biotical

Salmonella Card

Rapid Test to detect *Salmonella* in card format

Prueba rápida para la detección de *Salmonella* en formato casete

biotical health

ready to test

ISO 13485 CERTIFIED MEDICAL DEVICE: QUALITY MANAGEMENT SYSTEM

CSQ ISO 13485

biotical Salmonella card

ENGLISH

WHAT IS *BIOTICAL SALMONELLA CARD* USED FOR?

biotical Salmonella card is a rapid immunochromatography test for the qualitative detection of *Salmonella* antigens in stool samples and suspicious colonies of *Salmonella* in stool culture. Thanks to its easy handling and high sensitivity, the healthcare professional is able to make a presumptive diagnosis of *Salmonella* infection (salmonellosis) and it could be used to identify suspected *Salmonella* isolates from a selective medium (stool culture).

WHAT IS SALMONELOSIS?

Salmonella infection, or salmonellosis, is a foodborne disease caused by a bacterium of the *Salmonella* gender. Most infections are caused due to undercooked contaminated foods (usually veal, poultry, eggs or milk), by cross contamination (other foods that have been in contact with contaminated food due to contaminated hands and contaminated kitchen utensils), or by person to person contact.

Salmonellosis usually causes the following symptoms: nausea, vomiting, abdominal pain, diarrhoea (sometimes bloody diarrhoea), fever and headache, which appear between 12-72 hours (but sometimes they can take up to 7 days) after infection. These symptoms, together with the dehydration caused by the illness, are aggravated in higher risk people (children and infants, immunosuppressed, elderly, etc.).

Considering that there are many diseases that can cause the same symptomatic picture as salmonellosis, it is important to make an accurate diagnosis.

biotical Salmonella card is a qualitative immunochromatographic test for the detection of *Salmonella* in stool samples and suspicious colonies of *Salmonella* in stool culture.

HOW DOES *BIOTICAL E. COLI CARD* WORK?

The card contains inside a test strip with a nitrocellulose membrane that has been previously pre-coated with:

- **In the test line (T):** with mouse polyclonal antibodies against *Salmonella*.
- **In the control line (C):** with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.

Sample area (S): the pad where the sample is placed has been dispensed with a test solution (mouse polyclonal antibodies against *Salmonella*) conjugated to red polystyrene latex and a control solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two conjugate colored complexes.

TEST LINE (T):

- **If the sample is positive:** The antigens of the patient's sample will react with the red colored conjugate complex (anti-*Salmonella* monoclonal antibodies-red latex microspheres) and advance by capillarity through the membrane. The anti-*Salmonella* antibodies present in the membrane of the test line (T) will capture the colored test complex resulting in the red line.
- **If the sample is negative:** If the sample is negative and therefore does not contain antigens (or the antigen is present in a concentration below the detection limit), there is no reaction with the red colored complex. The anti-*Salmonella* antibodies present in the membrane of the test line (T) will not capture the red colored antigen-complex (not formed) and the red line will not appear.

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 2 15/12/20 17:38

CONTROL LINE (C):

Regardless of whether the sample is positive or not, to verify that the test has been performed correctly (sufficient sample volume, appropriate flow, internal control of the reagents, etc.) the mixture will continue moving through the membrane towards the immobilized antibodies against the specific protein located in the control line (C). These specific antiprotein antibodies present in the membrane will capture the control conjugate complex and the green control line will always appear.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30 ºC. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- For professional *In vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The test should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the *biotical Salmonella card*. Do not use any other commercial kit component.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- Components provided in the kit are approved for use in the *biotical Salmonella card*. Do not use any other commercial kit component.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- Pale yellow or orange bands may appear in the test strip results window, at the positions where the colored test and control lines should appear, before the test is performed. These bands are completely normal and correspond to the capture antibodies of the test. The existence of these bands does not alter the state of conservation and functionality of the kit.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- *biotical Salmonella card* test
- Instructions for use
- Collection tubes with diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer
- Hektoen Enteric Agar (HEA)/*Salmonella Shigella* Agar (SS)

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

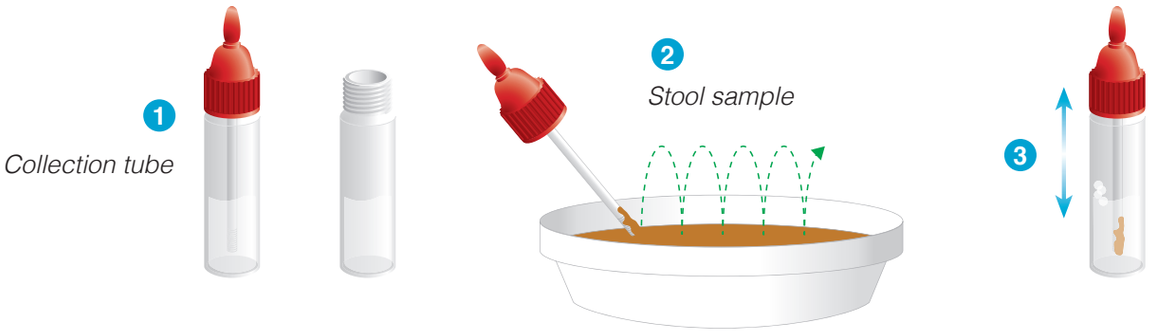
Stool samples

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8 ºC) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20 ºC. In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Ensure only the amount needed is thawed because of freezing and defrosting cycles are not recommended. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 3 15/12/20 17:38

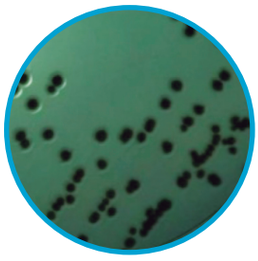
Specimen preparation (see illustration):

- TTake out the cap of the collection tube (1) and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (2) making sure that, at each insertion, only the stick`s screw is covered with the sample to take the appropriate amount of faecal sample and add it to the collection tube. Any additional sample that exceeds the stick´s screw could cause wrong results. For liquid samples, add approx. 125µL in the collection tube using a micropipette.
- Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



Suspected *Salmonella* colonies in stool culture

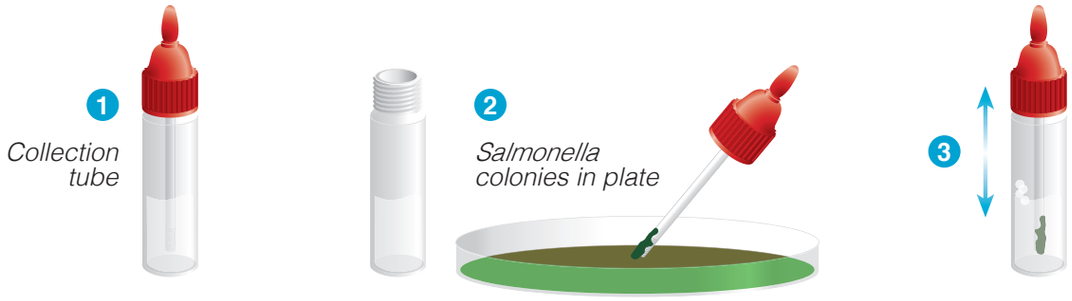
The Hektoen Enteric Agar (HEA) is the method of choice for the isolation of *Salmonella* (aerobic atmosphere, 24 hours/37 °C). After 24 hours of incubation in Hektoen the typical *Salmonella* colonies will be green with black centre due to H2S production.



Salmonella colonies in HEA

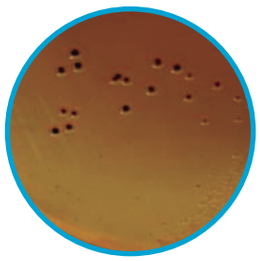
- Examine Hektoen plates after 1 day incubation. Select *Salmonella* typical colonies. Take out the cap of the collection tube (1). Use the stick or an inoculating needle to pick up 3 or 4 suspected *Salmonella* colonies (2) and add them to the collection tube.
- Close the tube with the diluent and suspected colonies. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).

Note: Because it is possible for the *Salmonella* content in the stool to be too small, a negative result cannot be considered to be the same as a negative antigen finding. It is recommended to carry out enrichment in Rappaport-Vassiliadis medium (aerobic atmosphere, 24 hours/37 °C). After 24 hours of incubation, spread in Hektoen Enteric Agar and incubate (aerobic atmosphere, 24h/37 °C)



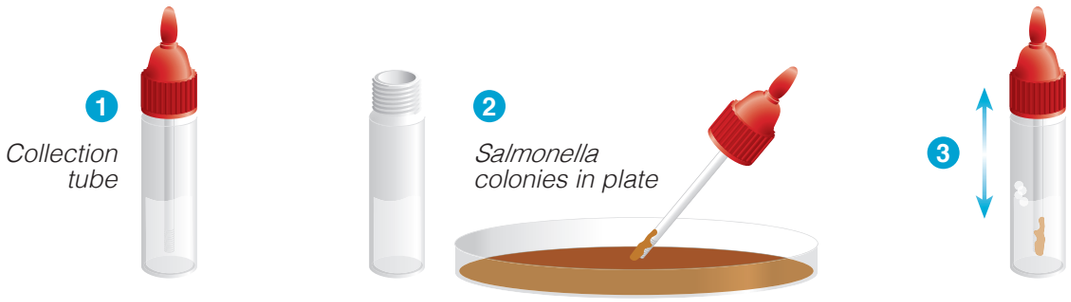
IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 4 15/12/20 17:38

Salmonella Shigella Agar (SS) is another method for the isolation of *Salmonella* (aerobic atmosphere, 24-48 hours/35-37 ºC). After the incubation period in SS the typical *Salmonella* colonies will be transparent without any black center. The SS agar is a very inhibitor that sometimes prevents the growth of certain species of *Salmonella*. We recommend using this medium unless accompanied by another inhibitor (HEA).



Salmonella colonies in SS

- Examine SS plates after incubation period. Select *Salmonella* typical colonies. Take out the cap of the collection tube (1). Use the stick or an inoculating needle to pick up 3 or 4 suspected *Salmonella* colonies (2) and add them to the collection tube.
- Close the tube with the diluent and suspected colonies. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3)

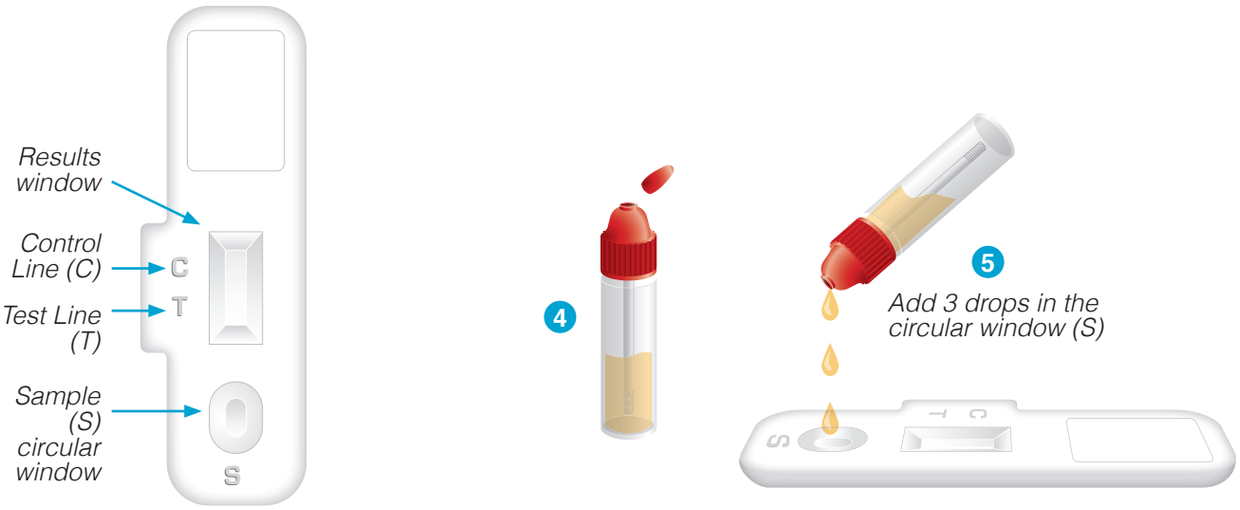


TEST PROCEDURE

Allow test, samples and controls to reach room temperature (15-30 ºC) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

- Proceed to shake the collection tube in order to assure good sample dispersion.
- Remove the *biotical Salmonella card* test from its sealed bag just before using it.
- Take the collection tube, cut the end of the cap (4) and dispense 3 drops in the circular window marked with the letter S (5). Avoid adding solid particles with the liquid.
- **Read the results at 10 minutes. Do not read the test result later than 10 minutes.**

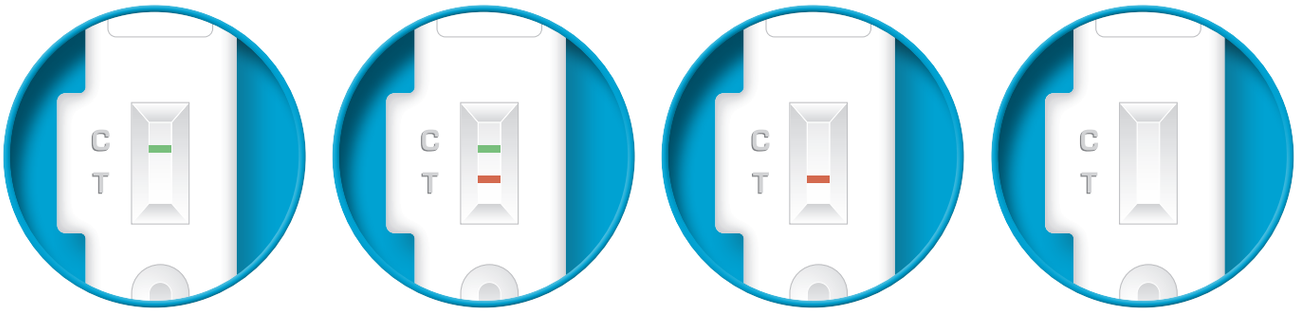
If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn´t work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 5 15/12/20 17:38

INTERPRETATION OF RESULTS

(please refer to the illustration below)



1 • NEGATIVE **2 • POSITIVE** **3 • INVALID** **3 • INVALID**

	biotical test	Interpretation of the results
1	C = GREEN T = Ø	There is no *Salmonella* presence. No infection caused by *Salmonella*.
2	C = GREEN T = RED	There is *Salmonella* presence. *Salmonella* infection, which might mean abdominal pain, diarrhoea, mild fever, chills, headache, nausea and vomiting, develops 12–72 hours (but occasionally as long as 7 days) after infection.
3	Any other result	Invalid result, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

- **NEGATIVE**: Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).
- **POSITIVE**: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.
- **INVALID**: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persist, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 6 15/12/20 17:38

LIMITATIONS

- The test should be performed no later than 2 hours after opening the bag containing it.
- Poorly defined brown lines may appear. These lines are caused by insufficient dilution of the sample and have no diagnostic value. If it occurs, the test must be repeated in a new cassette, increasing the dilution factor of the sample.
- The test has been validated with human faecal samples. Its use with other class of samples has not been tested so its use is not recommended. Proper sampling is essential to ensure the validity of the test results.
- A positive test result confirms the presence of *Salmonella* in the sample. To confirm the presence of infection by *Salmonella* it is necessary for a specialist to evaluate the results together with the other clinical evidence of the patient. In order to issue a valid clinical diagnosis, it is necessary to confirm the results of the tests using other diagnostic techniques (biochemical methods, serological and PCR).
- False positives may occur in the test with bloody samples or mucous stools, so the use of the test in this class of samples is not recommended.
- If a negative test result is obtained and symptoms persist, it is recommended to repeat the test after a few days. Negative test results may not be conclusive and may require the use of other laboratory techniques (biochemical methods, serological and PCR). A negative result does not indicate absence of infection by *Salmonella*. It is possible to appear false negatives by not reaching the detection limit of the test.

EXPECTED VALUES

Salmonellosis constitutes a major public health burden and represents a significant cost to society in many countries. Although outbreaks usually attract media attention, studies indicate that more than 80% of all salmonellosis cases occur individually rather than as outbreaks. In the United States of America, an estimated 1.4 million non-typhoidal *Salmonella* infections, resulting in 168000 visits to physicians, 15000 hospitalizations and 580 deaths annually.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit range for the different species are:

- *Salmonella enteritidis:* 5·107 – 3.12·106 CFU/mL of inactivated *Salmonella enteritidis* antigen cells culture.
- *Salmonella typhimurium*; 10·106 – 6.25·105 CFU/mL of inactivated *Salmonella typhimurium* antigen cells culture.
- *Salmonella typhi*: 10·107 – 6.25·106 CFU/mL of inactivated *Salmonella typhi* antigen cells culture.

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with faecal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (*biotical Salmonella, biotical*) and qPCR technique (VIASURE *Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica* Real Time PCR Detection kit).

The results were as follows:

		qPCR test: Viasure *Salmonella*, Campylobacter & Y. enterocolitica PCR Real Time Detection kit		
		+	-	Total
IC test: *biotical Salmonella card*	+	47	2	49
	-	15	103	118
	Total	62	105	167

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 7 15/12/20 17:38

***biotical Salmonella* vs Viasure *Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica* Real Time PCR Detection Kit**		
	Mean Value	**95% CI (confidence interval)**
Sensitivity	75.8%	63.3 - 85.8%
Specificity	98.1%	93.5 - 99.8%
PPV	95.9%	86.0 - 99.5%
NPV	87.3%	79.9 - 92.7%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Salmonella* using *biotical Salmonella*.

CROSS REACTIVITY

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of *biotical Salmonella*; no cross reactivity against gastrointestinal pathogens occasionally present in faeces:

Adenovirus
Astrovirus
Calprotectin
Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Clostridium difficile antigen GDH
Clostridium difficile Toxin A
Clostridium difficile Toxin B
Clostridium perfringens
Cryptosporidium
Escherichia coli O:111
Escherichia coli O:026
Escherichia coli O:157
Entamoeba dispar
Entamoeba hystolitica
Giardia lamblia
Helicobacter pylori
Hemoglobin
Lactoferrin
Legionella
Listeria monocytogenes
Norovirus GI
Norovirus GII
Rotavirus
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes
Transferrin
Yersinia enterocolitica O:3
Yersinia enterocolitica O:9

REFERENCES

1. *TABUBAKAR, I. "A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food". Health Technology Assessment 2007; Vol. 11: No. 36.*
2. *OCHOA REPÁRAZ, J. "Protective ability of subcellular extracts from Salmonella Enteritidis and from a rough isogenic mutant against salmonellosis in mice". Vacine 23 (2005), 1495-1501.*

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 8 15/12/20 17:38

biotical Salmonella Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA *BIOTICAL SALMONELLA CARD?*

biotical Salmonella card es una prueba rápida de inmunocromatografía para la detección cualitativa de antígenos de *Salmonella* en muestras de heces y de colonias sospechosas de *Salmonella* en coprocultivo. Gracias a su fácil manejo y su alta sensibilidad, el profesional sanitario podrá realizar un diagnóstico presuntivo de infección por *Salmonella* (salmonelosis) y podría ser utilizado para la identificación de aislados sospechosos de *Salmonella* a partir de un medio selectivo (coprocultivo).

¿QUÉ ES LA SALMONELOSIS?

La infección por *Salmonella*, o salmonelosis, es una enfermedad trasmitida por alimentos y causada por bacterias del género *Salmonella*. La mayoría de las infecciones se contraen a través de alimentos contaminados poco cocinados (generalmente carne de ternera, carne de aves de corral, huevos o leche), por contaminación cruzada (otros alimentos que hayan estado en contacto con alimentos contaminados a través de manos y utensilios de cocina), o por contacto persona a persona.

La salmonelosis suele causar los siguientes síntomas: náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea (a veces sanguinolenta), fiebre y dolor de cabeza, que se desarrollan entre 12-72 horas (pero a veces pueden durar hasta 7 días) tras la infección. Estos síntomas, y la deshidratación causada por la enfermedad, se ven agravados en las personas con mayor riesgo (niños y lactantes, inmunodeprimidos, ancianos, etc.).

Teniendo en cuenta que hay muchas enfermedades que pueden causar el mismo cuadro sintomático que la salmonelosis, es importante que se utilicen los medios adecuados por los profesionales sanitarios para poder hacer un diagnóstico acertado.

biotical Salmonella card es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Salmonella* en muestras de heces y de colonias sospechosas de *Salmonella* en coprocultivo.

¿CÓMO FUNCIONA *BIOTICAL SALMONELLA CARD?*

El casete (card) posee en su interior una tira reactiva con una membrana de nitrocelulosa que ha sido fijada previamente:

- **en la línea de test (T):** con anticuerpos policlonales frente a *Salmonella*.
- **en la línea de control (C):** con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.

En el material absorbente de la zona de muestra (S): se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos policlonales de ratón frente a *Salmonella*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

LÍNEA DE TEST (T):

- **Si la muestra es positiva:** Los antígenos de la muestra de heces del paciente reaccionarán con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos policlonales anti-*Salmonella*-microesferas rojas de látex) y avanzan por capilaridad a través de la membrana. Los anticuerpos anti-*Salmonella* presentes en la membrana de la línea del test (T) capturarán el complejo coloreado del test dando lugar a la línea roja.
- **Si la muestra es negativa:** Si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos (o el antígeno está presente en una concentración inferior al límite de detección), no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Salmonella* presentes en la membrana de la línea del test (T), no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 9 15/12/20 17:38

LÍNEA DE CONTROL (C):

- I**ndependientemente de que la muestra sea positiva o no:** para verificar que se ha realizado correctamente el test (volumen de muestra suficiente, flujo apropiado, control interno de los reactivos, etc.) la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control (C). Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- El producto debe ser almacenado entre 2 y 30 ºC en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro.*
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con *biotical Salmonella* test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona línea de control y zona línea de test), antes de utilizar el test, es completamente normal y no supone fallo de funcionalidad del test.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.
- Es posible que aparezcan bandas color amarillo o naranja pálido en la ventana de resultados de las tiras de test, en las posiciones donde deberán aparecer las bandas coloreadas de test y control, antes de que se realice la prueba. Estas bandas son completamente normales y corresponde a los anticuerpos de captura de la prueba. La existencia de estas bandas no alteran el estado de conservación y funcionalidad del kit.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- *biotical Salmonella card* test
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro
- Agar entérico de Hektoen (HEA)/Agar *Salmonella Shigella* (SS)

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Muestras de heces

Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se pueden conservar en frío (2-8 ºC), máximo durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20 ºC. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Ciclos de congelación y descongelación no son recomendables, por lo que, se debe descongelar únicamente la cantidad necesaria de muestra para hacer la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

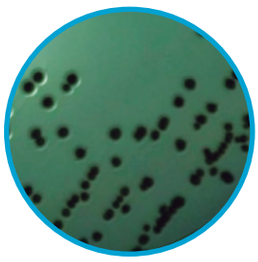
IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 10 15/12/20 17:38

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- Abrir el tubo para dilución de muestra (1) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (2), asegurándose de que, en cada inserción, la hélice del palito se cubra con la muestra para tomar la cantidad adecuada de heces y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Si se añade cantidad de muestra adicional que sobrepase la hélice del palito se podrían originar resultados erróneos. Para muestras líquidas, añada aprox. 125µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
- Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).

Colonias sospechosas de *Salmonella* en coprocultivo

El Agar Entérico de Hektoen (HEA) es el método de elección para el aislamiento de *Salmonella* (atmósfera aerobia, 24 horas/37 °C). Tras 24 horas de incubación en Hektoen aparecerán las típicas colonias de *Salmonella* verdes con centro negro debido a la producción de H2S



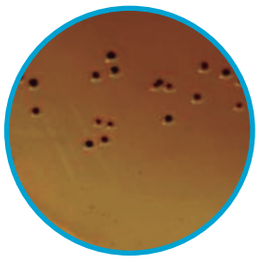
Colonias de Salmonella en HEA

- Examinar las placas Hektoen tras 1 día de incubación. Seleccionar colonias típicas de *Salmonella*. Abrir el tubo para dilución de muestra (1). Usar el palito o una aguja de siembra para "picar" en 3 ó 4 colonias sospechosas de *Salmonella* (2) y añadir al tubo para dilución de muestra.
- Cerrar el tubo con el diluyente y con las colonias sospechosas. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).

Nota: Debido a que es posible que el contenido de *Salmonella* en las heces sea demasiado pequeño, un resultado negativo no se puede considerar como si no existiera antígeno. Se recomienda llevar a cabo el enriquecimiento en el medio Rappaport-Vassiliadis (atmósfera aerobia, 24 horas/37 °C). Después de 24 horas de incubación, se extiende en agar entérico de Hektoen y se incuba (atmósfera aerobia, 24h/37 °C).

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 11 15/12/20 17:38

El Agar *Salmonella Shigella* (SS) es otro método para el aislamiento de *Salmonella* (atmósfera aeróbica, 24-48 horas/35-37 ºC). Tras el periodo de incubación en SS las típicas colonias de *Salmonella* serán transparentes. El agar SS es un medio muy inhibidor que a veces impide el crecimiento de ciertas especies de *Salmonella*. Se recomienda utilizar este medio acompañado de otro menos inhibidor HEA.



Colonias de Salmonella en SS

Examinar las placas SS tras el período de incubación. Seleccionar colonias típicas de *Salmonella*. Abrir el tubo para dilución de muestra (1). Usar el palito o una aguja de siembra para "picar" en 3 o 4 colonias sospechosas de *Salmonella* (2) y añadir al tubo para dilución de muestra.

Cerrar el tubo con el diluyente y con las colonias sospechosas. Agitar el tubo para asegurar una buena dispersión de la muestra (3).

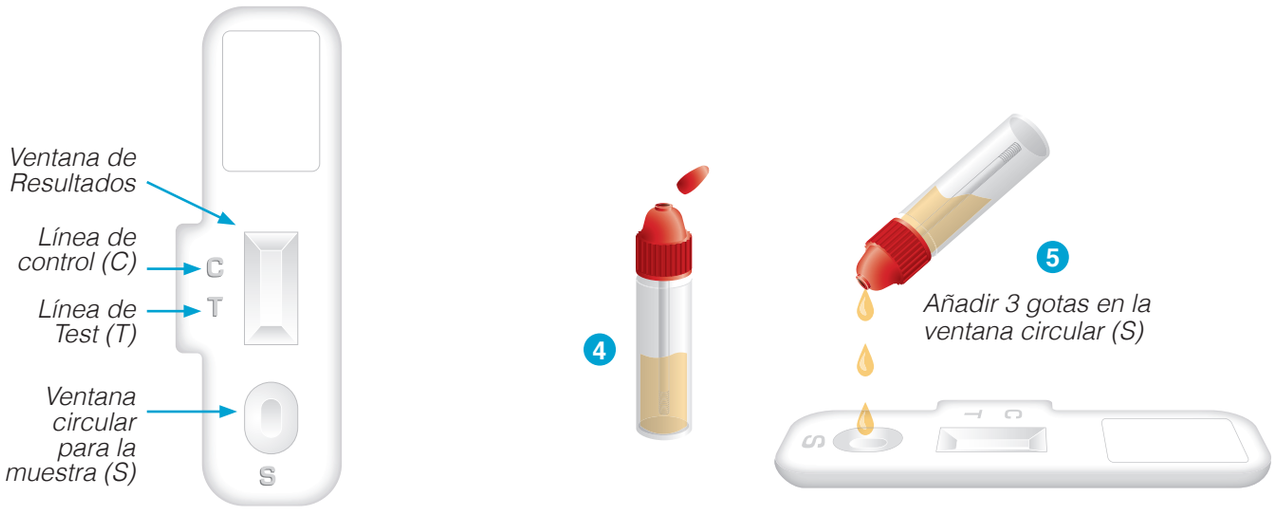
PROCEDIMIENTO

Previamente los test, las muestras y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 ºC). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

Procedimiento A: Muestra de pacientes:

- Agitar el tubo para dilución para asegurar una buena dispersión.
- Sacar el test *biotical Salmonella* de su envase antes de utilizarlo.
- Tomar el tubo para dilución, cortar la punta del tapón (4) y añadir 3 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra S (5), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
- **Leer el resultado a los 10 minutos. No leer el resultado superados los 10 minutos.**

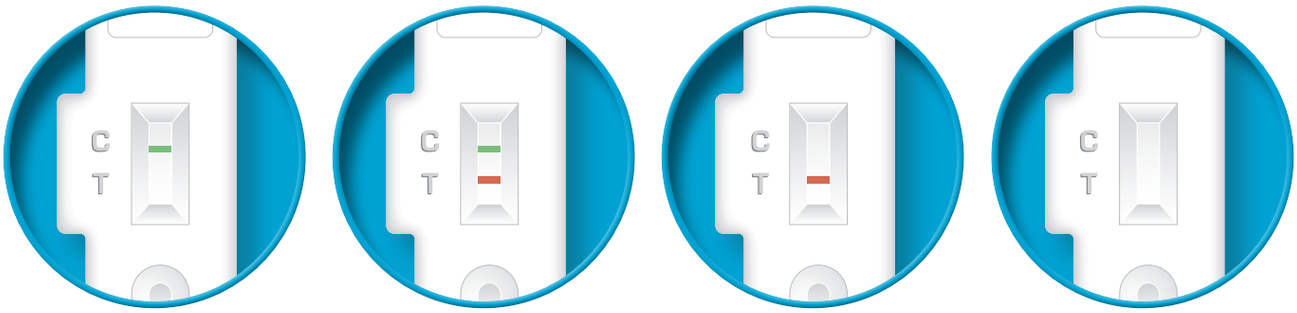
Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 12 15/12/20 17:38

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



1 • NEGATIVO **2 • POSITIVO** **3 • INVÁLIDO** **3 • INVÁLIDO**

	biotical test	Interpretation of the results
1	**C = VERDE** **T = Ø**	No hay presencia de *Salmonella*. No hay infección causada por *Salmonella*.
2	**C = VERDE** **T = ROJO**	Hay presencia de *Salmonella*. Infección por *Salmonella*, que podría llevar asociada dolor abdominal, diarrea, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, náuseas y vómitos, se desarrollan entre 12-72 horas (pero a veces pueden durar hasta 7 días) tras la infección.
3	Cualquier otro resultado	Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

- **NEGATIVO:** Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).
- **POSITIVO:** Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.
- **INVÁLIDO:** Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 13 15/12/20 17:38

LIMITACIONES

- El test debe ser realizado como máximo hasta 2 horas después de haber abierto la bolsa que lo contiene.
- Es posible la aparición de líneas poco definidas de color pardo. Estas líneas son ocasionadas por una dilución insuficiente de la muestra y no poseen valor diagnóstico alguno. En caso de producirse, se deberá repetir el test en un nuevo casete, aumentando el factor de dilución de la muestra.
- El test ha sido validado con muestras fecales humanas. Su uso con otra clase de muestras no ha sido probado por lo que no se recomienda su utilización. Una adecuada toma de muestras es primordial para asegurar la validez de los resultados del test.
- Un resultado positivo del test confirma la presencia de *Salmonella* en la muestra, sin determinar su origen. Para confirmar la infección por *Salmonella* es necesario que un especialista evalúe los resultados junto con las demás evidencias clínicas del paciente. Para poder emitir un diagnóstico clínico válido es necesario confirmar los resultados del test mediante otras técnicas diagnósticas (métodos bioquímicos, serológicos y PCR).
- Pueden producirse falsos positivos en el test en muestras sanguinolentas o heces mucosas, por lo que no se recomienda el uso del test en esta clase de muestras.
- En caso de obtenerse un resultado negativo en el test y persistir los síntomas, es recomendable repetir la prueba transcurrido unos días. Los resultados negativos en el test pueden no ser concluyentes y requerir el empleo de otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos, serológicos y PCR). Un resultado negativo no indica ausencia de infección por *Salmonella*. Es posible la aparición de falsos negativos por no alcanzar el límite de detección del test.

VALORES ESPERADOS

Salmonelosis constituye un peligro de salud pública y representa un coste muy significante para la sociedad en muchos países. Aunque son los brotes los que atraen la atención pública, varios estudios han mostrado que más del 80% de los casos de salmonelosis son casos aislados no considerados brotes. Se ha estimado que en EE.UU. hay anualmente 1.4 millones de casos de infección por *Salmonella* notifoidea provocando 168000 visitas a médicos, 15000 hospitalizaciones y 580 muertes.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El rango del límite de detección para las distintas especies es:

- *Salmonella enteritidis*: 5·107 – 3.12·106 UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella enteritidis*.
- *Salmonella typhimurium*; 10·106 – 6.25·105 UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella typhimurium*.
- *Salmonella typhi*: 10·107 – 6.25·106 UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella typhi*.

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 14 15/12/20 17:38

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (*biotical Salmonella*, *biotical*) and qPCR technique (VIASURE *Salmonella*, Campylobacter & Y. enterocolitica Real Time PCR Detection kit).

Los resultados se muestran a continuación:

		qPCR test: *Viasure Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica* PCR Real Time Detection kit		
		+	**-**	**Total**
IC test: *biotical Salmonella card*	**+**	47	2	49
	-	15	103	118
	Total	62	105	167

***biotical Salmonella* vs *Viasure Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica* Real Time PCR Detection Kit**		
	Valor medio	**95% intervalo de confianza**
Sensibilidad	75,8%	63,3 - 85,8%
Especificidad	98,1%	93,5 - 99,8%
VPP	95,9%	86,0 - 99,5%
VPN	87,3%	79,9 - 92,7%

Los resultados mostraron que *biotical Salmonella* presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Salmonella*.

REACCIONES CRUZADAS

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de *biotical Salmonella*; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

Adenovirus
Astrovirus
Calprotectina
Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Clostridium difficile antigen GDH
Clostridium difficile Toxin A
Clostridium difficile Toxin B
Clostridium perfringens
Cryptosporidium
Escherichia coli O:111
Escherichia coli O:026
Escherichia coli O:157
Entamoeba dispar
Entamoeba hystolitica
Giardia lamblia
Helicobacter pylori
Hemoglobina
Lactoferrina
Legionella
Listeria monocytogenes
Norovirus GI
Norovirus GII
Rotavirus
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes
Transferrina
Yersinia enterocolitica O:3
Yersinia enterocolitica O:9

REFERENCIAS

1. *TABUBAKAR, I. "A systematic review of the clinical, public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food". Health Technology Assessment 2007; Vol. 11: No. 36.*
2. *OCHOA REPÁRAZ, J. "Protective ability of subcellular extracts from Salmonella Enteritidis and from a rough isogenic mutant against salmonellosis in mice". Vacine 23 (2005), 1495-1501.*

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 15 15/12/20 17:38

biotical Salmonella card

Rapid test to detect *Salmonella* in card format

Prueba rápida para la detección de *Salmonella* en formato casete

Symbols for IVD components and reagents
Símbolos para reactivos y productos para diagnóstico *In vitro*

IVD	*In vitro* diagnostic device Producto para diagnóstico *In vitro*		Manufacturer Fabricante
	Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	Σ	Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test
	Keep dry Almacenar en lugar seco	DIL	Sample diluent Diluyente de muestra
	Use by Fecha de caducidad	LOT	Batch code Número de lote
	Temperature limitation Limitación de temperatura	REF	Catalogue number Número de referencia

biotical health

Sierra de Guadarrama, 1.
28830 San Fernando de Henares. Madrid
Tel.: + 34 91 677 43 08

www.*biotical*.es

info@*biotical*.es

***biotical* health S.L.U.** CE

IFU_RTB25SA 11-Salmonella.indd 16 15/12/20 17:38