

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25SA
RTB25SAC
RTB25SACN



biotical Salmonella Card

Rapid Test to detect
Salmonella in card
format

Prueba rápida para la
detección de Salmonella
en formato de tarjeta.

biotical health
ready to test



IU RTB25SA-RTB25SAC-RTB25SACN Rev. 04 / 2024-04

ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical Salmonella Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL SALMONELLA CARD?

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 SALMONELLOSIS?

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.

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

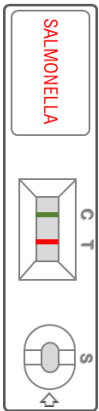
TABLE OF REFERENCES

In the following table will be able to find all the product references related to the acquired test.

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25SA	biotical Salmonella Card	25 tests without positive or negative controls.
RTB25SAC	biotical Salmonella Card (+PC)	25 tests with positive control, without negative control.
RTB25SACN	biotical Salmonella Card (+PC +NC)	25 tests with positive and negative control.

HOW DOES BIOTICAL SALMONELLA CARD WORK?

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



- In **GREEN** line (C): with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.
- In **RED** line (T): with mouse monoclonal antibodies against *Salmonella*.
- **Sample area (S)**: the pad where the sample is placed has been dispensed with a preparation of reagents (mouse polyclonal antibodies against *Salmonella*) conjugated with latex of red polystyrene and with another preparation for the control line C (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex.

TEST LINES:

If the sample is positive: The antigens of the patient's stool sample will react with the red coloured conjugate complexes (anti-*Salmonella* polyclonal antibodies-latex red microspheres) and it will advance by capillary through the membrane. As the sample migrates, so do the conjugate complexes. The antibodies anti-*Salmonella* present in the T line will capture the complex giving rise in a 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 coloured complex. The anti-*Salmonella* antibodies present in the T line will not capture the red coloured antigen-complex (not formed) and the red lines will not appear.

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 anti-protein 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°C. 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.

GENERAL 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 and samples 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 provided in the kit are approved for use in the test that are supplied. Do not use any other commercial kit component if compatibility is not specified.

- 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 coloured 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

- Cassette or Test Card.
- Instructions for use.
- Stool collection tubes with diluent.
- Positive Control (only RTB25SAC & RTB25SACN references).
- Negative Control (only RTB25SACN reference).

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

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

The kit contains materials for the analysis of a maximum of 25 samples or controls.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples.

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. 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.

Specimen preparation (see illustration):

- Take 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**.



1 Collection tube



2 Stool sample



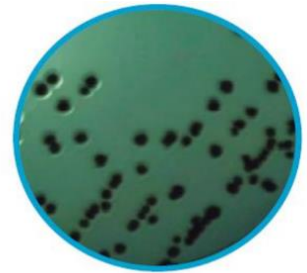
3 Shake vigorously

Suspected *Salmonella* colonies in stool culture:

Method 1: Hektoen Enteric Agar (HEA):

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 green *Salmonella* colonies.

- 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.



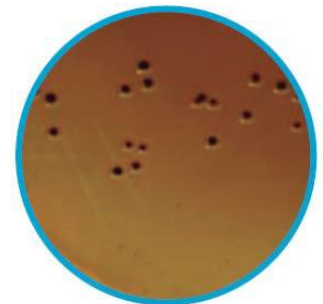
Salmonella colonies in HEA

If the content of *Salmonella* in the faeces is not large enough, false negatives can occur because the antigen is not detected. It is recommended to carry out the enrichment in the Rappaport-Vassiliadis medium (aerobic atmosphere, 24h/37°C). After 24h of incubation, it is spread on Hektoen and incubated (aerobic atmosphere, 24h/37°C).

Method 2: Salmonella Shigella Agar (SS):

Salmonella Shigella (SS) Agar is another method for the isolation of *Salmonella* (aerobic atmosphere, 24-48 hours/35-37 °C). After the incubation period in SS the typical *Salmonella* colonies will be transparent. SS agar is a highly inhibitory medium that sometimes prevents the growth of certain *Salmonella* species, so it is recommended to use this medium accompanied by another less inhibitory medium such as HEA.

- Examine SS plates after 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.



Salmonella colonies in SS



① Collection tube



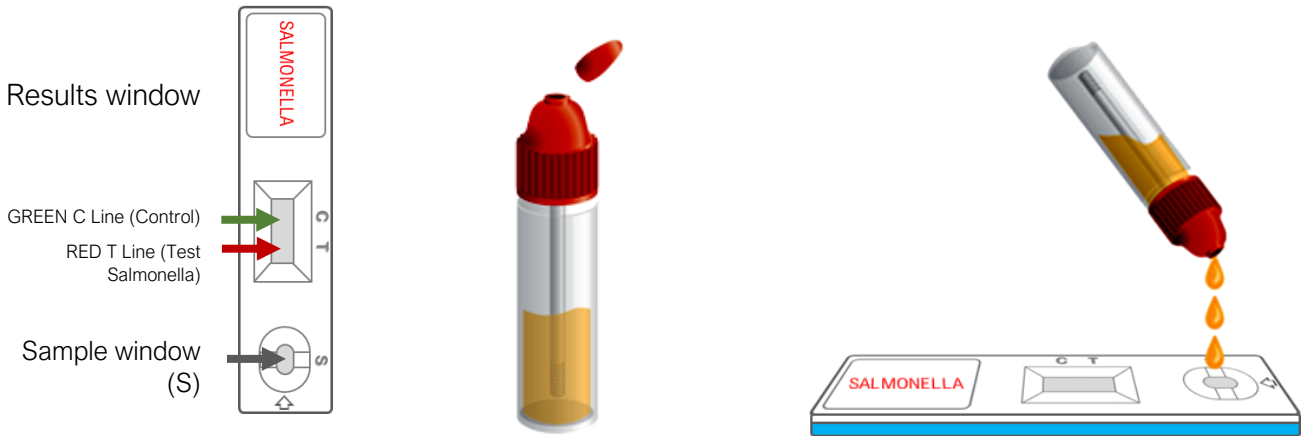
② *Salmonella* colonies in plate



③ Shake vigorously

TEST PROCEDURE

Allow tests and samples to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



4 Cut the end of the cap.

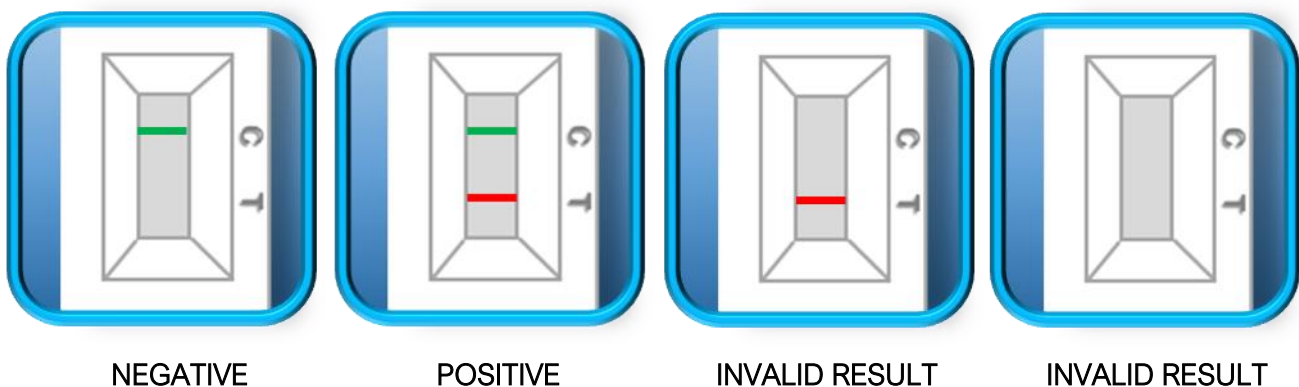
5 Add 3 drops in the circular window (S).

- Proceed to **shake the stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
- Remove the test card from its sealed bag just before using it.
- Take the stool collection tube, **cut the end of the cap** 4.
- **Dispense 3 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S 5. Avoid adding solid particles with the liquid.
- **Read the results at 10 minutes.** The results will not be valid after 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.

INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration below)



NEGATIVE

POSITIVE

INVALID RESULT

INVALID RESULT



	biotical Test	Interpretation of the results
1	C = GREEN LINE T = NO LINE	NEGATIVE Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line). No presence of <i>Salmonella</i> is detected in the sample.
2	C = GREEN LINE T = RED 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. <i>Salmonella</i> presence is detected in the sample.
3-4	Any other result	INVALID Total absence of the control line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED) causes an invalid result. 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 result still persists, 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 windows 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 as an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

The following sections (**POSITIVE CONTROL & NEGATIVE CONTROL**) only apply if the corresponding positive and negative controls are available (sold separately or with kits references **RTB25SAC** & **RTB25SACN**).

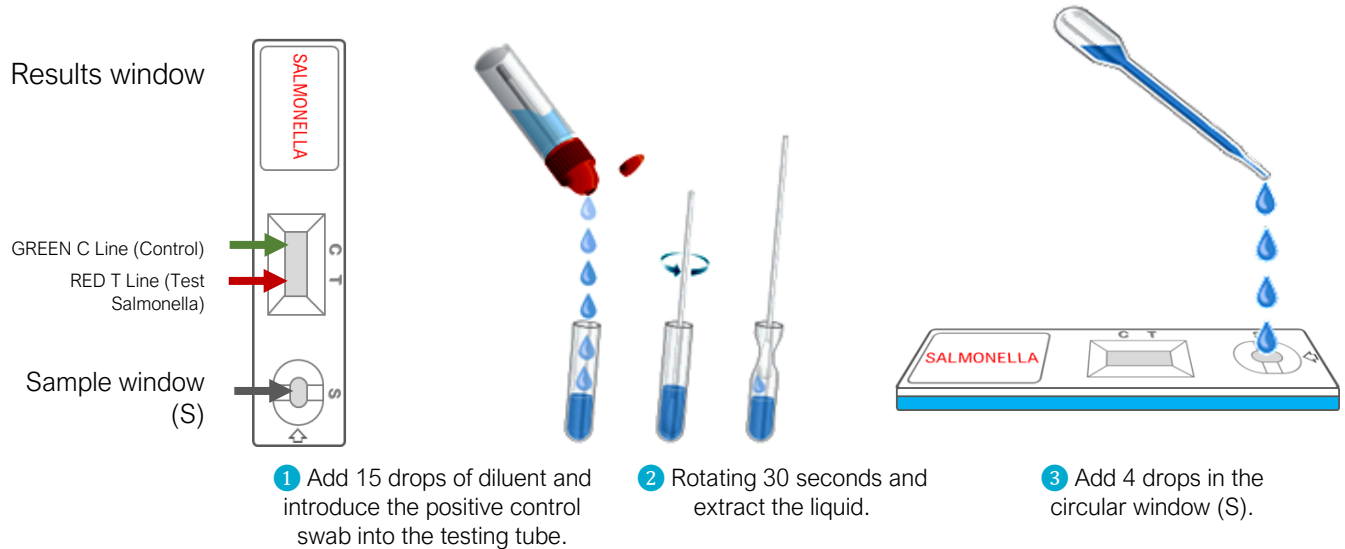
POSITIVE CONTROLS: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotical Salmonella Positive Control is an external quality control for biotical SALMONELLA card. Use this control swabs to check that the sample reagents and the test card are working properly.

biotical Salmonella Positive Control: inactivated *Salmonella* antigens dried in swab containing a preservative.

POSITIVE CONTROLS: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



- Add 15 drops of diluent and immediately introduce the positive control swab into the testing tube **1**.
- Mix the solution by rotating the positive control swab forcefully against the side of the testing tube at least 30 seconds **2**. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotical device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. Dispense 4 drops from the testing tube in the circular window marked with the letter S **3**.
- Read the result at 10 minutes. do not read the test result later than 10 minutes.

POSITIVE CONTROL – INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	<p>C = GREEN LINE T = RED LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL POSITIVE</p> <p>A GREEN line (C) and a RED line (T) appear across the results window during the test performance due to presence of the antigens in the positive control swab.</p>
2		<p>INVALID RESULT</p> <p>Total absence of the control line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only appears the control line.</p> <p>Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.</p>

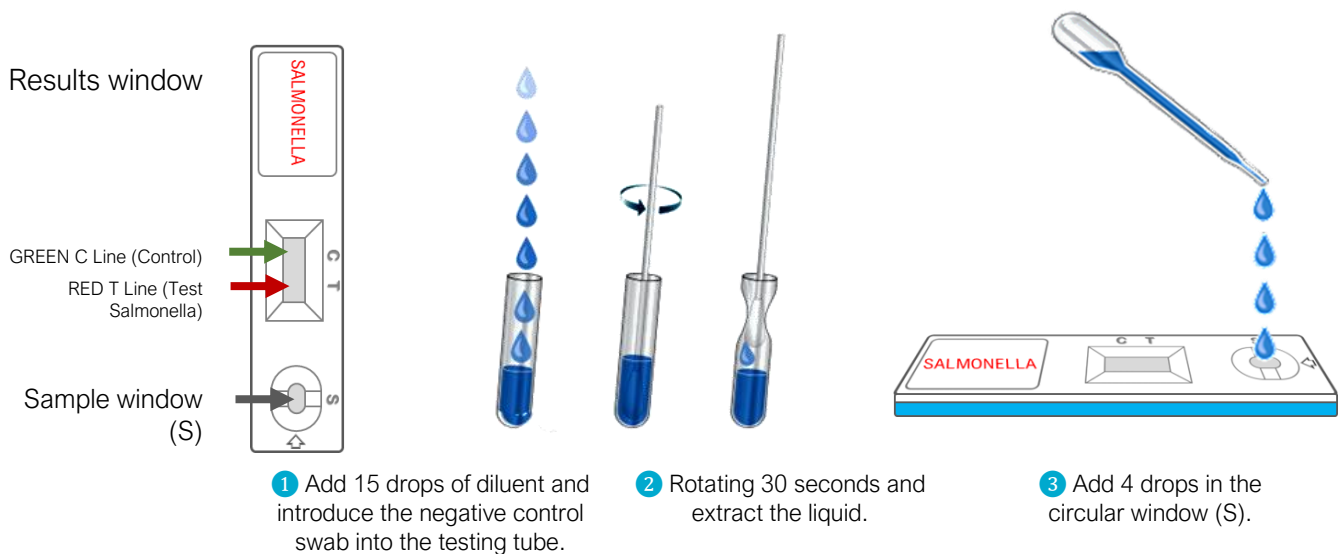
NEGATIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

biotical Negative Control is an external quality control for all immunochromatographic tests manufactured by biotical. Use this control swab to check that the extraction reagents and the test are working properly.

biotical Negative Control is manufactured with negative control buffer dried in swab containing a preservative.



NEGATIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



- **Add 15 drops of diluent** and immediately introduce the negative control swab into the testing tube 1.
- Mix the solution by **rotating the negative control swab** forcefully against the side of the testing tube at least **30 seconds** 2. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotical device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S 3.
- **Read the result at 10 minutes.** do not read the test result later than 10 minutes.

NEGATIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = NO LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL NEGATIVE</p> <p>Only the control line (C) appears across the results window during the test performance.</p>
2		<p>RESULT: INVALID FOR NEGATIVE CONTROL</p> <p>Total absence of the control line, and/or the card shows the test line. Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the main reasons for control line failure.</p> <p>Review the procedure and repeat the control with a new test and a new negative control swab.</p>

LIMITATIONS OF THIS TEST

- 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, without determining its cause or species. To confirm the presence of infection 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 laboratory techniques (serological methods, biochemicals or PCR confirmation).
- 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. It is possible to appear false negatives by not reaching the detection limit of the test.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit range for the different species are:

- *Salmonella enteritidis*: $5 \cdot 10^7 - 3.12 \cdot 10^6$ UFC/mL of inactivated culture.
- *Salmonella typhimurium*: $10 \cdot 10^6 - 6.25 \cdot 10^5$ UFC/mL of inactivated culture.
- *Salmonella typhi*: $10 \cdot 10^7 - 6.25 \cdot 10^6$ UFC/mL of inactivated culture.



Clinical sensitivity and specificity:

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

The results were the following:

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

<i>biotical Salmonella Card vs VIASURE Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica Real Time PCR Detection kit</i>	MEAN VALUE	95% 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%
ACCURACY	89.8%	84.2 - 94.0%

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

CROSS REACTIVITY

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of biotical Salmonella Card; no cross reactivity against gastrointestinal organism occasionally present in faeces.

<i>Adenovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O:026	<i>Norovirus</i> GII
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Rotavirus</i>
<i>Calprotectin</i>	<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium difficile</i> ag. GDH	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	Hemoglobin	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	Lactoferrin	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Legionella</i>	Transferrin
<i>Cryptosporidium</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
<i>Escherichia coli</i> O:111	<i>Norovirus</i> GI	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS & REAGENTS



In vitro diagnostic device



Consult instructions for use



Keep dry



Use by



Temperature limitation



Manufacturer



Contains sufficient for <n> test



Sample diluent



Batch code



Catalogue number

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 transmitida 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.

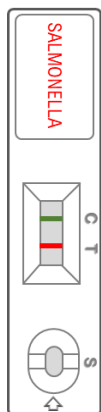
TABLA DE REFERENCIAS

En la siguiente tabla puede encontrar todas las referencias de productos relacionados con el test adquirido.

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25SA	biotical Salmonella Card	25 Test sin control positivo ni control negativo.
RTB25SAC	biotical Salmonella Card (+PC)	25 Test con control positivo, sin control negativo.
RTB25SACN	biotical Salmonella Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿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 VERDE (C):** con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- **En la línea ROJA (T):** con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Salmonella*.
- **En la zona de muestra (S):** se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea T (anticuerpos policlonales de ratón frente a *Salmonella*) conjugados 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 para la línea T) y avanzarán por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Salmonella* presentes en la línea de T capturarán el complejo dando lugar a una línea roja.

Si la muestra es negativa: Si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos (o estos están presentes en una concentración inferior al límite de detección), no se producirá reacción con los complejos coloreados rojos. Los anticuerpos anti-*Salmonella* presentes en la línea T no capturarán los antígenos-complejos coloreados y no aparecerá la línea roja.

LÍNEA DE CONTROL (C):

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, 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°C 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 GENERALES

- 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 test y las muestras deben desecharse en un contenedor de residuos sanitarios adecuado después de su uso.
- Los reactivos contienen conservantes. Evite cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consulte la ficha de datos de seguridad, disponible bajo petición.
- Los componentes incluidos en el kit están aprobados para su uso en la prueba que se suministran. No utilice ningún otro componente de kit comercial si no se especifica la compatibilidad.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use guantes de eliminación, gafas y máscara. No coma, bebe ni fume en el área 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 altera el estado de conservación y funcionalidad del kit.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Casete o tarjeta (Card) de test.
- Instrucciones de uso.
- Tubos para dilución de muestra con diluyente.
- Control positivo (solo en las referencias RTB25SAC & RTB25SACN).
- Control negativo (solo en la referencia RTB25SACN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

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

El kit contiene materiales para el análisis de hasta 25 muestras o controles.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Muestras de heces

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8 °C), 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 °C. 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.

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**.



1 Tubo para dilución de muestra



2 Muestra de heces



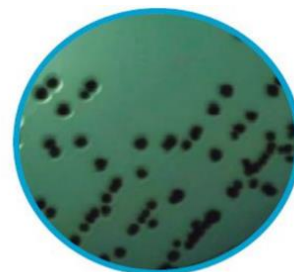
3 Agite vigorosamente

Colonias sospechosas de *Salmonella* en coprocultivo

Método 1: Agar Entérico de Hektoen (HEA)

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 colonias verdes de *Salmonella*.

- Examinar las placas Hektoen tras un día de incubación. Seleccionar colonias típicas de *Salmonella*. Abrir el tubo para dilución **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.
- Cerrar el tubo con el diluyente y con las colonias sospechosas. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra **3**.



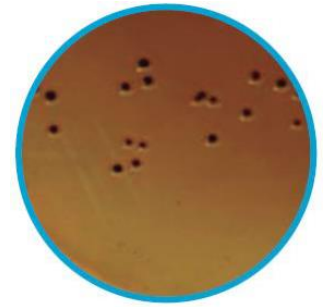
Colonias de *Salmonella* en medio HEA

Si el contenido de *Salmonella* en las heces no es lo suficientemente grande, pueden darse falsos negativos al no detectar el antígeno. Se recomienda llevar a cabo el enriquecimiento en el medio Rappaport-Vassiliadis (atmósfera aerobia, 24h/37°C). Después de 24h de incubación se extiende en Hektoen y se incuba (atmósfera aerobia, 24h/37°C).

Método 2: Agar Salmonella Shigella (SS)

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

- 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.



Colonias de *Salmonella* en medio SS



PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

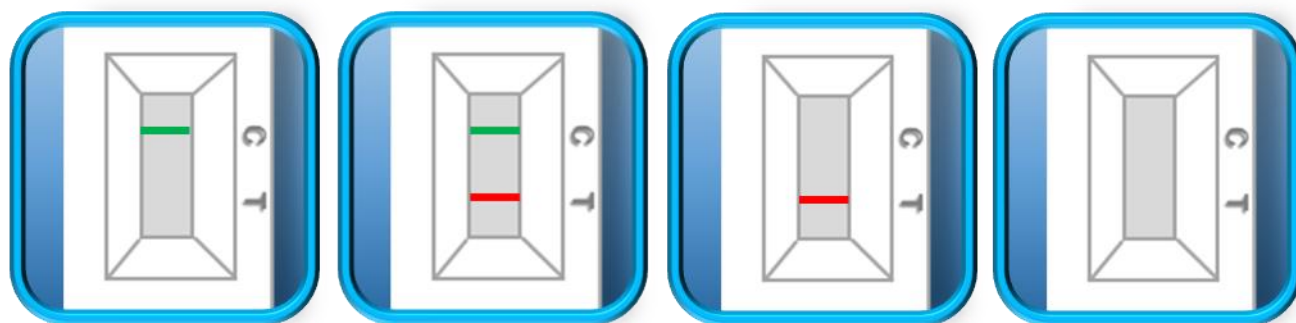


- Proceder a **agitar el tubo de recogida de heces** para asegurar una buena dispersión de la muestra.
- Retire la tarjeta de test (card) de su bolsa sellada justo antes de usarla.
- Tomar el tubo para dilución de muestra, **cortar la punta del tapón** 4.
- **Añadir 3 gotas** del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra S 5. Evite añadir partículas sólidas con el líquido.
- **Leer los resultados a los 10 minutos.** Los resultados no serán válidos después de 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.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor fijese a la ilustración de abajo)



NEGATIVO

POSITIVO

NO VÁLIDO

NO VÁLIDO

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA	NEGATIVO Solo aparece la línea VERDE en la ventana de resultados en el sitio marcado con la letra C (línea de control). No se detecta presencia de <i>Salmonella</i> en la muestra.
2	C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA	POSITIVO Además de la línea de control VERDE , también aparece una línea ROJA en el sitio marcado con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados. Se detecta presencia de <i>Salmonella</i> en la muestra.
3-4	Cualquier otro resultado	RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control (VERDE) sin importar si aparece o no la línea de test (ROJA) causa un resultado no válido. Un volumen insuficiente de la muestra, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son las razones principales por las que aparece este resultado. Revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo test. Si el resultado persiste, póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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 antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígeno pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El test incluye un control interno de procedimiento. 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.

Las siguientes secciones (**CONTROL POSITIVO & CONTROL NEGATIVO**) solo se aplica si los controles positivo o negativo correspondiente están disponibles (vendidos por separado o con kits con referencias **RTB25SAC & RTB25SACN**).

CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Salmonella Positive Control es un control positivo externo para usar en el test biotical Salmonella Card. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos del kit y la tarjeta de test funcionen correctamente.

biotical Salmonella Positive Control: antígenos de *Salmonella* inactivados y secados en un hisopo que contiene un conservante.

CONTROL POSITIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** **2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra **S** **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL POSITIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL POSITIVO</p> <p>Una línea VERDE (C) y una línea ROJA (T) aparecen en la ventana Resultados debido a la presencia de los antígenos en el hisopo de control positivo.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>Ausencia total de la línea de control (VERDE), importar si aparece o no la línea de test (ROJA), o bien aparece únicamente la línea de control.</p> <p>Procedimientos incorrectos o deterioro de los reactivos son las razones principales por las que puede no aparecer la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva tarjeta de test y un nuevo hisopo de control positivo.</p>

CONTROL NEGATIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Negative Control es un control de calidad externo para todas las pruebas inmunocromatográficas fabricadas por biotical. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de extracción y la prueba funcionen correctamente. biotical Negative Control está fabricado con tampón de control negativo secado en hisopo, contiene un conservante.

CONTROL NEGATIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.

Ventana de resultados

Ventana circular para la muestra (S)

Línea C VERDE (Control)



Línea T ROJA (Test Salmonella)

SALMONELLA

- 1 Agregue 15 gotas de diluyente e introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba.
- 2 Girar 30 segundos y escurrir el líquido.
- 3 Añadir 4 gotas en la ventana circular (S).

- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** **2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL NEGATIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados.
1	 <p>C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL NEGATIVO</p> <p>Solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados durante la prueba.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>La ausencia total de la línea de control, y/o aparición de la línea de test. Técnicas de procedimiento incorrectas o deterioro de los reactivos son las razones principales de que no aparezca la línea de control.</p> <p>Revise el procedimiento y repita el control con una nueva prueba y un nuevo hisopo de control negativo.</p>

LIMITACIONES DEL PRESENTE TEST

- 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 causa o especie. Para confirmar la presencia de infección 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 tests mediante otras técnicas de laboratorio (métodos serológicos, bioquímicos o confirmación por PCR).
- Pueden producirse falsos positivos en el test con 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. Es posible la aparición de falsos negativos por no alcanzar el límite de detección del test.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica (límite de detección)

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

- *Salmonella enteritidis*: $5 \cdot 10^7 - 3.12 \cdot 10^6$ UFC/mL de cultivo inactivado.
- *Salmonella typhimurium*: $10 \cdot 10^6 - 6.25 \cdot 10^5$ UFC/mL de cultivo inactivado.
- *Salmonella typhi*: $10 \cdot 10^7 - 6.25 \cdot 10^6$ UFC/mL de cultivo inactivado.

Sensibilidad y especificidad clínica

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

Los resultados fueron los siguientes:

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

<i>biotical Salmonella Card vs VIASURE Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica Real Time PCR Detection kit</i>	VALOR MEDIO	INTERVALO DE CONFIANZA 95%
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%
PRECISIÓN	89.8%	84.2 - 94.0%

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

REACTIVIDAD CRUZADA

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

<i>Adenovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O:026	<i>Norovirus</i> GII
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Rotavirus</i>
Calprotectina	<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium difficile</i> ag. GDH	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	Hemoglobina	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	Lactoferrina	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Legionella</i>	Transferrina
<i>Cryptosporidium</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
<i>Escherichia coli</i> O:111	<i>Norovirus</i> GI	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9

SÍMBOLOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS DE IVD



Producto para diagnóstico *in vitro*



Consultar las instrucciones de uso



Almacenar en lugar seco



Fecha de caducidad



Limitación de temperatura



Fabricante



Contiene <n> test

DIL

Diluyente de muestra

LOT

Número de lote

REF

Número de referencia

REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA /

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". Vaccine 23 (2005), 1495-1501.



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

info@biotical.es
www.biotical.es

