



# **Legipid<sup>®</sup> Legionellen-Schnelltest**

Bestellnummer:

**311-10-01**

## **Packungsbeilage**

Test für eine schnelle Detektion von *Legionella spp* in Wasserproben, basierend auf der Kombination von Immunomagnetic Capture und Enzyme Immunoassay (CEIA).



## **INHALTSVERZEICHNIS**

I. EINLEITUNG

II. DIE TECHNOLOGIE HINTER DEM TEST Legipid® Legionellen-Schnelltest

III. KIT-REAGENZIEEN UND KOMPONENTEN

IV. HALTBARKEIT UND LAGERUNG

V. ERFORDERLICHE AUSSTATTUNG (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

VI. SCHUTZMAßNAHMEN UND EMPFEHLUNGEN

VII. ANALYSEANWEISUNG

A. PROBENVORBEREITUNG

B. ANALYSE

C. ERGEBNISSE UND INTERPRETATION DES TESTS

VIII. BESTÄTIGUNG VON POSITIVEN TESTERGEBNISSEN

IX. MERKMALE UND BEWERTUNG DES TESTS

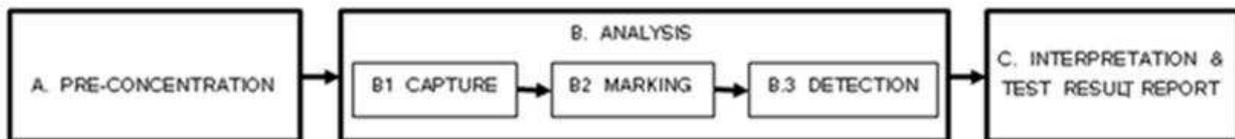
X. VERWEISE

## I. EINLEITUNG

**Legipid® Legionellen-Schnelltest (Best.-Nr. 311-10)** ist ein einfacher und schneller Test für die Bestimmung von *Legionella* spp im Trinkwasser, natürlichen und industriellen Wässern. Der Test kombiniert Magnetic Immunocapture und Enzyme-linked Immunoassay (CEIA) mit enzymatischer kolorimetrischer Reaktion für einen schnellen 1-Stunden-Test, nach Aufkonzentration einer Probe.

## II. DIE TECHNOLOGIE HINTER DEM TEST Legipid® Legionellen-Schnelltest

Die zu analysierende Wasserprobe wird durch Filtration aufkonzentriert. Die vorbereitete Probe wird in einer Küvette gewaschen und suspendiert, um danach mit der CEIA-Methode analysiert zu werden. Eine Suspension von Magnetpartikeln, die Legionellen binden, wird hinzugefügt. Sollten Legionellenzellen in der vorbereiteten Probe sein, werden diese an die Antikörper gebunden, die auf den Oberflächen der magnetischen Kugeln immobilisiert sind, um Bakterien/Partikel-Komplexe zu bilden. Da diese Komplexe mit einem Magnet separiert werden können ist es möglich, diese zu waschen und danach wieder in Lösung zu bringen. Die Komplexe werden an einen Anti-Legionella Antikörper gebunden, der mit einem Enzym verbunden ist, um dadurch markierte Komplexe zu bilden. Nach dem Waschen werden die Legionellen/Partikel-Komplexe kolorimetrisch visualisiert, wenn Enzysubstrate zugesetzt werden. Der Test beinhaltet die folgenden 3 Schritte:



## III. KIT REAGENZIEN UND KOMPONENTEN

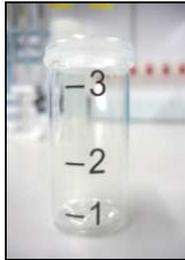
Legipid® Testkit mit der Best.-Nr. **311-10-01 (10 Tests)** enthält die folgenden Komponenten:

Reagenz/Komponente	ID	Menge
Verdünnungsmittel	L0	1 Flasche (110 mL)
Bindungsreagenz (immunomagnetische Partikel)	L1	10 Einzeldosen (10 x 1 mL)
Pufferlösung zum Spülen	L2	1 Flasche (200 ml)
Enzym-konjugierter Anti-Legionella-Antikörper	L3	10 Einzeldosen (10 x 1 mL)
Enzymatische Co-Substrate	L4	5 Tetra-Dosen (5 x 5ml)
Abbruch-Reagenz	L5	1 Flasche (2 mL)
Küvette	CB	10 Einheiten
Einmalpipette	DP	15 Einheiten

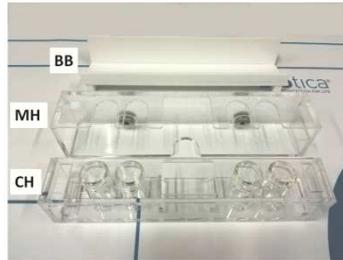
Der Magnetpartikel-Konzentrierer **MP4-Hunter (311-MP4-SP)** enthält die folgenden Komponenten:

MP4-Hunter (Best.-Nr. 311-MP4-SP ), Einheit		
Komponente	ID	Menge
Küvettenhalter für 4 Küvetten	311-MP4-CH	1
Magnethalter für 4 Küvetten	311-MP4-MH	1
Haltevorrichtung für Magnet-/ Küvettenhalter	311-MP4-BB	1

**Die Positionierauflage (311-MP4-TC)** vermeidet ungewollte Reaktionen zwischen den Magneten. Sollte keine Positionierauflage vorhanden sein, ist zwischen den Magneten ein Mindestabstand von 12 cm einzuhalten.



311-10 CB



311-MP4-SP

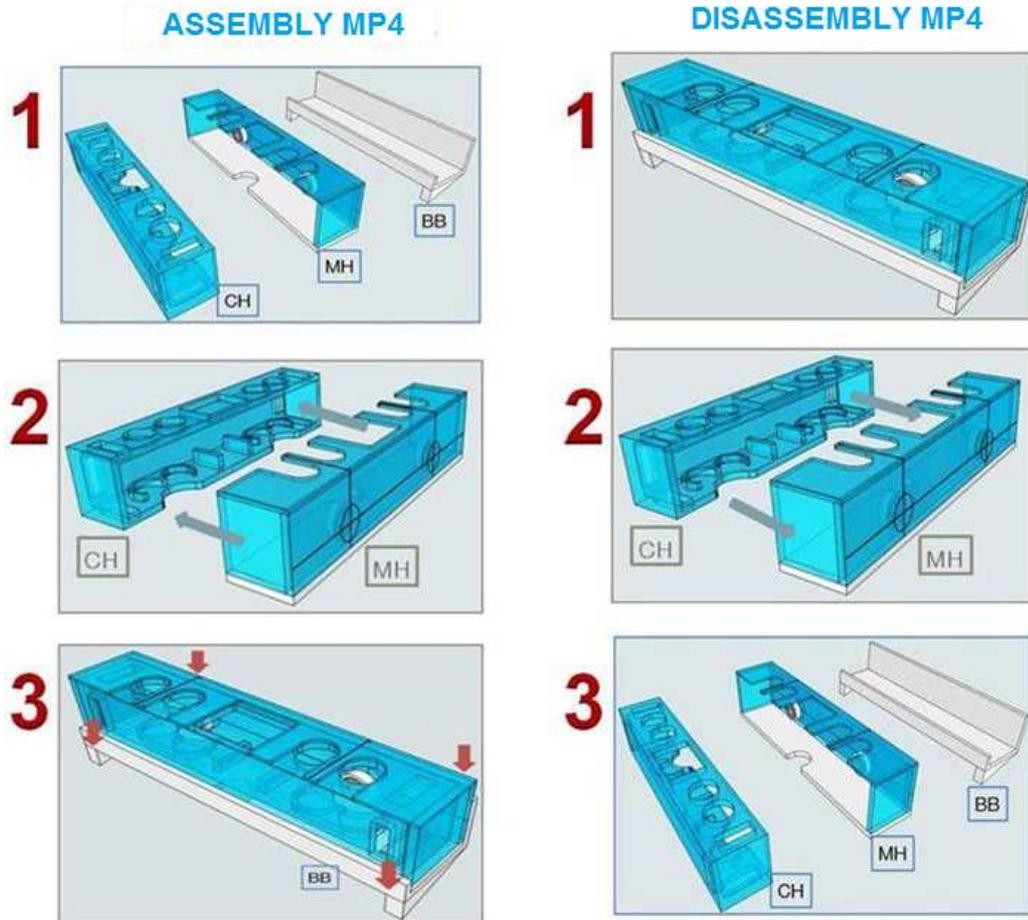
Die Montage und Demontage des Konzentrierers ist wie folgt:

### MONTAGE MP4

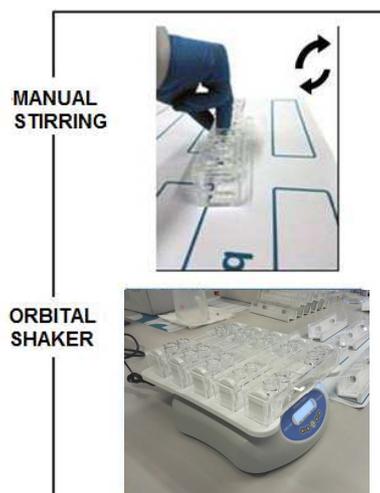
Setzen Sie die Küvetten in den Küvettenhalter ein (CH). Verbinden Sie den Küvettenhalter (CH) mit dem Magnethalter (MH); Bild 2. Setzen Sie die verbundenen Halter (CH und MH) mit leichtem Druck von vorne in die Haltevorrichtung (BB) und drücken Sie die Halter nach unten.

### DEMONTAGE MP4

Lösen Sie die Halter (CH und MH) aus der Haltevorrichtung (BB). Entfernen Sie den Magnethalter (MH) vom Küvettenhalter (CH).



Der Halter mit eingesetzten Küvetten (CH) kann entweder mit der Hand auf der Positionierauflage (311-MP4-TC) oder unter Verwendung eines Kreisschüttlers (311-MP4-AGT) geschüttelt werden.



#### IV. HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Nach Erhalt des Analyse-Kits muss dieses bei einer Temperatur von bevorzugt +4°C gelagert werden (mind. +2°, max. +8°C). Die Haltbarkeit der Reagenzien liegt bei vorgenannten Lagertemperaturen 5 Monate nach Herstellungsdatum. Alle Reagenzien sind mit einer Chargennummer und den Lagerbedingungen gekennzeichnet. Die Lagerbedingungen sind auch auf der Verpackung aufgeführt. Zusätzlich enthält die Analyseanweisung einen Code, die Chargennummer und das Ablaufdatum der Haltbarkeit der Reagenzien. Somit ist eine lückenlose Nachverfolgbarkeit aller Reagenzien gewährleistet. Bei Bedarf senden wir Ihnen gerne ein Zertifikat zu den Reagenzien.

#### V. ERFORDERLICHE AUSSTATTUNG (NICHT IM LIEFERUMFANG)

- ◆ Skalierte Flasche mit Schraubverschluss für das Waschen des Filters.
- ◆ Glasfaserfilter, 2.7µm Porengröße, zur Verwendung als Vorfilter (\*).
- ◆ Polykarbonatfilter, 0.4µm Porengröße.
- ◆ Abfallbehältnisse.
- ◆ Filtrationsapparatur (\*\*), für die Aufkonzentration der Wasserprobe durch Membranfiltration.
- ◆ Optional: Primelab (Best.-Nr. 911-10-PL) oder Kolorimeter S2B (Best.-Nr. 511-10-COL) und Messküvetten für eine Spektralphotometer-Messung (Best.-Nr. 511-10-04, Box mit 100 Stück).
- ◆ Optional: Vortex-Mixer oder Ultraschallbad für das Waschen des Filters (das Waschen kann auch manuell erfolgen).

(\*) Die Nutzung eines Glasfaserfilters, 2.7µm Porengröße, ist nur erforderlich, wenn stark verschmutzte Wasserproben gefiltert werden sollen.

(\*\*) Kontaktieren Sie EWK Kühlturm GmbH für detailliertere Informationen zu den empfohlenen Gerätschaften für die Analyse.

#### VI. SCHUTZMAßNAHMEN UND EMPFEHLUNGEN

- ◆ Der Test sollte von Personal mit geeigneter Ausbildung durchgeführt werden.
- ◆ Der Test wurde für folgende Substanzen entwickelt: Trinkwasser, natürliche und industrielle Wässer.
- ◆ Das Produkt ist bei normalem Gebrauch ungefährlich. Vermeiden Sie den Kontakt mit den Augen. Tragen Sie eine Augenschutzbrille.
- ◆ Vermeiden Sie den Kontakt mit der Haut durch das Tragen von Arbeitssicherheitshandschuhen (nähere Informationen im Sicherheitsdatenblatt).
- ◆ Achtung: Verschiedene Spezies können bei <math>10^6</math> CFU nicht detektiert werden (jedoch immer alle Spezies *Legionella pneumophila*).
- ◆ Produkte sind stabil. Es ist unwahrscheinlich, dass sie bei normaler Verwendung gefährdend reagieren.
- ◆ Das Produkt sollte entsprechend der lokalen Bestimmungen entsorgt werden.
- ◆ Die Genauigkeit des Tests hängt von der Einhaltung der folgenden Empfehlungen ab und von der korrekten Ausführung der Analyse, entsprechend der Versuchsanweisung:
  - Verwenden Sie die Reagenzien nicht nach dem Ablaufdatum.
  - Verwenden Sie für die Negativprobe/ Blindprobe das gleiche Lösungsmittel (L0) wie für die Probenvorbereitung (siehe Abschnitt A.).
  - Fertigen Sie für jeden Test eine Negativ- bzw. Blindprobe an (L0 Reagenz).
  - Lagern Sie die Reagenzien 30 Minuten vor Testbeginn bei Raumtemperatur (18-26°C).
  - Für eine optimale Homogenität schütteln Sie vor Gebrauch die Reagenz L1, Magnetpartikel, gründlich.
  - Führen Sie die Schritte des Waschens der Probe (mit Reagenz L2) gründlich durch.
  - **Entsorgen sie benutzte Küvetten. Verwenden Sie diese nicht erneut.**

V15.0 –REF. 311-10-01

- ◆ Lagern Sie vor Testdurchführung die erforderlichen Mengen an Einzeldosen und Tetra-Dosen (Reagenzien L3 und L4) für 30 Minuten bei Raumtemperatur.
- ◆ Nutzen Sie die Positionierauflage (311-MP4-TC). Falls nicht vorhanden, halten Sie einen Abstand von mind. 12cm zwischen den Magneten ein.
- ◆ **Die Reagenzien werden im Überschuss geliefert. Benutzen Sie keine Restmengen der Reagenzien.**

## VII. ANALYSEANWEISUNG

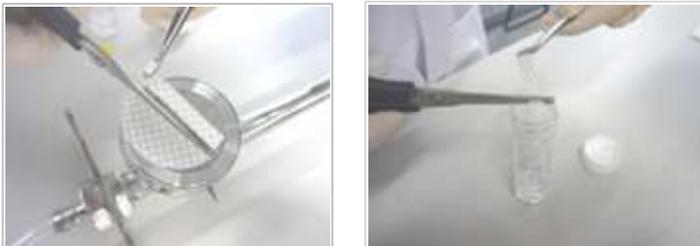
Wir empfehlen Ihnen, vor dem Test die Analyseanweisung sorgfältig zu lesen.

### A. Probenvorbereitung

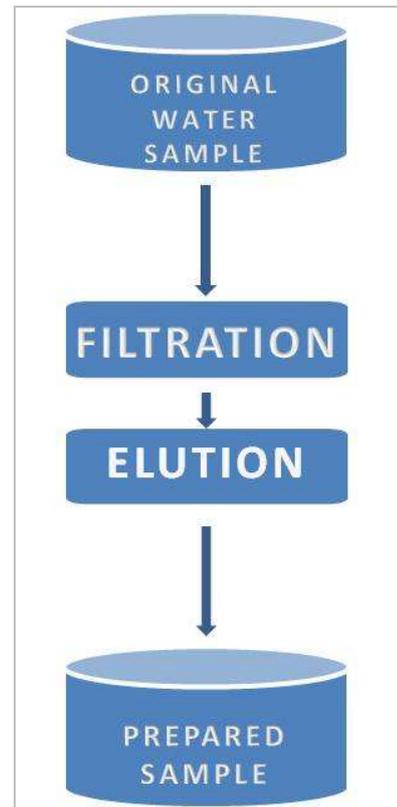
1. Probenahme; entnehmen Sie die zu analysierende Probe Ihrem System.
2. Füllen Sie 10 ml des Lösemittels L0 in eine Flasche.
3. Filtern Sie die zu analysierende Probe mit Hilfe eines Polykarbonatfilters mit 0,40 µm Porengröße. Für stark verschmutzte Proben nutzen Sie bitte einen Glasfaserfilter mit 2,7 µm Porengröße als Vorfilter (über dem Membranfilter).



4. Danach den Polykarbonatfilter vorsichtig der Filterapparatur entnehmen und in die, wie unter Schritt 2 beschrieben, vorbereitete Flasche mit dem Lösemittel, L0, geben. Optional können Sie den Filter mit einer Schere in Stücke schneiden. Wenn Sie einen Vorfilter genutzt haben, entfernen und entsorgen Sie diesen.



5. Waschen Sie den Filter im Lösungsmittel, L0, durch folgende Vorgehensweise:
  - a. Manuell (2 Minuten)
  - b. Vortex (2 Minuten)
  - c. Ultraschallbad (5 Minuten)



#### Hinweis:

Für jede Probencharge ist eine Negativprobe/ Blindwert mit dem gleichen Lösungsmittel (L0) anzusetzen.

Die Anweisung basiert auf dem Inhalt der DIN EN ISO 11731 Nachweis und Zählung von Legionellen im Trinkwasser.

**Die gewaschene Filterprobe ist die im Nachfolgenden bezeichnete vorbereitete Probe. Mischen Sie diese Probe intensiv vor dem Überführen in die Küvette!**

## **B. Analyse mit dem Legipid® Legionellen-Schnelltest-Kit**

### **Vor dem Analysestart:**

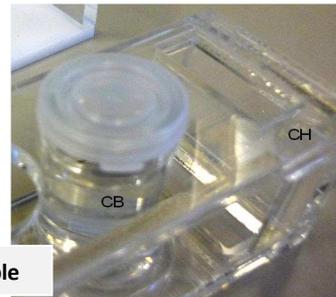
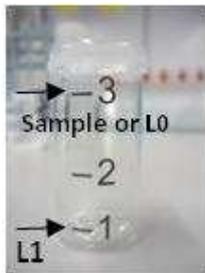
- **Entnehmen Sie nur die benötigten Einzel- und Tetradosen für eine 30-minütige Lagerung bei Raumtemperatur vor Analysebeginn.**
- Setzen Sie die benötigte Anzahl an Küvetten (CB) in den zugehörigen Küvettenhalter (CH).

### **B.1) BINDUNGSSCHRITT**

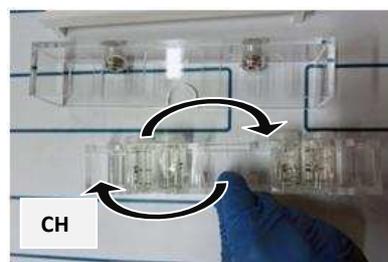
**1. Mischen Sie L1 durch wiederholtes Drehen der Einzeldosis, bis Sie eine homogene Suspension erhalten.** Dann fügen Sie jeweils eine Dosis L1 in die zugehörige Küvette.



**2. Füllen Sie in die Kontrollküvette (C, für die Blind- bzw. Negativprobe) Reagenz L0 bis zur Linie "3" (9ml) – nur eine Negativprobe je Probenbatch. Füllen Sie nun die vorbereitete (gefilterte und in L0 aufgelöste) Probe in die Testküvette (T) bis zur Linie "3" (9ml). Achten Sie darauf, dass keine Filterpartikel mit in die Küvette überführt werden.**



**3. Setzen Sie die Kappen auf die Küvetten.** Schwenken Sie den Küvettenhalter (CH) (OHNE MAGNETHALTER) vorsichtig horizontal (liegende Küvetten). Alle 3 Minuten 3 Mal, für insgesamt 15 Minuten.



**4. Entfernen Sie die Kappen der Küvetten (in aufrechter Position) und entsorgen Sie diese.**

Montieren Sie den MP4 (siehe Seite 5) und stellen Sie ihn in Position auf der Positionierauflage (TC). Warten Sie 5 Minuten, so dass sich die Magnetpartikel am Magneten sammeln können.

**5. Entfernen Sie den Überstand indem Sie die Küvetten an der gegenüber liegenden Seite des Magneten entleeren.**



**6. Demontieren Sie den MP4 und stellen Sie den Küvettenhalter (CH) aufrecht auf die Positionierauflage (TC). Jetzt fügen Sie Reagenz L2 bis zur Linie 2 (4,5ml) in jede Küvette.**

**7.** Mischen Sie OHNE KAPPEN auf der Positionierauflage den Küvettenhalter (CH) durch energisches Schwenken für eine gute Resuspendierung für **10 Sekunden**.

**8.** Montieren Sie den MP4, stellen Sie ihn auf seine Position der Positionierauflage (TC) und warten Sie **3 Minuten** , damit sich die magnetischen Partikel am Magneten sammeln können.

**9.** Entfernen Sie den Überstand durch Entleeren der Küvetten auf der gegenüberliegenden Seite des Magneten.

## **B.2) MARKIERUNGSSCHRITT**

**1.** Demontieren Sie den MP4 und stellen Sie den Küvettenhalter auf die Positionierauflage (TC). Fügen Sie eine Einzeldosis der Reagenz **L3** (1ml) in jede Küvette.



**2.** Mischen Sie OHNE KAPPEN auf der Positionierauflage durch energisches Schwenken des Küvettenhalters (CH) für eine gute Resuspendierung für **10 Sekunden**. Danach den Küvettenhalter vorsichtig alle 2 Minuten für 10 Minuten schwenken.

**3.** Montieren Sie den MP4, stellen Sie ihn auf seine Position der Positionierauflage (TC) und warten Sie **3 Minuten** , damit sich die magnetischen Partikel am Magneten sammeln können.

**4.** Entfernen Sie den Überstand durch Entleeren der Küvetten auf der gegenüberliegenden Seite des Magneten

**5.** Demontieren Sie den MP4 und stellen Sie den Küvettenhalter (CH) aufrecht auf die Positionierauflage (TC). Jetzt fügen Sie Reagenz **L2 bis zur Linie 2** (4,5ml) **in jede Küvette**

**6.** Mischen Sie OHNE KAPPEN auf der Positionierauflage den Küvettenhalter (CH) durch energisches Schwenken für eine gute Resuspendierung für **10 Sekunden**



**7.** Montieren Sie den MP4, stellen Sie ihn auf seine Position der Positionierauflage (TC) und warten Sie **3 Minuten** , damit sich die magnetischen Partikel am Magneten sammeln können.

**8. Wiederholen Sie die Schritte 4, 5, 6 und 7 (dieses Abschnitts B.2 MARKIERUNGSSCHRITT) zweimal.**

### B.3) DETEKTIONSSCHRITT

**1.** Entfernen Sie den Überstand durch Entleeren der Küvetten auf der gegenüberliegenden Seite des Magneten. Demontieren Sie den MP4 und stellen Sie den Küvettenhalter (CH) aufrecht auf die Positionierauflage (TC).

**2.** Bereiten Sie Reagenz L4 vor (eine Flasche reicht für 4 Tests): Entfernen Sie den Kunststoffverschluss und drücken Sie das Ventil vollständig herunter. Schütteln Sie die Flasche jetzt kräftig für 10 Sekunden. Sobald Reagenz L4 vorbereitet ist, sollte sie umgehend verbraucht werden.

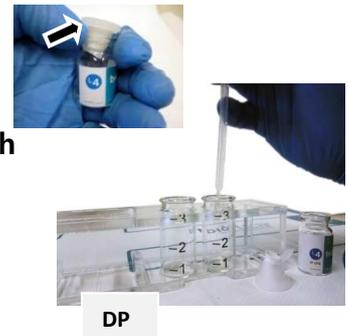


**3.** Öffnen Sie die homogenisierte Flasche L4 direkt vor dem Gebrauch mit einem leicht seitlichen Druck auf den Deckel.

**4. Dosieren Sie mit einer Einmalpipette (DP) umgehend Reagenz L4 bis zur Linie 1 (1 ml) in jede Küvette. Beginnen Sie das Mischen durch energisches Schwenken in den ersten 10 Sekunden,**

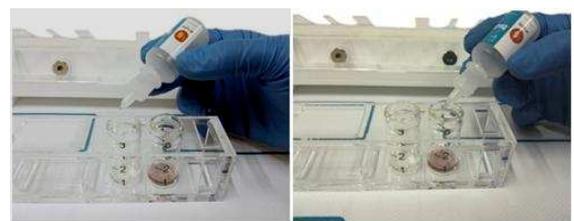
um die Partikel zu resuspendieren. Mischen Sie auf der Positionierhilfe durch **vorsichtiges Schwenken für insgesamt 2 Minuten.**

(Hinweis: Zeitnahme Schwenken ab der ersten Zugabe von L4)



**5.** Stoppen Sie das Mischen. Fügen Sie **3 Tropfen L5** (100 µl) in jede Küvette und mischen Sie durch **vorsichtiges Schwenken** auf der Positionierauflage für **5 Sekunden.**

(Hinweis: Fügen Sie Reagenz L5 in derselben Reihenfolge zu, wie die Reagenz L4)



**Control (C)**

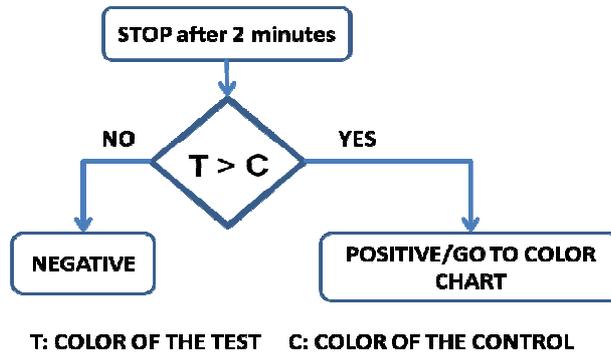
**Test (T)**

**6.** Montieren Sie den MP4, stellen Sie ihn auf seine Position der Positionierauflage (TC) und warten Sie **5 Minuten** , damit sich die magnetischen Partikel am Magneten sammeln können

## C. INTERPRETATION UND BERICHT TESTERGEBNISSE

### C.1. Visuelle Interpretation

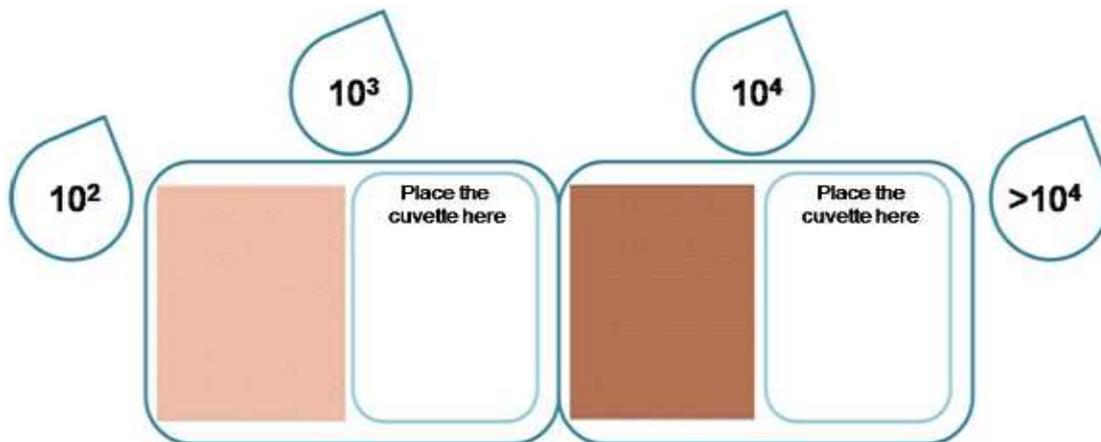
Die visuelle Interpretation der Testergebnisse ist im nachfolgenden Diagramm zusammengefasst:



**Das Ergebnis des Tests (T) wird als POSITIV bewertet, wenn** der Test (T) eine intensivere Färbung aufweist, als die Negativ-/Blindprobe (C) nach **2 Minuten**, beginnend vom Beginn der kolorimetrischen Reaktion. Die Abschätzung der Konzentration an *Legionellen spp.* in der Probe kann durch einen Vergleich der Farbe des Tests (T) mit den Farben der nachfolgenden Farbtabelle gemacht werden.

**Farbtabelle** Stellen Sie die Testküvette (T) an die vorgegebenen Positionen.

Ergebnis als CFU / vorbereitete Probemenge



Farbe Probe schwächer als linke Farbkarte: bis zu  $10^2$  CFU / vorbereitete Probemenge.

Farbe Probe schwächer als die rechte Farbkarte: bis zu  $10^3$  CFU / vorbereitete Probemenge.

Farbe gleich oder stärker als die rechte Farbkarte:  $\geq 10^4$  CFU / vorbereitete Probemenge.

**Das Testergebnis der Probe (T) wird als NEGATIV bewertet, wenn** der Test (T) keinen Farbunterschied zur Negativ-/ Blindprobe (C) aufweist, 2 Minuten nach Beginn der kolorimetrischen Reaktion.

## C.2. Optische Messung

**(1)** Überführen Sie die Überstände (Negativ-/ Blindwert (C) und Probe (T)) in die zugehörige Messküvette.

*Wichtiger Hinweis: Pipettieren Sie den Überstand von der gegenüberliegenden Seite des Magneten und achten Sie darauf, dass Sie keine am Magnet haftenden Partikel mit überführen.*

**(Sollten Sie als Gerät ein Primelab zur Verfügung haben, folgen Sie den Anweisungen des Primelab. Wenn Sie ein anderes Kolorimeter nutzen, machen Sie mit den unten aufgeführten Schritten weiter.)**

**(2)** Messen Sie die Absorption bei 429 nm einer mit destilliertem Wasser gefüllten Messküvette. Nullen Sie die gemessene Absorption.

**(3)** Messen Sie die Absorption bei 429 nm des Überstandes von der Negativprobe/ dem Blindwert (C) als Referenz. Nullen Sie die gemessene Absorption.

**(4)** Messen Sie die Absorption des Überstandes der jeweilig zu messenden Probe (T). Lesen Sie umgehend ab: immer innerhalb von 10 Minuten nach Ende der kolorimetrischen Reaktion.

*Hinweis: Wenn die Schichttiefe der Messküvette nicht 10 mm beträgt, ist eine Schichttiefenkorrektur erforderlich. Bitte folgen Sie in diesem Fall der Bedienungsanleitung für Ihr Photometer.*

**Negative** Ergebnisse - Testergebnisse von Proben mit einer relativen Absorption unterhalb des Cutoff-Wertes ( $A_r = 0.04$  Einheiten) sind negativ und werden nicht berücksichtigt bei der Auswertung.

**Positive Ergebnisse** — Testergebnisse von Proben mit einer relativen Absorption oberhalb des Cutoff-Wertes ( $A_r = 0.04$  units) sind positiv und werden als DETEKTIERT bewertet.

**(5)** Bei positiven Ergebnissen, erhalten Sie den  $\log_{10}$  der relativen Absorbanz.

**(6)** Berechnen Sie die Konzentration von *Legionella spp.* im vorbereiteten Probenvolumen, indem Sie den  $\log_{10}$  der relativen Absorption ( $A_r$ ) in die folgende Formel einsetzen:

$$y = 2.3061 x + 4.9815, \text{ wo } x = \log_{10} (A_r) \text{ and } y = \log_{10} (\text{CFU} / \text{volume examined})$$

**(7)** Das Ergebnis erhalten Sie, wenn Sie den Logarithmus invers transformieren:

$$\text{Kontamination (CFU / vorbereitetes Probenvolumen)} = 10^y$$

*Hinweis: Wenn gewünscht, können Sie eine Excel-Tabellenkalkulation bei uns anfragen, mit dem Sie die Konzentration berechnen können.*

**Am Ende der Messungen entleeren und entsorgen Sie die Küvetten. Verwenden Sie die Küvetten oder Restmengen der Reagenzien nicht noch einmal.**

## VIII. CONFIRMATION OF POSITIVE RESULTS

Für die Zertifizierung nach AOAC-RI wurde ein mutmaßlich positiver Befund ausgewählt, analysiert nach Legipid® *Legionellen-Schnelltest* und wurde durch standardisierte Methoden im Kulturverfahren bestätigt (z.B. DIN EN ISO 11731: 1998). Probevolumen der vorbereiteten Probe 0.1-0.5 ml. Bei nicht übereinstimmenden Ergebnissen zwischen Legipid® *Legionellen-Schnelltest* und der angewandten Methode zur Bestätigung derselben, sollten Sie entsprechende Schritte zur Validierung der Ergebnisse durchführen. Eine positive Abweichung kann darin begründet sein, dass bei Kulturverfahren zu wenige Zellen gewachsen sind (lebensfähige, aber nicht kultivierbare Zellen -VBNC-, Biozönosen, die das Legionellenwachstum einschränken etc.), oder ein unzureichendes „Waschen“ entsprechend der Analyseanweisung, wie unter B.2) Markierungsschritt aufgeführt.

## IX. MERKMALE UND BEWERTUNG DES TESTS

Legipid® *Legionellen-Schnelltest-Kit* ist ein schneller und einfacher Test für die Detektion von *Legionella spp.* in Wasserproben. Die untere Nachweisgrenze bei visuellem Farbvergleich beträgt 93 CFU / vorbereitetes Probenvolumen (LOD50). Mit der optischen Messung beträgt die untere Nachweisgrenze 40 CFU / vorbereitetes Probenvolumen; wiederholbare Ergebnisse können hier ab 60 CFU / vorbereitetes Probenvolumen erzielt werden.



Legipid® *Legionellen-Schnelltest* ist registriert beim AOAC-Research Institute bei Testmethoden für Trinkwasser, natürlichem Wasser und industriellem Wasser. Zertifikat-Nr. 111101.

## X. VERWEISE

1. International Organization for Standardization. 1998 ISO 11731: 1998. Water quality - Detection and enumeration of Legionella.
2. International Organization for Standardization. ISO 11731-2 2004: 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. Ragull S, M Garcia-Nunez, Pedro-Botet ML, Sopena N, Esteve M, Montenegro R, et al Legionella pneumophila in Cooling Towers: Fluctuations in Counts, Determination of Genetic Variability by Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and Persistence of PFGE Patterns. Applied and Environmental Microbiology, 2007; 73: 5382-5384
4. Alleron L, Frère J, Merlet N, Legube B. Monochloramine treatment you induce a viable but non culturable state into planktonic and biofilm Legionella pneumophila Populations „ In N. P. Cianciotto, Y. Abu Kwaik, P. H. Edelstein, B.S. Fields, D.F. Geary, T. G. Harrison, C. Joseph, R.M. Ratcliff, J. E: Stout, and M.S. Swanson (eds.), Legionella: state of the art 30 years after ITS recognition, ed. ASM Press, Washington, DC. 2006. p. 533-537
5. Steinert M, L Emody, Amann R, Hacker J. Resuscitation of feasible nonculturable but Legionella pneumophila JR32 by Acanthamoeba castellanii Philadelphia. Applied and Environmental Microbiology, 1997; 63: 2047-2053.
6. Garcia, M. T., Jones, S., Pelaz, C., Miller, R. D. & Abu Kwaik, Y. (2007). Acanthamoeba Polyphaga feasible resuscitates non-culturable Legionella pneumophila after disinfection. Environ. Microbiol. 9, 1267-1277.
7. Pilar Delgado-Viscogliosi et al. 2005. Rapid Method for Enumeration of Legionella pneumophila feasible and Other Legionella spp in Water. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 71, No. 7, p.4086-4096.

**ACHTUNG:** Nutzen Sie das Produkt nur für Umweltanalysen

<p><b>Lot No.:</b></p> <p><b>Expiry date from manufacturing:</b></p>	<p>For Technical assistance contact:          Biótica, Bioquímica Analítica, S.L.          Parque Científico y Tecnológico, Universidad Jaime I          Edif. Espaitec 2, ground flooe, lab 2          12071 – Castellón, España          www.biotica.es info@biotica.es          Tel.: +34 964108131 Fax: +34 964737790</p>	
--	---	---

FAST GUIDE TEST LEGIPID® LEGIONELLA FAST DETECTION - PACK 10 - SCOPE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE						
Filtration FM = Membrane Filter; PF = Prefilter ; M.O. =Original Sample M.P. = Prepared Sample						
Component / Reagent	Vol (ml)	Units	Handling characteristics			
FM	—	1	Polycarbonate 0.40 µm		Placing in the vacuum system	
PF	—	1	Fiberglass 2.7 µm (very dirty samples only)		Depositing PF on the FM	
M.O.	1000	—	Actuate the vacuum system to filter		Annotate vol. really filtering	
L0	10	—	Eluir FM (descartar el PF), SHAKING options:			
			Manual, 2 min		Vortex, 2 min	Sonication, 5 min
M.P.	9	—	Analyze as soon as possible (or reserve ≤ 24 hours at 2-8 ° C)			
Analysis C = negative control; T = test; CH = cuvette holder; M.P. = prepared sample (eluate)						
Step 1 Capture - Insert the cuvettes in the cuvette holder (CH)						
Cuvette	Reagent	Line	ROCKING AGITATION		MAGNET	HANDLING
C, T	L1	1	—		—	1 Complete dose-L1
C	L0	3	—		—	
T	M.P.	3	—		—	
			15 min suave CH HORIZONTAL ON MAT, WITH PLUGS		5 min MP4 ON MAT,WITHOUT PLUGS	EMPTYING
Step 2 Washing I - Add L2 on magnetic particles						
Cuvette	Reagent	Line	ROCKING AGITATION		MAGNET	HANDLING
C, T	L2	2	10 sec Shake energetically CH UPRIGHT ON MAT, WITHOUT PLUGS		3 min MP4 ON MAT,WITHOUT PLUGS	EMPTYING
Step 3 Labelling- Add L3 on magnetic particles						
Cuvette	Reagent	Line	ROCKING AGITATION		MAGNET	HANDLING
C, T	L3	1	10 sec Shake energetically		suspension	1 Complete dose-L3
C, T	—	—	10 min Gentle Sway CH UPRIGHT ON MAT, WITHOUT PLUGS		3 min MP4 ON MAT,WITHOUT PLUGS	EMPTYING
Step 4 Washing II - 3 TIMES - Add L2 on magnetic particles						
Cuvette	Reagent	Line	ROCKING AGITATION		MAGNET	HANDLING
C, T	L2	2	10 sec Shake energetically CH UPRIGHT ON MAT, WITHOUT PLUGS		3 min MP4 ON MAT,WITHOUT PLUGS	EMPTYING
Step 5 Detection DP: disposable pipette						
Cuvette	Reagent	Line	ROCKING AGITATION		MAGNET	HANDLING
C, T	L4	1 ml (DP)	10 sec Shake energetically		suspension	MIX L4 AND USE
C, T	—	—	complete to 2min Gentle Sway		suspension	STOP AGITATION AND ADD L5
C, T	L5	3 drops	5 sec Gentle Sway CH UPRIGHT ON MAT, WITHOUT PLUGS		5 min MP4 ON MAT,WITHOUT PLUGS	PUT SUPERNATANT INTO A SEMI-MICRO CUVETTE (QUANTITATIVE) or go to COLOR CHART (QUALITATIVE)