Condalab

Más de 60 años de conocimiento comprometido.

Inspired by knowledge

Nuestra historia. Trayectoria.

Dedicados a innovar.

Nuestra manera de ser nos impulsa a mejorar cada día a desarrollar nuevos retos, a evolucionar. Una esencia que se refleja en una trayectoria dinámica e innovadora, constantes desde nuestro nacimiento en 1960.

1960
Nacimiento de la marca

1970
Medios preparados

1980
Biología Molecular

1990
Marcas distribuidas

2000
Crecimiento internacional

2010
Biología celular

2020
Nueva imagen e instalaciones i+D

Qué hacemos. Ámbitos.

Microbiología.

La experiencia adquirida en el diseño y fabricación de medios de cultivo nos ha permitido convertirnos en empresa especialista en el campo de la microbiología.

Qué hacemos. Ámbitos.

Biología molecular.

Ampliando nuestra presencia dentro del ámbito de las ciencias de la vida, comercializamos productos específicos para la biología molecular.
En nuestro catálogo, ofrecemos el más amplio rango de medios para biología molecular y tampones, así como una línea completa de agarosas que cubren todos los de separación de ácidos nucleicos.

Qué hacemos. Ámbitos.

Bioingredientes.

Nuestros 60 años de experiencia nos han convertido en expertos en todo el proceso de desarrollo de medios de cultivo, y por eso ofrecemos todos los ingredientes necesarios para su fabricación.

Condalow®

Peptonas para cultivo celular.

Mejor rendimiento en tus cultivos.

Condalab

Inspired by knowledge

Condagene

Diagnóstico rápido de patógenos por qPCR

Jaime Martínez| Microbiology Product Manager

Inspired by knowledge

Condagene®: diagnóstico rápido de patógenos por qPCR | ¿Qué vamos a ver?

01 Fundamentos de la qPCR

02 Ventajas de la qPCR

03 Soluciones Condagene®

04 Protocolos de trabajo

05 Información adicional

XXI *WORKSHOP*
MÉTODOS RÁPIDOS Y AUTOMATIZACIÓN EN MICROBIOLOGÍA ALIMENTARIA
–memorial *DYCFung*–

There must be a better way to do microbiology
DYC Fung

2002·2023

Inspired by knowledge

01

Condagene

Fundamentos de la qPCR

Fundamentos de la qPCR | Reactivos y Etapas

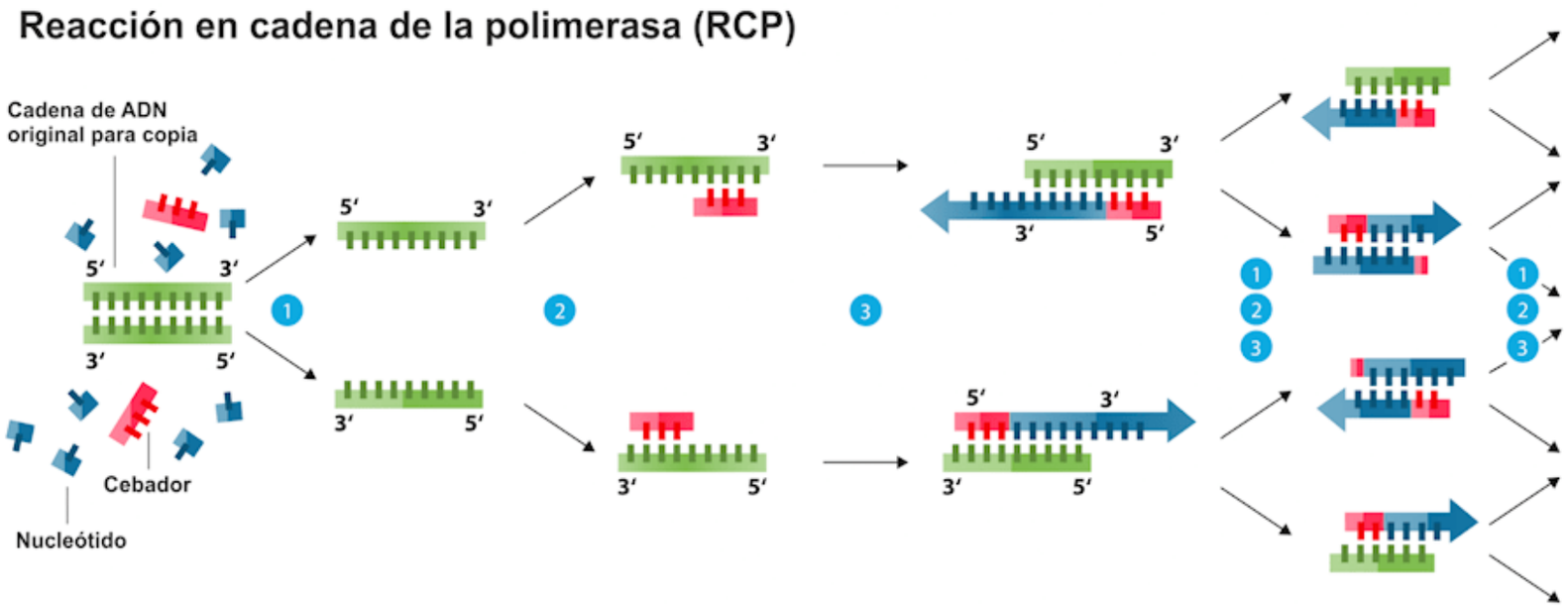
¿Qué es una PCR? Es una técnica de biología molecular desarrollada en 1986. Su objetivo es **obtener un gran número de copias** de un fragmento de ADN diana, partiendo de un **número mínimo** de copias (en teoría, con 1 copia sería suficiente para amplificar). Este alto número de copias obtenidos permite identificar este ADN y ser utilizado, entre otros fines, como **prueba diagnóstica**.

Reactivos

- ADN diana
- Primers o cebadores
- dNTPs (nucleótidos)
- Polimerasa (enzima)

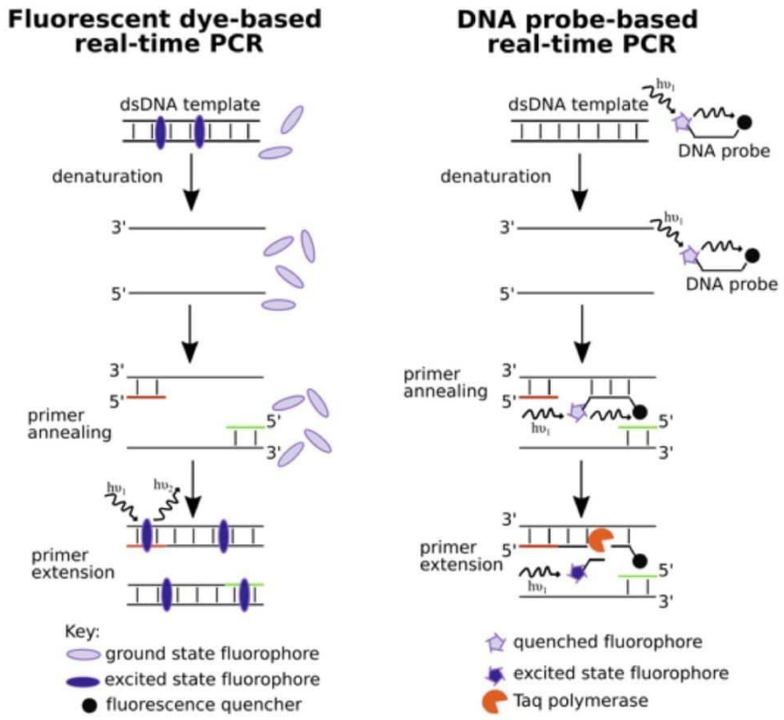
Etapas

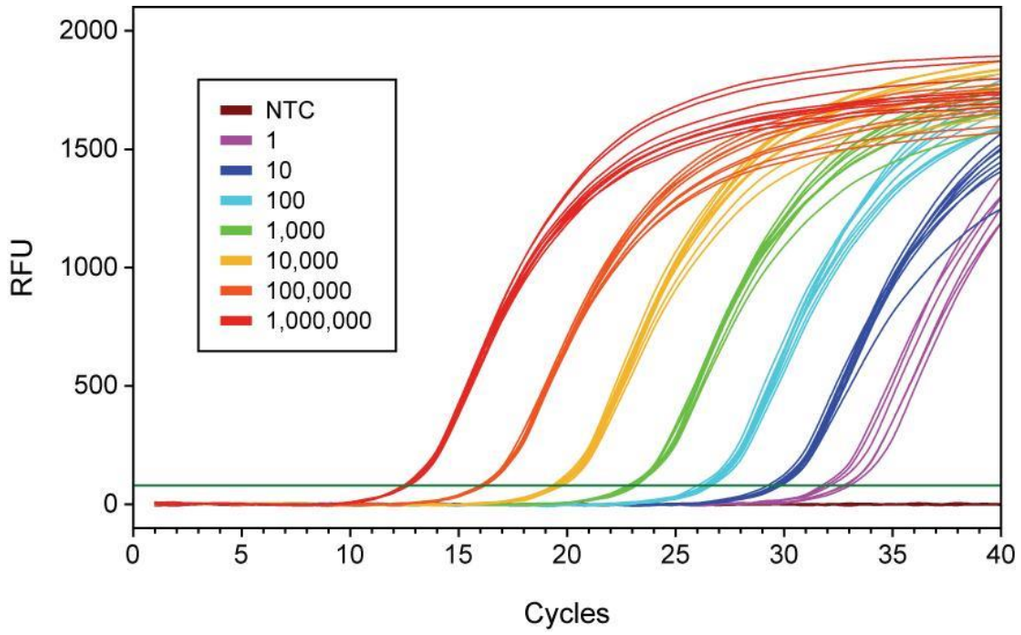
1. Desnaturalización
2. Hibidación
3. Extensión



Fundamentos de la qPCR | Detección en tiempo real

¿Qué diferencia hay entre una qPCR y una PCR convencional? La PCR cuantitativa o PCR en tiempo real (qPCR) es una variante de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizada para **amplificar y simultáneamente cuantificar** de forma absoluta el producto de la amplificación de ADN. Para ello emplea los mismos reactivos y etapas que una PCR convencional pero, a dicha mezcla se le adiciona una sustancia marcada con un **fluoróforo**. Esta sustancia permite medir la tasa de generación de los amplicones en un **termociclador** provisto de **sensores de fluorescencia.**





Inspired by knowledge

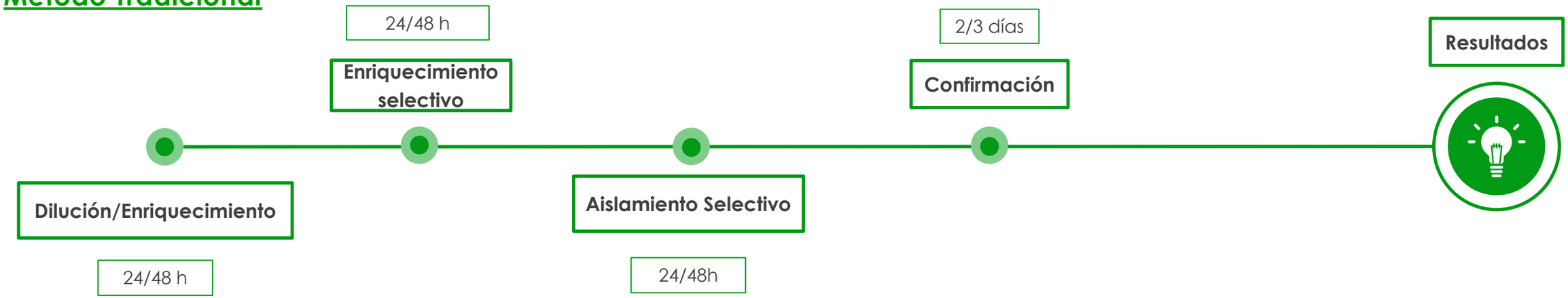
02

Condalene

Ventajas de la qPCR

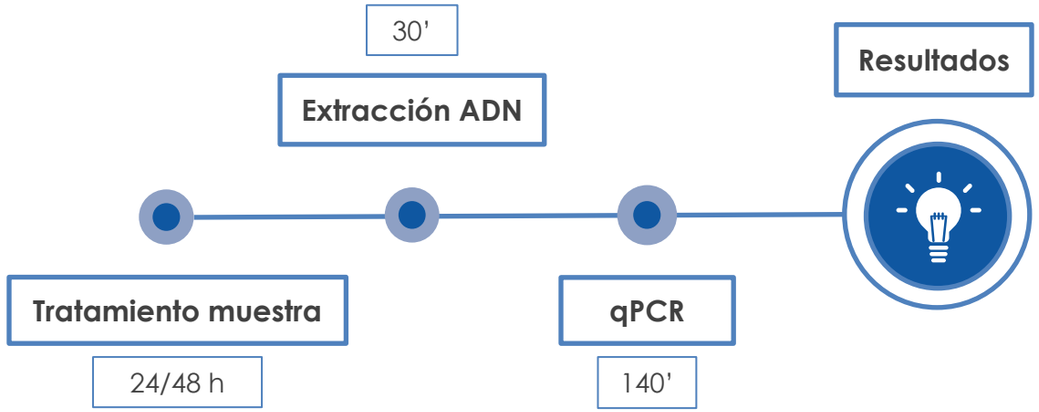
Ventajas de la qPCR | Comparativa métodos

Método Tradicional



¿Cuál es, por tanto, la primera y la ventaja más obvia?

Método qPCR



¡Tiempo a resultados!

Pero… ¿es la única?

Ventajas de la qPCR | Beneficios y limitaciones

¡¿Pero tiene alguna desventaja

esta maravillosa técnica?!

PROS

- Tiempo a resultados
- Negativos = no confirmación "*Screening*"
- Sensibilidad Especificidad
- Protocolos simples Automatizable

Ventajas de la qPCR | Beneficios y limitaciones

¡¿Pero tiene alguna desventaja esta maravillosa técnica?!

PROS

- Tiempo a resultados
- Negativos = no confirmación "*Screening*"
- Sensibilidad Especificidad
- Protocolos simples Automatizable

CONTRAS

- Células no viables Contaminación cruzada
- Correlación UG/UFC Transporte en frío

03

Condagene

Soluciones Condagene®

Soluciones Condagene® | Ventajas competitivas

1 ISO 22174:2005 REQUISITOS PCR

Monitorización de la rxn
- IPC (Control Interno de Proceso)
- Control Positivo
- Control Negativo

Sondas específicas
- No confirmación
- Liberación de lotes

3 PROTOCOLOS ISO/BAM/DIN

Métodos normalizados
- Verificación
- Informes de validación
- Referencia bibliográfica

2 MEDIDAS ADICIONALES DE SEGURIDAD

Resultados confiables
- Control UNG (Evita contaminación cruzada)
- PCR de viabilidad (evita falsos positivos)

4 ROBUSTEZ Y SIMPLICIDAD

Alta estabilidad
- Transporte y almacenaje a Tª ambiente
- Mínima manipulación

5 VERSATILIDAD Y COMPATIBILIDAD

- Protocolos sencillos
- Ciclos homogéneos (Multiplex)
- Sistemas abiertos

Soluciones Condagene® | Catálogo 2023

Extracción de ADN

Cat. 6500
Kit Extracción Condagene® Complex
Basado en buffer de lisis. Diseñado para la extracción de ADN en muestras con niveles muy altos de inhibidores.

Cat. 6501
Kit Extracción Condagene® Quick
Basado en buffer de lisis. Diseñado para la extracción de ADN en un único paso y con alta eficiencia.

Cat. 6502
Reactivo Condagene® ViableCell
Neutralización del ADN de células muertas y/o ADN libre que pudieran dar lugar a falsos positivos en PCR. Activación de reactivo mediante luz azul.

Detección de patógenos

Cat. 6515
Condagene® *Salmonella* spp. | Norma DIN 10135:2013-05

Cat. 6516
Condagene® *Listeria monocytogenes* | Método BAM (FDA)

Cat. 6517
Condagene® *Legionella* spp. | ISO/TS 12869:2019

Número de reacciones 100 rnx
Control positivo para 20 – 50 *runs*
Sondas: FAM y HEX

Reactivo	Color	Contenido
Master Mix	Verde	1 x 440 µL
Sondas & Cebadores	Azul	1 x 100 rnx
Control Positivo	Amarillo	1 x ($1x10^7$) UG
Agua grado PCR	Blanco	2 x 1500 µL

Inspired by knowledge

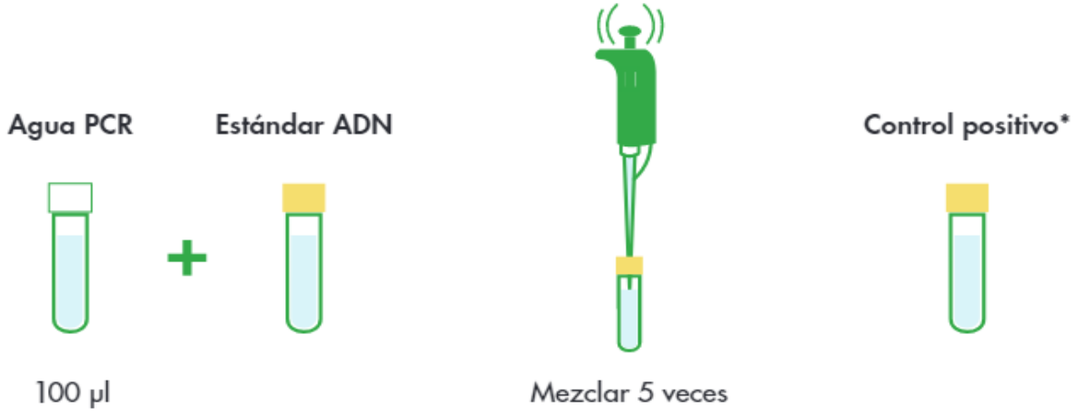
04

Condagene

Protocolos de trabajo

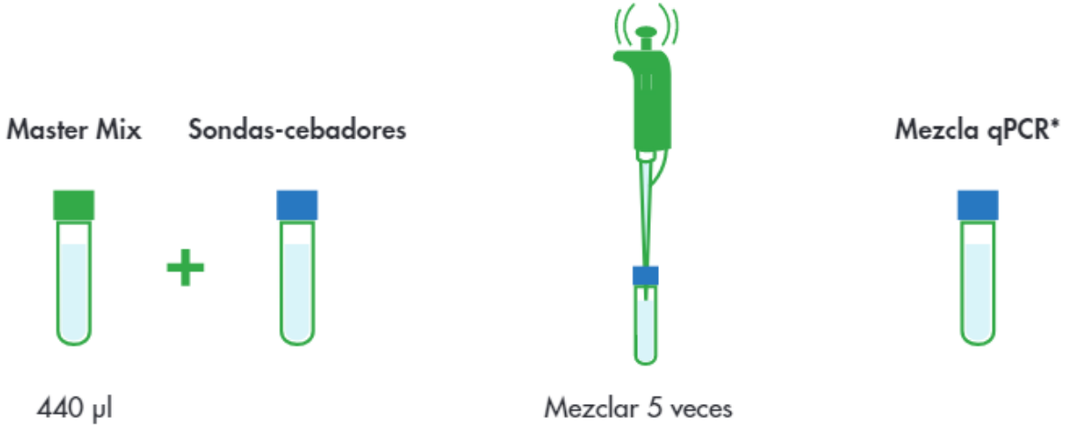
Soluciones Condagene® | Paso 0: Preparación Master Mix

1 Reconstitución del Control Positivo



2 Preparación de la Mezcla qPCR

*** Conservar a -20ºC**
8 Ciclos congelación y descongelación



Soluciones Condagene® | Paso 1: Tratamiento de Viabilidad (Opcional)

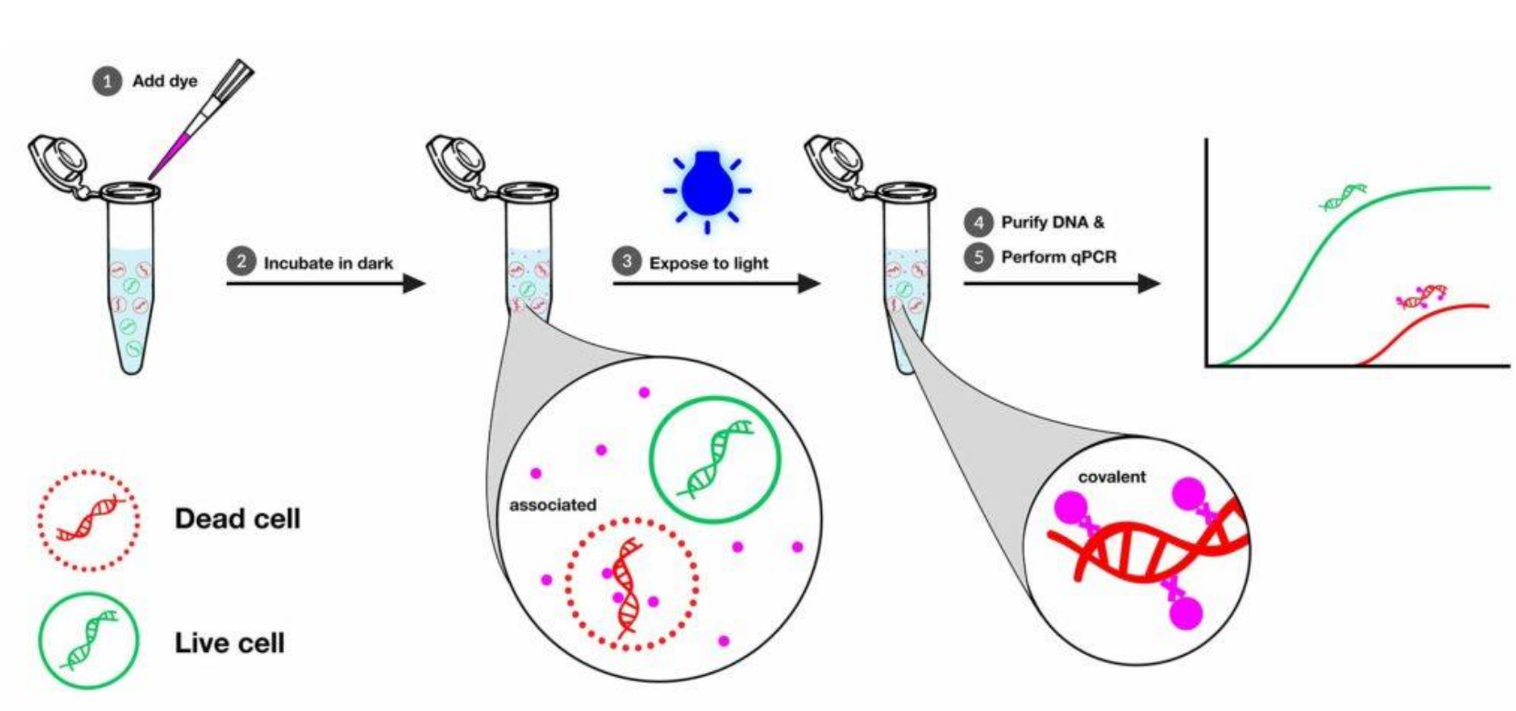
Mecanismo de acción

El reactive Condagene® ViableCell se une covalentamente al ADN libre, bloqueándolo e impidiendo que se amplifique.

Ventajas

Optimizado para su uso con los kits de detección Condagene®.

Protección frente a **falsos positivos.**



Soluciones Condagene® | Paso 2: Extracción del ADN

Mecanismo de acción
Kit de extracción basado en buffer de lisis.

Objetivo
Romper las células presentes en la muestra para obtener ADN (entre ellos, el ADN diana que será amplificado)

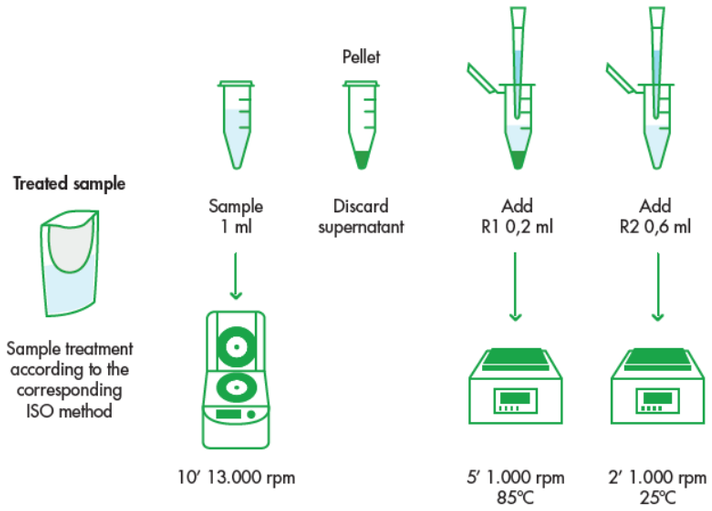
Advantages
Optimizado para su uso con los kits de detección Condagene®.

Minima influencia de la matriz alimentaria con un muy **bajo ratio de inhibición**.

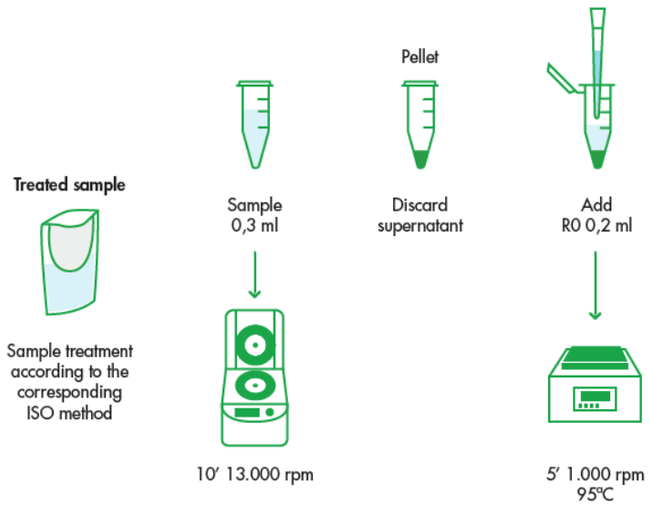
Rápido, fácil de usar y con **minima manipulación**.

CAT. 6500 | Condagene® Complex Extraction Kit

~30 min



CAT. 6501 | Condagene® Quick Extraction Kit



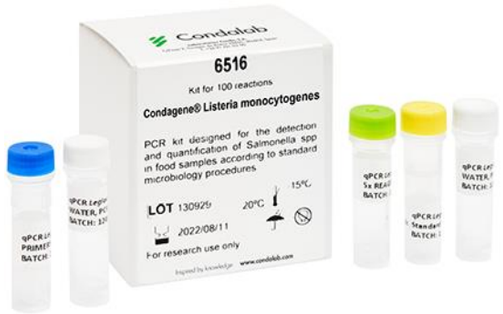
~15 min

Soluciones Condagene® | Paso 3: Detección de patógenos por qPCR

Cat. 6515 Condagene® *Salmonella* spp.

Acorde a la **DIN 10135:2013-05**

USOS
Detección en **ALIMENTOS**
(*Salmonella* spp)
100 rxn



Cat. 6516 Condagene® *Listeria monocytogenes*

Acorde a **protocolo BAM (FDA)**

USOS
Detección en **ALIMENTOS**
(*Listeria monocytogenes*)
100 rxn

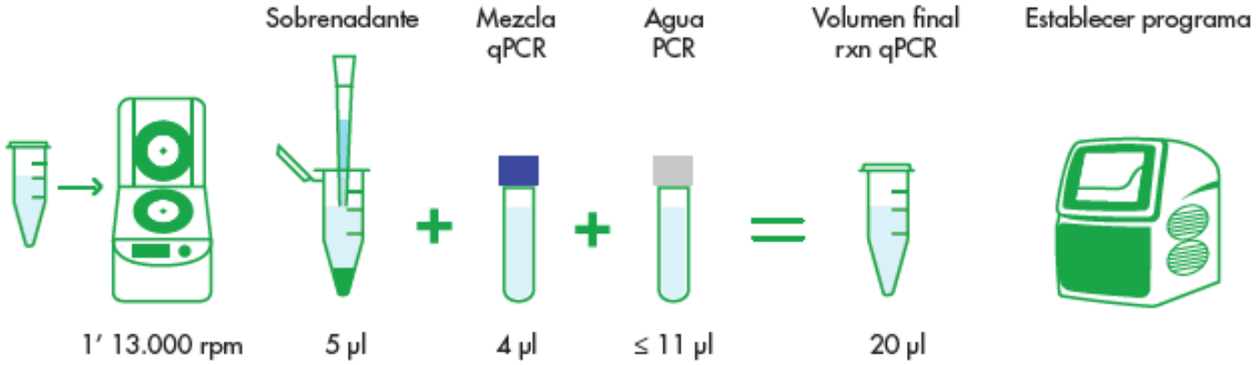
Cat. 6517 Condagene® *Legionella* spp.

Acorde a la **ISO 12869:2019**

USOS
Detección en **AGUAS**
(*Legionella* spp)
100 rxn

Soluciones Condagene® | Paso 4: PCR Setup y lectura de resultados

Detección de patógenos Condagene®



PARÁMETROS PROGRAMA

Activación inicial	95°C	3′
Amplificación		
• Desnaturalización	95°C	5″
• Extensión	60°C	40″
Total ciclos		45

ANÁLISIS DE RESULTADOS

FAM	HEX	Resultado
+	+	Muestra positiva
+	-	Muestra positiva
-	+	Muestra negativa*
-	-	Inhibición

*Posible inhibición

Inspired by knowledge

05

Condagene

Información adicional

Información adicional | Documentación técnica

1. Fichas técnicas
2. Fichas de seguridad
3. Certificados de Análisis
4. Instrucciones de uso
5. Informes de validación
6. Estudios de estabilidad

Información adicional | Informes y estudios

Informes de validación

- ✓ Inclusividad y exclusividad
- ✓ Sensibilidad del método
- ✓ Veracidad y precisión

Estudios de estabilidad

- Temperatura ambiente durante 14 días
- Ciclos congelación/descongelación 8
- Caducidad 18 meses

Condagene

TESTS

1. Pruebas de inclusividad y exclusividad:

Las secuencias de cebadores y sondas para *Legionella* spp usados en este kit son los propuestos en la ISO/TS12869:2019, en el punto 7.3.2. En la fecha de emisión de este informe su especificidad sigue siendo vigente conforme a las secuencias contenidas en el NCBI GenBank. Estas secuencias son las mismas que las publicadas en el trabajo de Wellinghausen et al (2001)[1], la inclusividad de las cuales fue verificada en multitud de cepas de *Legionella* spp (45). Estas secuencias se han usado en múltiples de trabajos científicos.

[1]Wellinghausen N, Frost C, Marre R. Detection of legionellae in hospital water samples by quantitative real-time LightCycler PCR. Appl Environ Microbiol. 2001;67(9):3985-3993. doi:10.1128/aem.67.9.3985-3993.2001

a) Prueba de inclusividad

Esta prueba corresponde al análisis de cepas pertenecientes al género *Legionella* spp, realizadas de manera directa por Condalab. **En todos los casos los resultados fueron positivos.**

NOMBRE	REFERENCIA	NOMBRE	REFERENCIA
L. anisa	ATCC® 35292	*L. longbeachae SG1*	ATCC® 33462
*L. birmingham*ensis	ATCC® 43702	*L. macsacherni*	ATCC® 35300
L. bozemanii	ATCC® 33217	*L. micdadei*	CECT®7760
L. cherrii	ATCC® 35252	*L. oakridgensis*	ATCC® 33761
L. cincinnatiensis	ATCC® 43753	*L. pneumophila SG 6*	ATCC® 35299
L. dumoffii	ATCC® 33279	*L. pneumophila subsp fraseri*	ATCC® 33215
L. erythra	ATCC® 35303	*L. parisiensis*	ATCC® 33156
L. feeleii	ATCC® 35072	*L. santicrucis*	ATCC® 35248
L. gormanii	ATCC® 33342	*L. tucsonensis*	ATCC® 49180
L. hackeliae	ATCC® 35250	*L. wadsworthii*	ATCC® 33877
L. jordanis	ATCC® 33623	*Legionella* spp* (n=4)	-
L. lansingensis	ATCC® 43751	*L. pneumophila** (n=12)	-

*Cepas ambientales de aislados diferentes, conforme a ISO 11731, en laboratorio acreditad bajo norma ISO 17025.

b) Pruebas de exclusividad

Esta prueba corresponde al análisis de cepas distintas al género *Legionella* spp., que pueden ser filogenéticamente cercanas o con las que podrían compartir nicho ecológico. **En todos los casos los resultados fueron negativos.**

A continuación, se describen las cepas evaluadas de manera directa por Condalab:

NOMBRE	REFERENCIA	NOMBRE	REFERENCIA
Bacillus subtilis	ATCC® 6051	*Klebsiella oxytoca*	ATCC® 13182
Burkholderia cepacia	ATCC® 25608	*Klebsiella aerogenes*	ATCC® 13048
Aeromonas hydrophila	ATCC® 7966	*Listeria monocytogenes*	ATCC® 13932

3

Condagene

Datos adicionales

Recuperación, Robusteza e Incertidumbre del método.

Siguiendo las especificaciones del ISO/TS (puntos 10.6, 10.7, 10.8), este ensayo ha sido realizado por un laboratorio externo A (acreditado según ISO 17025 para el ensayo ISO 11731:2017).

Información analítica: 0,2-1L muestra, filtro PES 0,22µm Ø, elución en 10mL Ringer 1/60 – tubo ensayo pyrex, 3 min ultrasonido, 10 min vórtex 1500 rpm. Purificación de ADN (alícuota 4 mL) con Kit de Extracción Condagene® Quick (Condalab, Cat. 6501). Equipo de PCR, BIO RAD CFX 96 deep well.

Recuperación:
La recuperación promedio por nivel debe obtener unos valores entre –0,6 u $\log_{10}$ y +0,3 u $\log_{10}$.

NIVEL INÓCULO (UG/L)	$LOG_{10}\eta X$
110.000	-0,18
3.000	0,11

10 muestras por nivel. Volumen filtrado, 1L.

Robusteza:
En este caso la robusteza se determina mediante la caracterización del efecto matriz. La recuperación no debería verse sustancialmente afectada por el tipo de matriz analizada. La recuperación promedio por nivel debe obtener unos valores entre –0,6 u $\log_{10}$ y +0,3 u $\log_{10}$.

MATRIZ	NIVEL INÓCULO (UG/L)	$LOG_{10}\eta X$
Torre Refrigeración	210.000	-0,60
	20.000	-0,45
Agua Caliente Sanitaria	210.000	-0,28
	20.000	-0,35
Agua Consumo	210.000	-0,13
	20.000	-0,27

5 muestras por nivel. Volumen filtrado, 0,2 L

Incertidumbre:
$U_{general} = 0,68$

Veracidad y precisión, qPCR vs Cultivo (ISO 11731).

De acuerdo con ISO 22118: 2011 (punto 5.2.1.1), la veracidad y precisión pueden evaluarse con el valor de las tasas de falsos positivos y falsos negativos. Utilizando materiales de prueba contaminados naturalmente analizados por un laboratorio externo B (acreditado por ISO 17025, de acuerdo con ISO 11731: 2017): filtración con procedimiento elución, matriz B (agua con fondo alto, Figura J1). Los concentrados de agua se analizaron mediante PCR en los laboratorios de Condalab, en modo ciego.

5

Información adicional | Termociclador CDL96

- **Sistema abierto y versátil.**
- **Alta sensibilidad y sistema óptico de precisión.**
- **4 canales** (posibilidad 6 canales).
- **Software totalmente intuitivo.**
- **Pantalla táctil de 10 pulgadas.**
- **Avanzado sistema de control de temperatura.**
- **Funciones de análisis de datos.**

¡MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN!

micro@condalab.com

C/ Forja, 9, Torrejón de Ardoz
28850 Madrid, Spain

T. +34 91 761 02 00 **www.condalab.com**