



**Cleanpid<sup>®</sup> Easy Purification para**  
**Legionella**

Referencia:

611-10-00

(50 tests)

**Prospecto**

Método de separación basado en partículas que se unen a 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. LAVADO

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 (fig1). Una porción de 1 ml de esta muestra eluída se dispensa en el tubo de captura. Se añade una suspensión de partículas magnéticas (fig 2). 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.



Fig 1 Obtención de la muestra concentrada

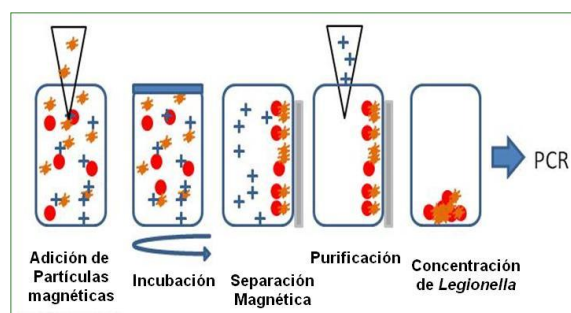


Fig 2 Principales etapas de la purificación

Tras los lavados, las células de *Legionella* capturadas pueden analizarse por métodos de PCR.

## III. REACTIVOS Y COMPONENTES DEL KIT

El kit (fig 3) comprende la referencia 611-10-00 (50 tests) y la referencia 611-MRC-10 (Soporte Magnético). Los elementos se listan en la Tabla I.



Fig 3 611-10-00 (50 tests) y 611-MRC-10 (Soporte Magnético)

Tabla I Elementos suministrados con las referencias 611-10-00 and 611-MRC-10

Referencia 611-10-00 (50 tests)		
Reactivo	ID	Cantidad
Reactivo de captura (partículas inmunomagnéticas)	C1	1 vial (1 mL)
Tampón de trabajo	C2	1 botella (175 mL)
Referencia 611-MRC (*)		
Componente	ID	Cantidad
Soporte Magnético para 10 tubos	10	1

(\*) Se puede suministrar dispositivos adaptados a los requerimientos del usuario.

#### 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

- ◆ Elementos para filtración: aparato de filtración, frasco para la elución del filtro, filtro de membrana estéril para usar con el sistema de filtración, y eluyente.
- ◆ Contenedor para residuo. Tubos eppendorf.
- ◆ Pipetas de 10-100µl y 100-1000µl.
- ◆ Agitador orbital, rotatorio o de vaivén.

#### 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 C1 por pipetting repetido y suave justo antes de su uso para asegurar la homogeneidad.

## VII. PROTOCOLO

### A. Preparación de la muestra

1. Recoja el volumen de muestra original del agua que quiere concentrar (ej. Por filtración).
2. Añada preferentemente 5 ml del eluyente en un frasco.
3. Filtre el volumen recogido a través de un filtro de policarbonato o de cualquier otro material con baja capacidad de adsorción de proteína o ADN, con una porosidad nominal de 0.45  $\mu\text{m}$  o menor (ISO/TS 12869:2012).
4. Cuidadosamente tome el filtro y deposítelo en el frasco con el eluyente. Opcionalmente puede cortar el filtro en trozos con tijeras.



5. Eluya el filtro por agitación, que puede ser manual (2 minutos), o vórtex (2 minutos), o agitador magnético (a bajas revoluciones), o baño de ultrasonidos(5 minutos).

La muestra eluida se denomina muestra concentrada

### B. Captura usando Cleanpid® Legionella Fast Purification Kit

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

1. Añada 1 ml de la muestra concentrada en el tubo de captura (ependorf)
2. Abra el vial de C1 y agite suavemente por pipetting repetido hasta la completa homogeneización de la suspensión.
3. Añada 20  $\mu\text{l}$  de C1 sobre la muestra contenida en el tubo de captura y mezcle por pipetting repetido. Luego, cierre el tubo con su tapón.
4. Incubar durante 60 min a temperatura ambiente en agitación suave (aprox.10-20 rpm, por ejemplo)
5. Introduzca el tubo de captura en el rack magnético durante 3 minutos (hasta retener las partículas magnéticas formando un anillo en la cara interna del tubo, y el sobrenadante aparezca clarificado).
6. Descarte el sobrenadante con pipeta sin perturbar el pellet de partículas magnéticas.

**Nota: Las bacterias están ahora concentradas en el pellet**

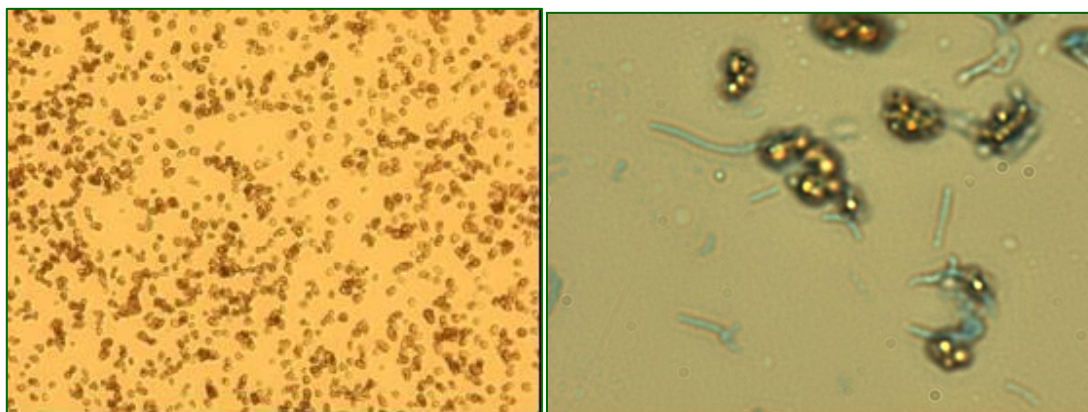
### C. Lavado usando Cleanpid® Legionella Fast Purification Kit

1. Añada 1 ml de C2 sobre el pellet de partículas, saque el tubo del rack magnético, y resuspenda el pellet por pipetting suave y repetido.

2. Introduzca el tubo de nuevo en el soporte magnético durante 3 minutos (hasta retener las partículas magnéticas formando un anillo en la cara interna del tubo, y el sobrenadante aparezca clarificado), como antes.
3. Descarte el sobrenadante con pipeta sin perturbar el pellet de partículas magnéticas.
4. **Repita los puntos 1, 2 & 3 (de esta sección) dos veces más**
5. Resuspenda el pellet de partículas en 100 µl de C2 por pipetting suave y repetido.

#### **Para PCR:**

1. Aplique el protocolo **de ciclos frío/calor para extraer el ADN** partiendo del pellet resuspendido.
2. Separe las partículas magnéticas introduciendo el tubo de nuevo en el soporte magnético durante 3 min (hasta quedar el sobrenadante clarificado).
3. Transfiera el sobrenadante a un tubo nuevo. Proceda con su **protocolo habitual para PCR**.



Suspensión de partículas magnéticas

Partículas capturando *Legionella*

## VIII. REFERENCIAS

1. International Organization for Standardization. 1998 ISO 11731:1998. **Water quality - Detection and enumeration of *Legionella***.
2. International Organization for Standardization. 2004. ISO 11731-2:2004. **Water quality - Detection and enumeration of *Legionella*** -- Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
3. "Use of immunomagnetic capture to remove interferences on *Legionella* detection by PCR and PMA-PCR". Inmaculada Solís, Marta Gallén, Miguel Martínez, Guillermo Rodríguez. Oral Communication, VI National Congress on Legionella and Environmental Quality, Terrassa, Spain 12/02/2015.

**Nota para usuario:** Utilice este producto sólo para análisis ambiental

<b>Código:</b>  <b>No. De Lote:</b>  <b>Caducidad:</b>	Para <b>asistencia técnica</b> contacte con: Biótica, Bioquímica Analítica, S.L. Parque Científico y Tecnológico, Universidad Jaime I Edificio Espaitec 2, Planta Baja, lab 2 E12071 – Castellón, Spain <a href="http://www.biotica.es">www.biotica.es</a> <a href="mailto:info@biotica.es">info@biotica.es</a> Tel.: +34 964108131 Fax: +34 964737790	
--	---	--