



Cleanpid® Easy Purification para
Legionella

Referencia:
611-10-01
(50 tests)

Prospecto

Kit de separación basado en partículas que se únen a la *Legionella* para la inmunocaptura y purificación de *Legionella sp* en muestras de agua.



TABLA DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN

II. LA TECNOLOGÍA DE Cleanpid® *Legionella* Fast Purification Kit

III. REACTIVOS Y COMPONENTES DEL KIT

IV. CADUCIDAD Y ALMACENAMIENTO

V. MATERIAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

VI. PRECAUCIONES Y RECOMENDACIONES

VII. PROTOCOLO

A. PREPARACIÓN DE MUESTRA

B. CAPTURA

C. CULTIVO

VIII. REFERENCIAS

I. INTRODUCCIÓN

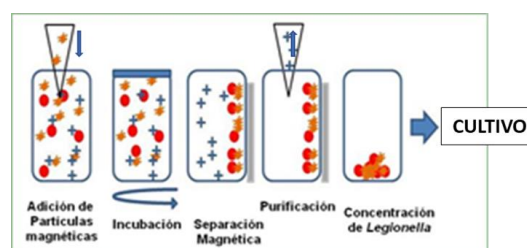
Cleanpid® Easy Purification kit para *Legionella* (Ref. No. 611-10-00) es un método simple y rápido para separar y purificar *Legionella sp* en agua potable, natural e industrial. El método utiliza partículas magnéticas que se unen a *Legionella* para la inmunocaptura de células de *Legionella*, tras la pre-concentración de la muestra.

II. LA TECNOLOGÍA DE Cleanpid® EASY PURIFICATION KIT

La muestra original de agua se concentra por filtración o similar, y el retenido se eluye. Una porción de 1 ml de esta muestra eluída se dispensa en el tubo de captura. Se añade una suspensión de partículas magnéticas. Las células de *Legionella* presentes en la porción se unirán a los anticuerpos inmobilizados sobre la superficie de las partículas, para formar complejos bacteria/partícula. Como estos complejos se pueden separar por un imán, pueden ser fácilmente lavados y resuspendidos. Tras los lavados, las células de *Legionella* capturadas pueden analizarse por métodos de cultivo.



Obtención de la muestra concentrada



III. REACTIVOS Y COMPONENTES DEL KIT

La referencia **611-10-00 (50 tests)** contiene los elementos indicados en la siguiente tabla:

Reactivo/componente	ID	Cantidad
Eluyente	L0	1 frasco (400 mL)
Reactivo de captura (partículas inmunomagnéticas)	L1	1 frasco (50 mL)
Cubetas (*)	CB	50 unidades

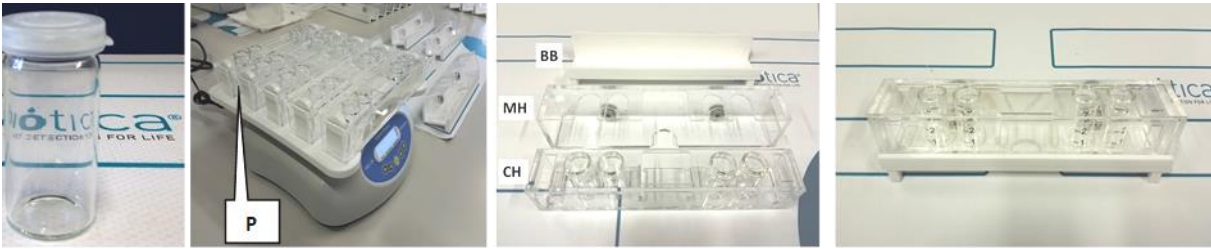
(*) Esterilice las cubetas de vidrio antes de usar

El concentrador **MP4-Hunter (311-MP4-00)** contiene los elementos listados en la siguiente tabla:

MP4-Hunter (ref. 311-MP4-00), 1 unidad		
Componente	ID	Cantidad
Soporte magnético para 4 cubetas	311-MP4-MH	5
Soporte Insertable para 4 cubetas	311-MP4-CH	5
Soporte de sujeción	311-MP4-BB	5
Tapete posicionador (*)	311-MP4-TC	1
Plataforma	311-MP4-P	1
Agitador Orbital	311-MP4-AGT	1

(*) Evita la proximidad excesiva entre imanes. Si no está disponible, mantenga una distancia de al menos 12 cm entre concentradores.





311-10 CB

311-MP4-00

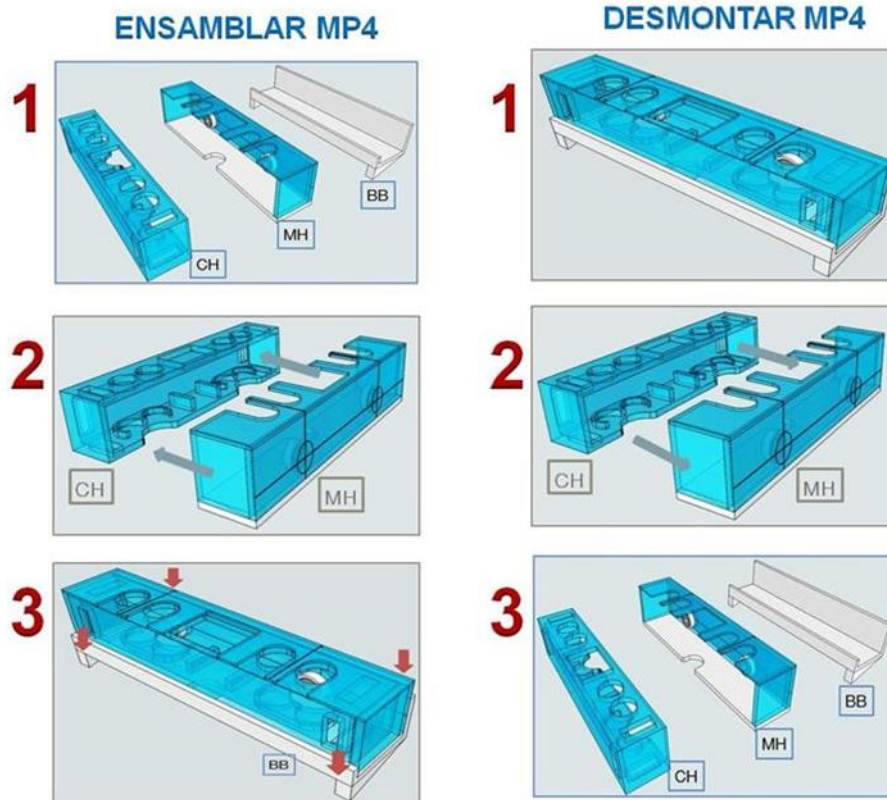
Los componentes MH, CH y BB, pueden adquirirse como un conjunto separado bajo la referencia MP4-SP. El montaje y desmontaje del concentrador es como se describe a continuación:

ENSAMBLADO MP4

Inserte las cubetas en el soporte (CH). Introduzca cada soporte de cubetas (CH) en un soporte magnético (MH). Encaje el conjunto en su soporte de sujeción (BB) (presione ligeramente por delante y encájelo hacia abajo).

DESMONTAJE MP4

Desencaje el soporte de sujeción (BB). Separe el soporte de cubetas (CH) del soporte magnético (MH).



IV. CADUCIDAD Y ALMACENAMIENTO

El kit debe guardarse entre +2°C y +8°C, preferentemente a +4°C. La caducidad, guardado en las debidas condiciones, es de 6 meses desde la fecha de fabricación. **No congelar**. El kit debe guardarse siempre derecho para mantener las partículas dentro del tampón en su vial. Después de usarlo, todos los reactivos deben ser rápidamente guardados a +2°C y +8°C, preferentemente a +4°C.

V. MATERIAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

- ◆ Frasco graduado con tapón de rosca, para la elución del filtro.
- ◆ Filtro de fibra de vidrio, diámetro de poro 2.7µm, para uso como pre-filtro (*).
- ◆ Filtro de membrana, diámetro de poro 0.4µm en el caso de filtros de policarbonato (**).
- ◆ Contenedor para residuo.
- ◆ Pipetas de 10-100µl, 100-1000µl y 1-5ml.
- ◆ Aparato de filtración (***), para pre-concentrar muestras de agua por filtración de membrana.
- ◆ Opcional: vórtex o sonicador, para eluir el filtro (la elución puede hacerse manual).

(*)El uso de un filtro de fibra de vidrio de 2,7 micras de tamaño de poro como pre-filtro para las muestras de agua se recomienda solo para la filtración de muestras muy sucias. (**)Es posible un diámetro de poro más pequeño pero puede dificultar la filtración. (***) Nota: Contáctenos para información detallada sobre equipos recomendados por nuestro departamento técnico

VI. PRECAUCIONES Y RECOMENDACIONES

- ◆ Producto seguro en condiciones normales de uso. Evite el contacto con los ojos.
- ◆ Producto estable, no reacciona peligrosamente en condiciones normales de uso. Debe ser vertido de acuerdo con las regulaciones locales. Disponga contenedores vacíos para el residuo.
- ◆ No use los reactivos tras la fecha de caducidad.
- ◆ Agite el reactivo de captura (suspensión de partículas magnéticas) por pipetting repetido y suave justo antes de su uso para asegurar la homogeneidad.

VII. PROTOCOLO

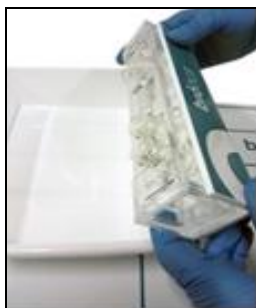
A. Preparación de la muestra

Aplique su protocolo habitual para concentración de la muestra original para obtener la muestra concentrada.

B. Captura usando Cleanpid®

Este procedimiento describe la captura y concentración de *Legionella* partiendo de una porción de **1 ml de la muestra concentrada**.

1. Insertar las cubetas de vidrio esterilizadas sin tapones en el rack CH
2. Homogeneizar por inversiones suaves y sucesivas el vial de reactivo de captura (**L1**) antes de abrirlo.
3. Abrir el vial y hacer pipetting suave y repetido para, finalmente, tomar y dispensar en cada cubeta de vidrio (CB) esterilizada **1 ml de la suspensión L1** así homogenizada.
4. Ensamble los MP4 (ver III). Espere 5 minutos para retener las partículas magnéticas
5. Deseche el sobrenadante vaciando las cubetas por el lado opuesto a los imanes, rotando para ello el conjunto ensamblado.



6. Desensamble el MP4 e inserte el soporte de cubetas (CH) en posición vertical sobre la plataforma (P) en el agitador orbital. Entonces añada **1 ml de la muestra** (concentrado del agua a analizar) en su correspondiente cubeta.

7. Agite SIN TAPONES a 350 rpm durante 10 segundos hasta resuspender las partículas.

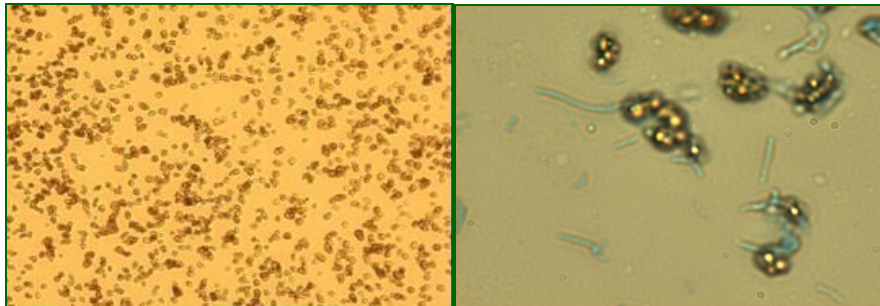
8. COLOQUE LOS TAPONES en las cubetas. Retire los soportes de cubetas (CH) de la plataforma (P), y vuelva a insertarlos ahora de forma que las cubetas queden en posición horizontal.

9. Agite a 80 rpm durante 15 minutos en el agitador orbital

10. Retire los soportes de cubetas (CH) de la plataforma (P), y QUITE LOS TAPONES Y DESÉCHELOS (en posición vertical). Ensamble los MP4 (ver III) y colóquelos en sobremesa. Espere 5 minutos para retener las partículas magnéticas.

11. Deseche el sobrenadante vaciando las cubetas por el lado opuesto a los imanes, rotando para ello el conjunto.

Nota: Las bacterias están ahora concentradas en el pellet



Suspensión de reactivo de captura L1 L1 capturando *Legionella*

12. Desensamble el MP4 e inserte el soporte de cubetas (CH) en posición vertical sobre la plataforma (P) en el agitador orbital. Entonces añada **1 ml del reactivo L0** esterilizado en cada cubeta.

13. Agite SIN TAPONES a 350 rpm durante 10 segundos hasta resuspender las partículas.

14. Retire los soportes de cubetas (CH) de la plataforma (P), ensamble los MP4 y colóquelos en sobremesa y espere 3 minutos para retener las partículas magnéticas.

15. Deseche el sobrenadante vaciando las cubetas por el lado contrario a los imanes, rotando el conjunto.

16. Repita los pasos 12-15 una vez más.

17. Desensamble el MP4 e inserte el soporte de cubetas (CH) en posición vertical sobre la plataforma (P) en el agitador orbital. Entonces resuspenda los complejos partícula-bacteria añadiendo **1 ml de reactivo L0** estéril, agitando SIN TAPONES a 350 rpm durante 10 segundos.

C. Cultivo

Aplice su protocolo de cultivo. Orientativamente, describimos el siguiente protocolo:

1. Homogenice la suspensión final anterior mediante pipetting suave y repetido.

2. Sembrar 100 μ l de suspensión final anterior en una placa de BCYE, extendiendo el inóculo por toda la superficie con ayuda de un asa de siembra.

3. Dejar reposar la placa sembrada hasta que el volumen inoculado se haya absorbido.

4. Incubar la placa boca abajo en estufa de incubación, en condiciones de aerobiosis y humedad, a una temperatura de $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ durante un período de al menos 10 días.

5. Se revisa la placa sembrada, utilizando el microscopio de disección, para detectar colonias con morfología típica de *Legionella* spp. La revisión se realiza dos veces durante el período de incubación, La primera revisión se realiza entre el 2º y 5º día de incubación. La revisión final se realiza al finalizar el período de incubación.

Nota. - El uso del microscopio de disección para la revisión es de gran ayuda para la observación de la morfología de las colonias.

6. Para confirmar la detección de *Legionella* spp., las colonias cuya morfología se corresponde con la morfología típica de *Legionella* spp., se subcultivan en BCYE y en

BCYE-cys paralelamente. Ambas placas se incuban en estufa, en condiciones de aerobiosis humedad, a (36 ± 2) °C durante 2- 5 días. Se consideran aislados de *Legionella* spp., las colonias que crecen en BCYE y no en BCYE-cys.


7. Si transcurridos al menos 10 días no se observasen ni confirmasen colonias de *Legionella* spp. el resultado sería negativo para la detección de *Legionella* spp.

Nota: La incubación, examen de las placas y confirmación de las colonias se realiza tal y como se describe en la norma de ensayo UNE-EN ISO 11731:2017 Calidad del agua. Recuento de *Legionella*.

VIII. REFERENCIAS

1. International Organization for Standardization. 1998ISO 11731:1998. **Water quality - Detection and enumeration of *Legionella*.**
2. Contrato de investigación BIOTICA-ISCI (MVP 1253/16). **“Investigación de nuevas metodologías para la separación selectiva y purificación de *Legionella* spp. en muestras ambientales y su determinación en cultivo”**

Nota para usuario: Utilice este producto sólo para análisis ambiental

<p>No. Lote:</p> <p>Caducidad:</p>	<p>Para asistencia técnica contacte con: Biótica, Bioquímica Analítica, S.L. Parque Científico y Tecnológico, Universidad Jaume I Edificio Espaitec 2, Planta Baja, lab 2 E12071 – Castellón, Spain www.biotica.es info@biotica.es Tel.: +34 964108131 Fax: +34 964737790</p>	
--------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------