENTIFICACIÓN

La muestra se acompañará de una ficha o etiqueta en la que se consignen los datos necesarios que, como mínimo, serán los siguientes:

- a) **Datos del solicitante:** - Nombre de la persona o Empresa y dirección completa.
- b) **Datos del agua:**
- Origen de la muestra (pozo, manantial, grifo, cisterna, río, etc.).
 - Identificación de la muestra. Seguido de la palabra “MICROBIOLOGÍA”
 - Fecha y hora de la recogida.
 - Temperatura de la muestra.
 - **BIOCIDA UTILIZADO Y NEUTRALIZANTE AÑADIDO** en la recogida de la muestra

Preferiblemente realizar la Solicitud de Análisis on-line.

5.- ACONDICIONAMIENTO Y CONSERVACIÓN

Una vez tomada la muestra se acondicionará de modo que quede en la oscuridad debiendo remitirse cuanto antes al laboratorio, ya que el periodo de tiempo transcurrido entre el muestreo y el análisis puede reducir la fiabilidad de los resultados obtenidos.

Las muestras se transportan refrigeradas (por ejemplo, mediante el empleo de bloques refrigerantes, tomando precauciones para evitar la congelación de la muestra).

A la llegada a CNTA se comprobará y registrará la temperatura de llegada al laboratorio, teniendo que ser ésta de $\leq 10^{\circ}\text{C}$.

Según la norma ISO 11731, se recomienda conservar las muestras durante 24 horas refrigeradas (incluyendo el transporte). Puede ser aceptable una conservación durante 24 horas a temperatura ambiente o durante 48h en refrigeración, no excediéndose nunca los 5 días entre la toma de muestra y el análisis.

CNTA
DEPARTAMENTO DE BIOENSAYOS
Ctra. NA-134 Km 53
31570 San Adrián (Navarra)
Tel: 948 67 01 59
www.cnta.es