

# УТВЕРЖДЕНА

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для быстрой идентификации *Listeria monocytogenes* в реакции латекс – агглютинации, жидкого. (Латексная тест-система *Listeria monocytogenes*)

### 1. Назначение

«Латексная тест-система *Listeria monocytogenes*» предназначена для экспресс - выявления и идентификации микробных клеток *Listeria monocytogenes* при проведении лабораторных исследований и представляет собой набор из трех флаконов-капельниц емкостью 3 мл. Набор рассчитан на 100 определений.

### 2. Характеристика тест-системы

«Латексная тест-система *Listeria monocytogenes*» обеспечивает типоспецифическое выявление и идентификацию микробных клеток *Listeria monocytogenes* в суспензиях, полученных из колоний микроорганизмов, выращенных на пластинках МПА с 1% глюкозы, триптонсоевого агара с дрожжевым экстрактом, кровяном агаре. Специфической мишенью данного теста является углеводная фракция ЛПС *Listeria monocytogenes*.

#### 2.1. Аналитические и диагностические характеристики тест-системы

Чувствительность – не менее 99%: тест-система должна давать реакцию агглютинации латекса (РАЛ) с микробной взвесью штамма *L. monocytogenes*, штамм NCTC 7973 на 3(+) -4(+) в концентрации  $10^9$  м.к./мл.

Специфичность - не менее 95%: тест-система не должна давать положительной реакции со штаммами: *L. ivanovii* NCTC 19119 и *L. innocua* NCTC 11288 в концентрации  $1 \cdot 10^9$  м.к./мл

#### 2.2. Принцип действия

Микробные клетки *Listeria monocytogenes*, присутствующие в исследуемой пробе, взаимодействуют с латексными частицами, сенсibilизированными антителами против углеводной фракции ЛПС *Listeria monocytogenes* с последующим образованием видимых агглютинатов.

#### 2.3. Состав тест-системы

В состав «Латексной тест-система *Listeria monocytogenes*» входят:

– флакон – капельница № 1 с синей крышечкой (специфический латексный тест), содержит 0,5 % взвеси частиц монодисперсного полистирольного альдегидного латекса диаметром 0,8 мкм, сенсibilизированного иммуноглобулинами G, выделенными из сывороток крови кроликов, содержащих антитела к углеводной фракции ЛПС *Listeria monocytogenes*;

– флакон – капельница № 2 с зеленой крышечкой (контрольный латексный тест), содержит 0,5 % взвеси частиц монодисперсного полистирольного альдегидного латекса, сенсibilизированного иммуноглобулинами из сывороток крови не иммунизированных кроликов;

– флакон– капельница № 3 с белой крышечкой (позитивный контроль), содержит инактивированную нагреванием взвесь культуры *L. monocytogenes* (NCTC 7973), концентрация 10 единиц по ОСО 42-28-85 П.

–

### 3. Материалы и оборудование

- физиологический раствор, рН 6,9;
- механические дозаторы переменного объема.
- предметные стекла;
- стеклянные палочки.

### 4. Анализируемые образцы

Штаммы микроорганизмов, подозрительные на принадлежность к листериям, выделенные из клинического материала при проведении лабораторных исследований.

**Примечание – Анализируемые образцы не подвергать автоклавированию.**

## 5. Проведение анализа

5.1. На предметное стекло нанести 20 мкл физиологического раствора, стеклянной палочкой снять часть колонии тестируемого штамма и растереть в капле физ. раствора до получения гомогенной суспензии. Полученный образец использовать по п. 5.2.2

5.2.1. Извлечь необходимое количество упаковок латексной тест-системы из холодильника и выдержать при комнатной температуре 20 минут.

Примечание – перед применением флакон с латексным тестом тщательно перемешать до гомогенного состояния встряхиванием.

5.2.2. К исследуемому образцу (**колонии**), выделенному по ГОСТ Р 51921-2002 «Методы выделения и определения бактерий *Listeria monocytogenes*», дозатором нанести на предметное стекло каплю специфического латексного теста (**флакон – капельница № 1**) и оба компонента осторожно перемешать стеклянной палочкой до получения гомогенной суспензии. Реакционную смесь на стекле инкубировать при комнатной температуре 1 минуту, периодически покачивая, а затем регистрировать результаты реакции. Должна быть видимая агглютинация.

5.2.3. Проверка работы теста. К капле позитивного контроля (**флакон– капельница № 3**), нанесенного на предметное стекло, добавить по одной капле контрольного латексного теста (**флакон – капельница № 2**) и оба компонента осторожно перемешать стеклянной палочкой до получения гомогенной суспензии. Реакционную смесь на стекле инкубировать при комнатной температуре 1 минуту, периодически покачивая, а затем регистрировать результаты реакции. Агглютинация должна отсутствовать.

К капле позитивного контроля (**флакон – капельница № 3**), нанесенного на предметное стекло, добавить каплю специфического латексного теста (**флакон – капельница № 1**) и оба компонента осторожно перемешать стеклянной палочкой до получения гомогенной суспензии. Реакционную смесь на стекле инкубировать при комнатной температуре 1 минуту, периодически покачивая, а затем регистрировать результаты реакции. Должна быть агглютинация.

## 6. Регистрация и учет результатов

Учет результатов по п.п. 5.2.2, 5.2.3 провести через 1 минуту, руководствуясь таблицей и иллюстрацией.

**Таблица 1 – Интерпретация результата**

Колония может быть идентифицирована как <i>L. monocytogenes</i> при:	-наличии видимой агглютинации частиц после добавления к исследуемому образцу ( <b>колонии</b> ) специфического латексного теста ( <b>флакон – капельница №1</b> ). -наличии видимой агглютинации частиц после добавления к позитивному контролю ( <b>флакон– капельница №3</b> ) специфического латексного теста ( <b>флакон – капельница №1</b> ). -отсутствии агглютинации, фон равномерно мутный после добавления к исследуемому образцу ( <b>колонии</b> ) контрольного латексного теста ( <b>флакон - капельница №2</b> ).
Колония НЕ может быть идентифицирована как	-отсутствии агглютинации, фон равномерно мутный после добавления к исследуемому образцу ( <b>колонии</b> ) специфического латексного теста ( <b>флакон – капельница №1</b> ). -наличии видимой агглютинации частиц после добавления к позитивному

<i>L. monocytogenes</i> <b>при:</b>	контролю (флакон – капельница №3) специфического латексного теста (флакон – капельница №1).
Тест не работает, <b>когда:</b>	отсутствует агглютинация, фон равномерно мутный после добавления к позитивному контролю (флакон – капельница №3) специфического латексного теста (флакон – капельница №1).

### Иллюстрации к таблице интерпретации результатов:

Положительный  
результат

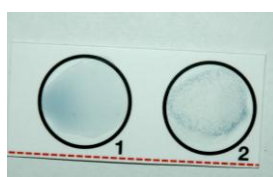


Исследуемый образец  
+  
Латексный тест

Позитивный контроль  
+  
Латексный тест

Исследуемый образец  
+  
Контрольный тест

Отрицательный  
результат



Исследуемый образец  
+  
Латексный тест

Позитивный контроль  
+  
Латексный тест

#### 4. Меры предосторожности

Подготовку материала для исследования и анализ проводят с соблюдением специальной техники безопасности в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней».

#### 7. Условия хранения и эксплуатации латексной тест-системы

Набор реагентов «Латексная тест-система *Listeria monocytogenes*» необходимо хранить в герметично закрытых флаконах в сухом защищенном от света месте при температуре 2-8 °С.

**Примечание – Набор реагентов не замораживать!**

Срок годности – 1 год. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества «Латексной тест-система *Listeria monocytogenes*» в течение срока годности, следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п.Оболensk, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» тел. 8 (4967) 36-00-79, 36-01-16