

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора для быстрой идентификации
Legionella pneumophila в реакции латекс – агглютинации, жидкого
«Латексная тест-система *L. pneumophila* серотип 1»

1. Назначение

«Латексная тест-система *L. pneumophila* серотип 1 » предназначена для экспресс - выявления и идентификации микробных клеток *Legionella pneumophila* при проведении лабораторных исследований и представляет собой набор из трех флаконов- капелек емкостью 3 мл. Набор рассчитан на 100 определений.

2. Характеристика тест-системы

«Латексная тест-система *L. pneumophila* серотип 1» обеспечивает типоспецифическое выявление и идентификацию микробных клеток *L. pneumophila* в суспензиях, полученных из колоний микроорганизмов, выращенных на пластинках угольно-дрожжевого агара, Легионелбакагара в микроаэрофильных условиях. Специфической мишенью данного теста является основной мембранный белок (p29) *L. pneumophila* серотип 1

2.1. Аналитические и диагностические характеристики тест-системы

Чувствительность – не менее 99%: тест-система должна давать реакцию агглютинации латекса (РАЛ) с микробной взвесью *L. pneumophila* штамм АТСС 33152 серотип 1 на 3(+) -4(+) в концентрации 10^9 м.к./мл.

Специфичность – не менее 95% тест-система не должна давать положительной реакции со штаммами *L. longbeachae* NCTC 11477 и *L. micdadei* NCTC 11731 в концентрации 10^9 м.к./мл

2.2. Принцип действия

Микробные клетки *L. Pneumophila* серотип 1, присутствующие в исследуемой пробе, взаимодействуют с латексными частицами, сенсibilизированными антителами против основного мембранного белка (p29) *L. pneumophila* серотип 1 с последующим образованием видимых агглютинатов.

2.3. Состав тест-системы

В состав «Латексной тест-система *L. pneumophila* серотип 1» входят:

– флакон – каплеуница № 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 основному мембранному белку (p29) *L. pneumophila* серотип 1

– флакон – каплеуница № 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 – каплеуница № 3 с белой крышечкой (позитивный контроль), содержит инактивированную нагреванием взвесь культуры *L. pneumophila* серотип 1, 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.

- состав угольно-дрожжевого агара (основа среды Legionella Cye Agar Base (Oxoid кат. № CM 0655), с добавлением L-цистеина гидрохлорида– 0,4% (HIMEDIA кат. № RM 046) и пирофосфата железа растворимого - 0,25% (Sigma).

- состав буферного угольно-дрожжевого агара (БУДРАГ, ВСУЕа) + ростовая добавка для среды БУДРАГ (ВСУЕа)

- Легионелбакагар готовят в соответствии с Инструкцией по применению.

4. Анализируемые образцы

- суспензии, полученные из колоний микроорганизмов, выращенных на плотной питательной среде (на этапе отбора подозрительных колоний, выращенных на среде с ростовой и селективной добавкой);

- суспензии, полученные из колоний микроорганизмов, выращенных на плотной питательной среде (на этапе идентификации вида, после выращивания на среде с селективной добавкой)

- суспензии, полученные из объектов внешней среды, представляющих эпидемическую опасность, путем специальной подготовки (суспензиях, полученных из осадка, взятого после смыва с мембранного фильтра).

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

5. Проведение анализа

5.1. Идентификация микробных клеток, подозрительных на *L. pneumophila*

На предметное стекло нанести 20 мкл физиологического раствора, стеклянной палочкой снять часть колонии тестируемого штамма и растереть в капле физиологического 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 латексный тест тщательно перемешать до гомогенного состояния встряхиванием.

5.2.2. К исследуемому образцу (см.п. 5.1), выделенному по МУ 3-1-2-2412-08 (раздел 5.1. Клиническая диагностика легионеллеза, раздел 5.2. Лабораторная диагностика легионеллеза.), МУК 4.2.2217-07 22 «Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды» и нанесенному на предметное стекло, капельницей добавить одну каплю специфического латексного теста (**флакон – капельница № 1**), 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, если в образце присутствует *L.pneumophila* серотип 1

5.2.3. **Проверка работы теста.** К капле из **флакона – капельницы № 3** (положительного контроля), нанесенного на предметное стекло, добавить капельницей одну каплю контрольного латексного теста (**флакон – капельница № 2**) и 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 одну 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.

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. pneumophila</i> серотип 1 при:	- наличии видимой агглютинации частиц латекса после добавления к исследуемому образцу (колонии) специфического латексного теста (флакон - капельница №1). - наличии видимой агглютинации частиц латекса после добавления к позитивному контролю (флакон - капельница №3) специфического латексного теста (флакон - капельница №1). - отсутствии агглютинации, фон равномерно мутный после добавления к исследуемому образцу (колонии) контрольного латексного теста (флакон - капельница №2).
Колония НЕ может быть идентифицирована как <i>L. pneumophila</i> серотип 1 при:	-отсутствии агглютинации, фон равномерно мутный после добавления к исследуемому образцу (колонии) специфического латексного теста (флакон - капельница №1). -наличии видимой агглютинации частиц после добавления к позитивному контролю (флакон - капельница №3) специфического латексного теста (флакон - капельница №1).
Тест не работает, когда	отсутствует агглютинация, фон равномерно мутный после добавления к позитивному контролю (флакон - капельница №3) латексного теста (флакон - капельница №1).

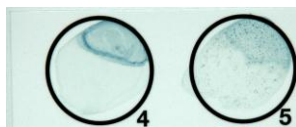
Иллюстрации к таблице интерпретации результатов:



Положительный результат

Исследуемый образец + Латексный тест Позитивный контроль + Латексный тест Исследуемый образец + Контрольный тест

Отрицательный результат



Исследуемый образец + Латексный тест Позитивный контроль + Латексный тест

6. 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 «Латексной тест-система *L. pneumophila* серотип 1» 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 *L.pneumophila* серотип 1» в течение срока годности, следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. 8 (4967) 36-00-79. 36-01-16.