

# Singlepath® L'mono

Для быстрого обнаружения и подтверждения *Listeria monocytogenes* в продуктах питания

## Введение

Листерии — грамположительные, не образующие спор палочковидные бактерии. Из шести известных видов рода *Listeria* особого упоминания заслуживает *Listeria monocytogenes* как патоген человека и животных, в то время как *L. ivanovii* является патогенным только для животных, а *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. grayi* и *L. welshimeri* считаются безвредные экологические бактерии.

Листерииоз, заболевание, вызываемое *L. monocytogenes*, проявляется не только в виде сепсиса, но также и прежде всего в виде менингита или даже энцефалита. Поскольку *L. monocytogenes* способен преодолевать плацентарный барьер, заражение беременной матери листерииозом представляет особый риск для плода или приводит к заражению новорожденного ребенка. *L. monocytogenes* также вызывает тяжелые инфекции у лиц с ослабленным иммунитетом. В связи с повсеместным распространением листерий и их способностью размножаться при температуре холодильника (от +2°C до +8°C) пищевые продукты являются одним из основных источников инфекции.

В связи с этим определение *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах и образцах окружающей среды абсолютно необходимо. Резкий рост случаев пищевых инфекций, вызванных *Listeria*, требует надежных и быстрых методов обнаружения. Помимо традиционных культуральных методов, иммунологические методы становятся все более популярными среди пользователей благодаря их лучшей специфичности и чувствительности.

Singlepath® L'mono — это иммунологический скрининг и чрезвычайно быстрый подтверждающий тест на *Listeria monocytogenes*, основанный на принципе иммунного потока и разработанный таким образом, чтобы избежать трудоемких и трудоемких рабочих операций для применения и интерпретации тестов.

## Использование

Singlepath® L'mono — это иммунохроматографический экспресс-тест на основе меченых золотом антител. Тестовое устройство имеет круглый порт для проб и овальное тестовое (Т) и контрольное (С) окно.

1. Образец наносится на хроматографическую бумагу через круглый порт для образца.
2. Образец абсорбируется через подушку в реакционную зону, содержащую коллоидные, меченые золотом антитела, специфичные к *Listeria monocytogenes*.
3. Любой присутствующий антиген *Listeria monocytogenes* образует комплексы с меченым золотом антителом и мигрирует через порт до тех пор, пока не встретит зону связывания в тестовой (Т) области.
4. Зона связывания (Т) содержит другое антитело против *Listeria mono-cytogenes*, которое иммобилизует любой присутствующий комплекс *Listeria mono-cytogenes*-антитело. Затем из-за золотой маркировки образуется отчетливая красная линия.
5. Остальная часть образца продолжает мигрировать во вторую зону связывающего реагента в пределах контрольной зоны (С), а также образует вторую отчетливую красную линию (положительный контроль). Независимо от того, присутствуют ли какие-либо *Listeria monocytogenes* или нет, эта четкая красная линия всегда формируется в контрольной зоне (С), что обеспечивает правильную работу теста.

## Материал образца / обогащение образца

### Скрининговый анализ

- Смешайте 25 г твердого образца или 25 мл жидкого образца с 225 мл полуконцентрированного бульона Фрейзера или бульона bLEB или L-PALCAM или бульона UVM-I и при необходимости гомогенизируйте с помощью гомогенизатора.
- Инкубируйте в течение 21-24 ч при +28 - 30°C или 35-37°C.
- Перенесите 0,1 мл в 10 мл забуференного бульона LEB или Fraser, или бульона L-PALCAM, или бульона UVM-II.
- Инкубируйте в течение 21-24 ч при +28 - 30°C или 35-37°C.
- Дайте остыть до комнатной температуры

### Подтверждающий анализ

На наличие *Listeria* spp. можно тестировать широкий спектр пищевых продуктов. или *Listeria monocytogenes* с использованием агаров, селективных к *Listeria* (например, PALCAM, Oxford, Chromoplate *Listeria*, Chromocult *Listeria* и т. д.). Однопутевой L'mono можно использовать для подтверждения подозрительных колоний *Listeria monocytogenes* на этих агарах.

- Подберите 1-3 подозрительных колонии
- Ресуспендируйте в 250 мкл бульона Brain-Heart (BHI), CASO, L-PALCAM или бульона Full Fraser и перемешайте.
- Инкубируйте в течение 1 ч при 37°C
- Дайте остыть до комнатной температуры

## Процедура анализа и оценка результатов

### Пробоподготовка

Перед использованием дайте обогащенному образцу и тестовому устройству нагреться до комнатной температуры (15-25°C).

### Процедура анализа

1. Снимите упаковку из фольги с необходимого количества устройств Singlepath® L'mono. Поместите тестовое устройство (устройства) на плоскую поверхность и наклейте соответствующую идентификацию образца. (Примечание: проведите тесты в течение 2 часов после открытия!)
2. С помощью микропипетки и одноразового наконечника наберите 150 мкл из обогащенного бульона.
3. Внесите 150 мкл образца в круглый порт для образцов на тестовом устройстве. В качестве альтернативы, используя одноразовую пипетку для переноса, сожмите грушу пипетки, вставьте стержень в образец и ослабьте давление на грушу. Это наберет образец в пипетку. Внесите 5 свободно падающих капель (около 150 мкл) в круглое отверстие для проб на тестовом устройстве.
4. Наблюдайте за результатом теста в течение 30 минут после нанесения образца на устройство.

## Интерпретация результатов

Тест можно считать выполненным правильно, если в контрольной зоне (С) в течение 30 минут появляется отчетливая красная линия.

Образец можно считать ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ, если по прошествии 30 минут или раньше красные линии появляются как в тестовой (Т), так и в контрольной (С) зонах.

Образец можно считать ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ, если в тестовой (Т) зоне не появляется красная линия, но отчетливо появляется в контрольной (С) зоне через 30 минут после нанесения образца на устройство.

Любой положительный результат, полученный с помощью скринингового анализа, должен быть подтвержден валидированным культуральным методом.

## Техническая спецификация

### Предел обнаружения

В зависимости от серотипа, ок.  $5 \times 10^6$  бактерий/мл или 1 колония на чашке с агаром можно считать нижним пределом обнаружения. Отрицательные результаты могут быть получены, если количество экстрагированного антигена ниже минимальной чувствительности тестов.

### Интерференция

Результаты, полученные на сегодняшний день на многочисленных образцах пищевых продуктов, показывают, что Singlepath® L'mono не взаимодействует с пищевыми ингредиентами.

Тест разработан на основе использования bLEB, UVM, L-PALCAM и бульон селективного обогащения Фрейзера от MERCK. Нельзя исключить влияние других типов бульонов для селективного обогащения и других торговых марок. В частности, использование бульона красно-коричневого цвета потенциально может маскировать слабые сигналы из-за фоновой окраски тестовой зоны.

Singlepath® L'mono продемонстрировал, что не обнаруживает *Listeria monocytogenes* в скрининговых анализах при более низких концентрациях в образце сырой говядины/говяжьего фарша и других пищевых продуктов с высокой фоновой флорой.

## Возможные проблемы

Проблема	Решение
Ни одна линия не появляется ни в одной из зон после 25-минутного периода тестирования.	Повторить анализ образца
Задержка в движении образца	Нанесите образец на панель наконечником и нитроцеллюлозной мембраной

## Предупреждения

Пользователи Singlepath® L'mono должны быть знакомы с подходящими асептическими методами выделения и идентификации *Listeria monocytogenes*. Необходимо соблюдать осторожность при работе с образцами, обогащением и устройствами.

## Утилизация

Обеззараживайте устройства Singlepath®, пробирки и пипетки с помощью автоклавирования, отбеливания и т. д. в соответствии с местными, государственными и федеральными нормами.

## Техническая поддержка

Если возникнут вопросы, обратитесь в тех. поддержку Вашего поставщика:

РФ: ООО "Неотест", support@neo-test.ru

РБ: ОДО "КомПродСервис", support@komprod.com

## Информация для заказа

Товар	Merck Арт. No	Количество
Singlepath® L'mono	1.04148.0001	25 тестов
Singlepath® Listeria	1.04142.0001	25 тестов
Brian Heart Broth (BHI)	1.10493.0500	500 г
Listeria enrichment broth, buffered (base)	1.09628.0500	500 г
Listeria selective enrichment supplement	1.11781.0001	16 виал
Fraser Listeria selective enrichment broth (base)	1.10398.0500	500 г
Fraser Listeria supplement	1.10399.0001	16 виал
L-PALCAM Listeria selective enrichment broth (base) acc. to van Netten et al.	1.10823.0500	500 г
PALCAM Listeria selective supplement	1.12122.0001	16 виал
UVM-Listeria selective enrichment broth modified	1.10824.0500	500 г
UVM-II supplement	1.04039.0001	16 виал
Chromoplate® Listeria Selective Agar acc. to Agosti and Ottaviani	1.00420.0020	20 пластин
Chromocult® Listeria	1.00427.0500	500 г
Oxford Listeria agar	1.07004.0500	500 г
Oxford Listeria selective supplement	1.07006.0001	13 виал
PALCAM Listeria agar acc. to van Netten et al.	1.11755.0500	500 г
PALCAM Listeria selective supplement	1.12122.0001	16 виал

## Дополнительные материалы и оборудование

1. Среда для обогащения, т.е. 1. 09628 Бульон для обогащения листерий, забуференный (базовый) в соотв. с FDA/BAM 1995 (bLEB), 1.11781 Добавка для селективного обогащения Listeria в соотв. с FDA/BAM 1995, 1.10398 FRASER Listeria селективный бульон для обогащения (базовый), 1.10399 FRASER Listeria Supplement, 1.10823 L-PALCAM Listeria селективный бульон для обогащения (базовый), 1.12122 PALCAM-Listeria-Selective-Supplement в соотв. van Netten et al., 1.10824 UVM Listeria селективный обогащенный бульон, модифицированный, 1.04039 UVM-II Supplement
2. Гомогенизатор / измельчитель
3. Инкубаторы +28°C - 37°C
4. Дистиллированная или деионизированная вода
5. Автоклав
6. Одноразовые пластиковые пипетки для переноса и/или соответствующие микропипетки и одноразовые наконечники.
7. Одноразовые прививочные петли



Singlepath® L'mono: Отрицательный результат теста



Singlepath® L'mono: Положительный результат теста

### Поставщик в России: ООО "НеоТест"

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир  
+7 499 649 02 01  
info@neo-test.ru  
www.neo-test.ru

### Поставщик в Беларуси: ОДО "КомПродСервис"

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск  
+375 17 336 50 54  
info@komprod.com  
www.komprod.com

