

**IMPORTANTE:**

- Esta guía no sustituye al protocolo, leer el protocolo con detenimiento antes de iniciar el test.
- No utilizar reactivos después de la fecha de caducidad.
- Utilizar un control negativo (reactivo L0) para cada tanda de ensayos.
- Dejar atemperar alícuotas de los reactivos a utilizar (18-26 °C) al menos durante 30 minutos antes de su uso.
- Las cubetas son desechables. No reutilizar.
- Utilizar el tapete posicionador correspondiente al concentrador de partículas magnéticas utilizado.
- Los reactivos son suministrados en exceso. No utilizar sobrantes de ningún reactivo.

**Preparación  
Muestra**

- Filtrar 1 L de muestra a través de un filtro de policarbonato de 0,4 micras.
- Sumergir el filtro (preferiblemente cortado) en 10 ml de L0 para su posterior elución.
- Eluir durante 2 min por agitación (vortex o manual) o 5 min en ultrasonidos.
- Transferir 9 ml del eluido inmediatamente después de la elución a la cubeta de análisis que ya contiene 1 mL de L1 (ver captura).

**Captura**

- Agitar suavemente el reactivo **L1** para homogeneizar bien las partículas magnéticas.
- Añadir **1 ml** del reactivo **L1** en cada cubeta (**hasta la línea 1**).
- Añadir **9 ml** de la muestra en una cubeta y **9 ml** de **L0** (control) en otra (**hasta la línea 3**).
- Insertar los tapones.
- Agitar suave, **3 veces cada 3 min** durante **15 minutos** (cubetas en posición horizontal).
- Quitar tapones, desecharlos. **Retener** durante **5 min**.
- Desechar el sobrenadante por el lado contrario del imán (**con las partículas retenidas**).

- Añadir **4.5 ml** de **L2** tanto en la muestra como en el control (**hasta la línea 2**).
- Agitar enérgicamente hasta resuspender las partículas durante **10 segundos**.
- Retener** durante **3 min**.
- Desechar el sobrenadante por el lado contrario del imán (**con las partículas retenidas**).

**Marcado**

- Añadir **1 ml** de **L3** tanto en la muestra como en el control (**hasta la línea 1**).
- Agitar enérgico durante **10 segundos** y agitar suave cada 2 min durante **10 min**.
- Retener** durante **3 min**.
- Desechar el sobrenadante por el lado contrario del imán (**con las partículas retenidas**).

**Lavados**

- Añadir **4.5 ml** de **L2** tanto en la muestra como en el control (**hasta la línea 2**).
- Agitar enérgicamente hasta resuspender las partículas durante **10 segundos**.
- Retener durante **3 min**.
- Desechar el sobrenadante por el lado contrario del imán **con las partículas retenidas**.

- 

**Ejecutar cuidadosamente el paso de lavado**  
**REALIZAR ESTE PASO UN TOTAL DE 3 VECES**

**Detección**

- Añadir **con pipeta pasteur 1ml** de **L4** en la muestra y en el control (**hasta la línea 1**).
- Agitar enérgico durante **10 segundos** y agitar suave durante **2 min**.
- Parar la reacción con **3 gotas de L5**.
- Agitar, y luego retener** durante **5 min**.
- Pipetear **1 ml** de cada ensayo **para medición** por espectrofotometría o carta de color