|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Staphylococcus latekso rinkinys**   |  |  |  | | --- | --- | --- | | **REF** |  | **IVD** |   **KATALOGO NUMERIS**  **RL-STA50, RL-STA100** |  |

**PRINCIPAS**

Staphylococcus latex rnkinys yra greitos diagnostikos agliutinacijos testas, skirtas atrinkti ir identifikuoti izoliuotas Staphylococcus aureus kolonijas, kurios gamina sulipimo faktorių ir (arba) baltymą A iš kitų stafilokokų rūšių, kurios neturi šių faktorių.

**KLINIKINĖ REIKŠMĖ**

Maždaug 97 % žmogaus S. aureus izoliatų gali gaminti koagulazę, sulipimo faktorių ir (arba) baltymą A. Staphylococcus latekso tyrimo rinkinys aptinka ir sulipimo faktorių, ir baltymą A, naudojant fibrinogenu ir žmogaus IgG padengtas latekso daleles ant stiklelio. Todėl testas yra jautresnis nei vien tik koaguliazės testas, bet gali būti ne toks specifiškas, nes kai kurios ne S.aureus rūšys gali nespecifiškai agliutinuoti latekso daleles. Siekiant pašalinti šiuos atvejus ir taip pagerinti tyrimo specifiškumą, bandymo rinkinyje yra kontrolinis reagentas, kuris yra latekso dalelės, nepadengtos nei fibrinogenu, nei žmogaus IgG, ir, kuris turėtų būti naudojamas.

Daugiau nei 95 % patogeninių S. aureus padermių gamina baltymą A, su arba be sulipimo faktoriaus. Baltymas A turi didelį afinitetą IgG Fc daliai. Šiuo tikslu S. aureus latekso reagentas buvo sukurtas taip, kad reaguotų su tomis stafilokokų rūšimis, turinčiomis sulipimo faktorių, baltymą A arba abiejų derinį, greitai ir stipriai agliutinuojant latekso daleles.

Plazmos koaguliazės tyrimai dažniausiai naudojami S. aureus kultūrų identifikavimui. Nepriklausomai veikia du skirtingi veiksniai:

1. Su ląstelėmis susijęs sulipimo faktorius arba surišta koagulazė, kuri reaguoja su fibrinogenu ir sukelia organizmų agregaciją. Įprastas testas yra koaguliazės testas ant stiklelio.

2. Ekstraląstelinė stafilokoagulazė arba laisva koagulazė, kuri aktyvina protrombiną ir taip inicijuoja krešulio susidarymą su plazma. Įprastas testas yra koagulazės testas mėgintuvėlyje.

**REAGENTAI**

• Staphylococcus testas Latex 5ml

• Staphylococcus kontrolės lateksas 1ml

• Latekso 6 šulinėlių PVC kortelės

• Pakankamai maišytuvų 50/100T

**KITOS REIKALINGOS PRIEMONĖS**

Sterilios kilpELĖS, laikmatis, CL2 saugos spinta (rekomenduojama)

**ATSARGUMO PRIEMONĖS**

Tik in vitro diagnostikai. Tik profesionaliam naudojimui.

**Įspėjimai apie sveikatą ir saugą: šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės komponentų, joks bandymo metodas negali visiškai užtikrinti, kad žmogaus gauti produktai neperduos infekcijos.**

Todėl visi paciento mėginiai ir reagentai turi būti traktuojami kaip potencialiai užkrečiami, o naudotojas turi mūvėti apsaugines pirštines, dėvėti akių apsaugą ir laboratorinius chalatus, bei laikytis geros darbo praktikos. Nevienkartinės priemonės turi būti sterilizuojamos tinkamu būdu, pvz., 121° C temperatūroje 15 minučių. Vienkartinės priemonės turi būti laikomos biologiškai pavojingomis atliekomis ir autoklavuojamos arba sudeginamos. Išsiliejusios potencialiai infekcinės medžiagos turi būti sugertos ir sunaikintos, kaip nurodyta aukščiau. Išsipylimo vieta turi būti sterilizuota dezinfekavimo priemone arba 70% alkoholiu. Baigę, kruopščiai nusiplaukite rankas. Tiekiami reagentai nekelia pavojaus sveikatai, kada naudojami vadovaujantis geros laboratorinės praktikos principais, gerais darbo higienos standartais ir rekomenduojama informacija, pateiktą šiose naudojimo instrukcijose.

Produkte taip pat yra vandeninių buferinių druskų, kurių konservantas yra mažiau nei 0,1 % natrio azido – žr. medžiagų saugos duomenų lapus.

Analitinės atsargumo priemonės: Visus reagentus laikykite vertikaliai 2–8 C temperatūroje. Nekeiskite bandymo procedūros. Nenaudokite reagentų pasibaigus nurodytam galiojimo laikui. NESUŠALDYKIT REAGENTŲ. Reagentai yra paruošti naudoti, jokiu būdu nekeiskite reagentų. Prieš naudodami, leiskite visiems reagentams ir mėginiams sušilti iki kambario temperatūros (18-30C). Laikykite buteliuką su lašintuvu vertikaliai, kad susidarytų tinkamo dydžio lašas. Išmeskite reagentą, jei suspensija pasidaro šiurkšti (t. y. atsiranda autoagliutinacijos požymių) arba neagliutinuoja su kultūromis, kuriose žinomas sulipimo faktorius arba baltymas A. Nelieskite kortelių reakcijos sričių. Agliutinacijos, kuri atsiranda po 60 sekundžių, nevertinkite kaip teigiamo rezultato. Ilgalaikis laukimas gali sukelti klaidingai teigiamas reakcijas su kai kuriais koagulazės neigiamais izoliatais. Reikia vengti mikrobiologinio reagentų užteršimo, nes tai gali sutrumpinti produkto naudojimo laiką ir sąlygoti klaidingus rezultatus.

**BANDINIŲ IR MĖGINIŲ PARUOŠIMAS**

Norėdami sužinoti apie metodus, susijusius su mėginių paėmimu ir pirminių kultūrų paruošimu agaro lėkštelėse, skaitykite standartiniame mikrobiologiniame vadovėlyje. Rekomenduojama naudoti šviežias vienos nakties kultūras, kurios gali būti tiriamos tiesiai iš plokštelės, jei pakankamai išauga. Jei nepakanka augimo subkultūros į praturtintą terpę, pvz., kraujo agaro bazę arba maistinių medžiagų agarą, ir inkubuokite per naktį 37° C temperatūroje. Organizmai, auginami smarkiai druskingose terpėse, pvz., manitolio druskos agare, gali turėti šiurkštumo ar sutirštėjimo požymių, kai jie maišomi su tiriamaisiais reagentais. Bet koks atsparumas gali būti pašalintas lygiagrečiai naudojant kontrolinį lateksą. Arba subkultūruokite į kraujo agaro bazę arba maistinių medžiagų agarą, kad išvengtumėte problemos. Norint patvirtinti organizmų stafilokokinę morfologiją, kultūrą rekomenduojama nudažyti gramu, atliekant latekso testą.

**NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS**

Prieš pradėdami tyrimą, perskaitykite analitines atsargumo priemones

1. Gerai sukratykite bandomojo latekso reagento buteliuką, kad gautumėte tolygią suspensiją, ir pašalinkite orą iš lašintuvo. Įlašinkite vieną lašą reagento į reakcijos apskritimo centrą ant agliutinacijos stiklelio kiekvienai tiriamai kultūrai.

2. Naudodami sterilią kilpelę arba pridėtą maišymo lazdelę, iš šviežios tiriamo organizmo per naktį auginimo plokštelės paimkite 2–4 kolonijas ir emulsuokite reagento laše ant stiklelio, gerai trindami, nepažeisdami stiklelio paviršiaus.

3. Paskleiskite mėginį ir reagentą maždaug iki pusės kortelės ploto ir išmeskite maišymo lazdelę, kad ją būtų galima saugiai sunaikinti. Švelniai pasukite stiklelį ir stebėkite, ar nėra agliutinacijos. Nesukite ilgiau nei 1 minutę. Žiūrėkite tik naudodami įprastą laboratorinį apšvietimą. Nenaudokite kitų šviestuvų.

4. Jei mėginiai yra šiurkštūs arba matomi siūlai, atlikite aukščiau aprašytą procedūrą naudodami kontrolinį lateksą ir tą pačią mėginio kultūrą.

Gautas vaizdas yra aiškus ir gali būti atpažįstami bet kokiomis įprastomis apšvietimo sąlygomis.

5 Išmeskite kortelę į dezinfekavimo priemonę – nenaudokite pakartotinai.

**REZULTATŲ AIŠKINIMAS**

**TEIGIAMAS REZULTATAS:** Tai rodo aiškiai matoma latekso dalelių agregacija per 60 sekundžių, “pieno fone”. Paprastai tai įvyksta per kelias sekundes po sumaišymo.

**NEIGIAMAS REZULTATAS:** rodo iš esmės nepakitęs “pieno” fonas be jokių matomų latekso dalelių agregacijos požymių po 60 sekundžių. Dėl reagentų kietųjų dalelių pobūdžio ir laboratorijos operatoriaus regėjimo aštrumo neigiamuose pavyzdžiuose gali būti aptikti neryškūs smulkumo pėdsakai.

Bandomojo latekso reagento agliutinacija be agliutinacijos kontrolinis reagentas rodo, kad yra arba sulipimo faktorius, arba baltymas A. Jei kontrolinis reagentas taip pat rodo agliutinaciją, tada reikės atlikti kitus biocheminius tyrimus.

**METODO APRIBOJIMAI**

Mėginiai, išauginti ant terpės, turinčios daug druskos, pvz.: manitolio-druskos agaro, nėra linkę gerai emulsuotis, ir gaunasi „šiurkšti“ arba „dygliuota“ reakcija ir gali būti santykinai silpnas jų baltymo A ir koaguliazės turinys.

Kai kurios stafilokokų rūšys, išskyrus S. aureus (ypač S.intermedius ir S. hyicus) gali sąlygoti teigiamus rezultatus įprastiniu būdu koaguliazės testais ir taip pat gali agliutinuoti latekso reagentus. Jei būtina, šios rūšys gali būti identifikuojamos biocheminių tyrimų procedūromis, tačiau manoma, kad jie neturi didelės klinikinės reikšmės žmogui. Yra retų rūšių, tokių kaip S. lugdunensis ir S. schleiferi, kurios nustatytos esant teigiamam sulipimo faktoriui. Novobiocinui atsparios padermės gali taip pat gaunamos klaidingai teigiamos, naudojant latekso pagrindu atliekamus testus. Kelios rūšys tokios kaip E. coli ir C. albicans geba nespecifiškai agliutinuojančių latekso daleles. Organizmai, turintys imunoglobulino arba plazmos baltymus surišančius faktorius taip pat gali agliutinuoti tiriamąjį reagento lateksą.

Norėdami pašalinti galimus šių organizmų sukeliamus trukdžius, dažykite Gramo dažais, kad tik organizmai su stafilokoku būtų morfologiškai ištirti.

**VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS**

Lesterio PHLS atliko akląjį tyrimą.

Buvo išbandyti du šimtai keturiolika etaloninių padermių. Tai dažniausiai izoliuotos rūšys kartu su kai kuriomis retomis rūšimis. Buvo tiriama 40 žinomų Novobiocinui atsparių štamų ir 20 žinomų sulimpančių teigiamų rūšių nėra pateikiamos toliau pateiktoje santraukoje.

Jautrumas 15/15 = 100 %

Specifiškumas 128/134 = 95,5 %

**KOKYBĖS KONTROLĖ**

Bandymai turėtų būti atliekami su kiekviena gauta siunta ir nauju rinkinio partijos numeriu. Kiekviena laboratorija turėtų vadovautis savo valstybės ir vietos reikalavimais. Įprastomis aplinkybėmis, kasdienis bandymas parodys, ar reagentas tinkamai veikia. Latekso suspensiją visada reikia patikrinti, ar ji granuliuota, kada užlašinama ant bandomosios kortelės. Dalį granuliacijų galima pašalinti energingai purtant, bet jei yra autoagliutinacijos požymių, suspensija neturėtų būti naudojama.

Pateikiamas kontrolinis lateksas, kurį reikia naudoti norint patikrinti, ar tiriamas organizmas nespecifiškai neagliutinuoja latekso daleles. Vartotojas turėtų periodiškai tikrinti:

1. Bandomasis reagentas agliutinuoja su žinoma S.aureus paderme

2. Bandymo ir kontroliniai reagentai neagliutinuoja normaliame druskos tirpale.

**ATSISAKYMAS**

Vartotojas yra atsakingas už bet kurio reagento veikimą kitu metodu, nei nurodyta rekomenduojamose procedūrose.

Bet kokie nukrypimai nuo rekomenduojamų procedūrų turėtų būti patvirtinti prieš naudojimą.

**BIBLIOGRAFIJA**

1. Philips, W. and Kloos, W. (1981). J. Clin. Microbiol; 14,671

2. Freney, J. Brun, Y. Bes, M. (1988) Int. J. Syst. Bacteriol. 38,168

3. Stevens, M, Geary C. (1989). Eur. J Clin. Mic. Inf. Dis. 8, 153-156

4. Berke A,Tilton R.C. (1986). J. Clin. Mic. 23, 916-919.

5. Gregson D. B., Low D. E., Skulnick M., Simor A.E., (1988). J.Clin.Mic. 26, 1398-1399.

6 Essers, L. and Radebold, K. (1980).. J. clin. Microbiol., 12, 641.

7 Langone, J.J. (1982).. Advances in Immunology, 32, 157.

8 Switalski, L.M. (1976)., Zbl. Bakt. Parasit. Infekt. Hyg. I. Abt.,Supplement 5, 413.

9 Jeljaszewicz, J., Switalski, L.M., et al (1983). C. Academic Press,London, pages 525‑557.

10 Kloos, W.E. and Jorgensen, J.H. (1985). American Society for Microbiology, Washington, D.C. pages 143‑153.

Pagaminta rapid Labs, Ltd.

Unit 2 & 2A • Hall Farm Business Centre • Church Road • Little Bentley

Colchester • Essex CO7 8SD • United Kingdom

Ep: info@rapidlabs.co.uk Website www.rapidlabs.co.uk

Peržiūra 1 27/02/2017

Simbolių rodyklė

