

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25ST
RTB25STC
RTB25STCN



biotical Salmonella typhi Card

Rapid Test to detect
Salmonella typhi in card
format

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

biotical health
ready to test



IU RTB25ST-RTB25STC-RTB25STCN Rev. 01 / 2024-02

ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical *Salmonella typhi* Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL SALMONELLA TYPHI CARD?

biotical *Salmonella typhi* Card is a coloured chromatographic immunoassay test for the qualitative detection of *Salmonella typhi* in stool samples and *Salmonella typhi* suspected colonies in stool culture. Thanks to its easy handling and high sensitivity, the healthcare professional will be able to make a presumptive diagnosis of *Salmonella typhi* infection and it could be used to identify suspected *Salmonella typhi* isolates from selective media (stool culture).

ENTERIC FEVER

Enteric, typhoid, or paratyphoid fever is a major health problem in many endemic countries.

Symptoms of enteric fever include fever, weakness, lethargy, muscle pain, headache, loss of appetite, diarrhoea or constipation, pink spots on the cheeks and, in the most severe cases, enlarged liver and spleen, altered mental status, and meningitis (fever, stiff neck, and seizures). The difference between enteric fever caused by *Salmonella typhi* and enteric fever caused by *Salmonella paratyphi* is that the former usually appears between one and three weeks after exposure and varies in severity.

The high mortality and morbidity caused by the different salmonellas is also due to their resistance to multiple drugs, with reduced susceptibility to fluoroquinolones, which makes their rapid detection crucial. With the biotical *Salmonella typhi* Card, the health professional will be able to make a rapid presumptive diagnosis of enteric fever, and/or use the test to identify suspected *Salmonella typhi* isolates from a stool culture.

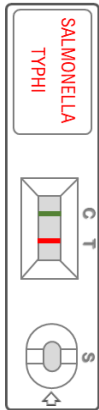
TABLE OF REFERENCES

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

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25ST	biotical <i>Salmonella typhi</i> Card	25 tests without positive or negative controls.
RTB25STC	biotical <i>Salmonella typhi</i> Card (+PC)	25 tests with positive control, without negative control.
RTB25STCN	biotical <i>Salmonella typhi</i> Card (+PC +NC)	25 tests with positive and negative control.

HOW DOES BIOTICAL SALMONELLA TYPHI CARD WORK?

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



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

TEST LINE (T):

If the sample is positive: the antigens of the patient's sample will react with the RED coloured conjugate complex (anti- *Salmonella typhi* monoclonal antibodies red latex microspheres for the line T) and advance by capillarity through the membrane. The anti-*Salmonella typhi* antibodies present in the T line will capture the coloured conjugate complex resulting 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 red coloured complex. The anti-*Salmonella typhi* antibodies present in the T line will capture the coloured antigen-complex (not formed) and the red line 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.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- Cassette or Test Card.
- Instructions for use.
- Stool collection tubes with diluent.
- Positive Control (only RTB25STC & RTB25STCN references).
- Negative Control (only RTB25STCN 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

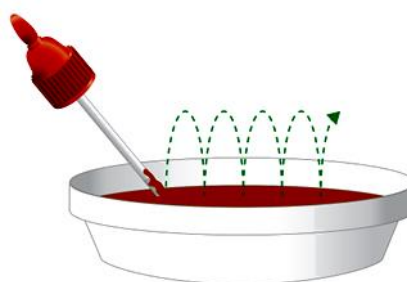
Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen (-20°C). In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

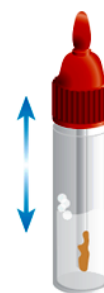
- Take out the cap of the stool collection tube and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample ①, to collect faecal sample and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 125µL in the stool collection tube using a micropipette.
- Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion ②. Use only fresh samples or fresh frozen samples without preservatives or fixatives.



Collection tube



① Stool sample



② Shake vigorously

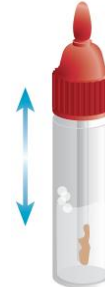
Suspected *Salmonella typhi* colonies in stool culture:



1 Collection tube



2 *Salmonella typhi* colonies in plate

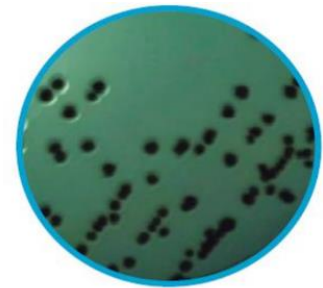


3 Shake vigorously

Method 1: Hektoen Enteric Agar (HEA):

The Hektoen Enteric Agar (HEA) is the method of choice for the isolation of *Salmonella typhi* (aerobic atmosphere, 24 hours/37 °C). After 24 hours of incubation in Hektoen the green *Salmonella typhi* colonies.

- Examine Hektoen plates after 1 day incubation. Select *Salmonella typhi* 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 typhi* 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.



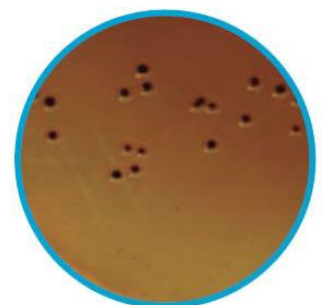
Salmonella typhi colonies in HEA

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 typhi* (aerobic atmosphere, 24-48 hours/35-37 °C). After the incubation period in SS the typical *Salmonella typhi* 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.

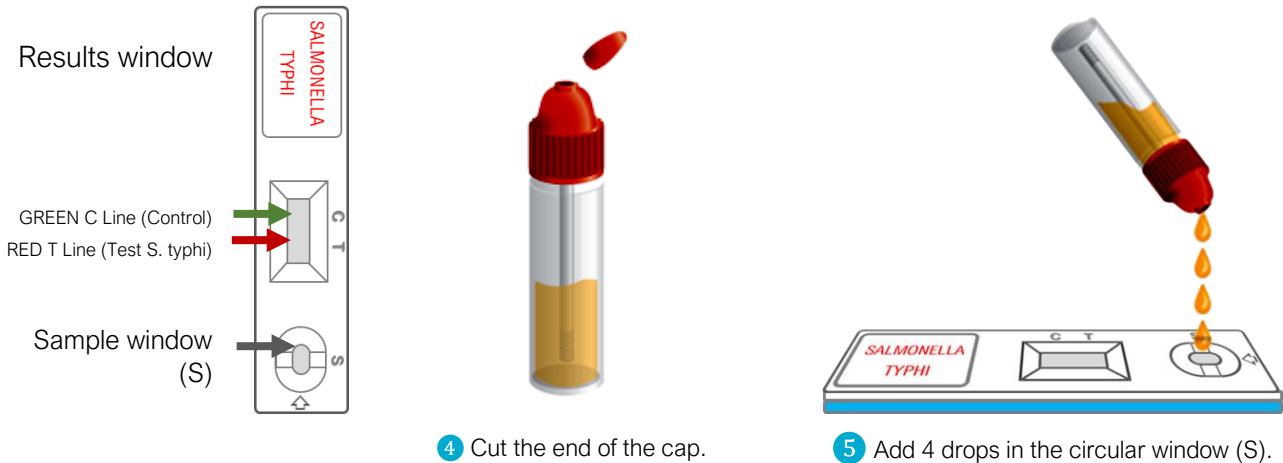
- Examine SS plates after incubation. Select *Salmonella typhi* typical colonies. Take out the cap of the collection tube 1. Use the stick or an inoculating needle to pick up 3 or 4 suspected *Salmonella typhi* colonies 2 and add them to the collection tube.
- Close the tube with the diluent and suspected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



Salmonella typhi colonies in SS

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.

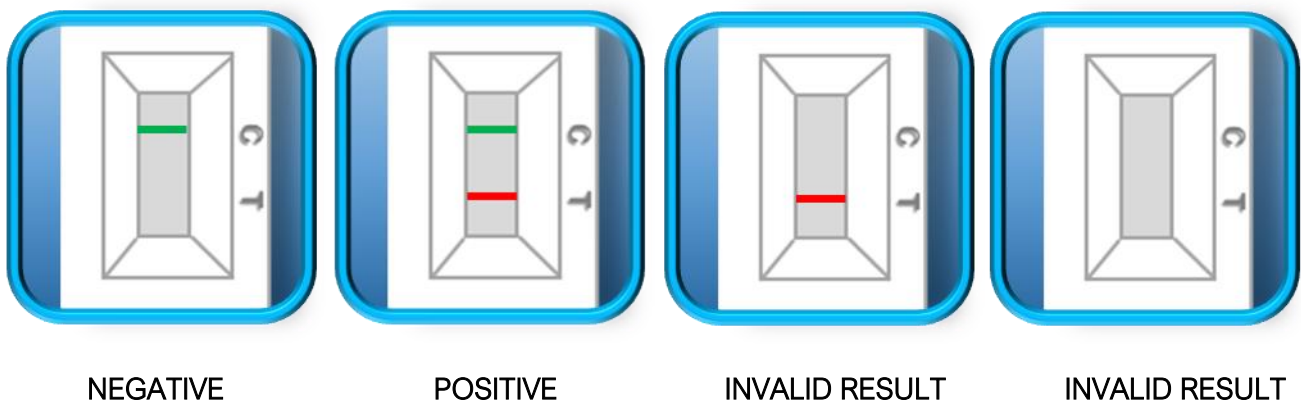


- Proceed to **shake the stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
- Remove the test card from its sealed bag just before using it.
- Take the stool collection tube, **cut the end of the cap** 4.
- **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with 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)



	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 typhi</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 typhi</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 **RTB25STC** & **RTB25STCN**).

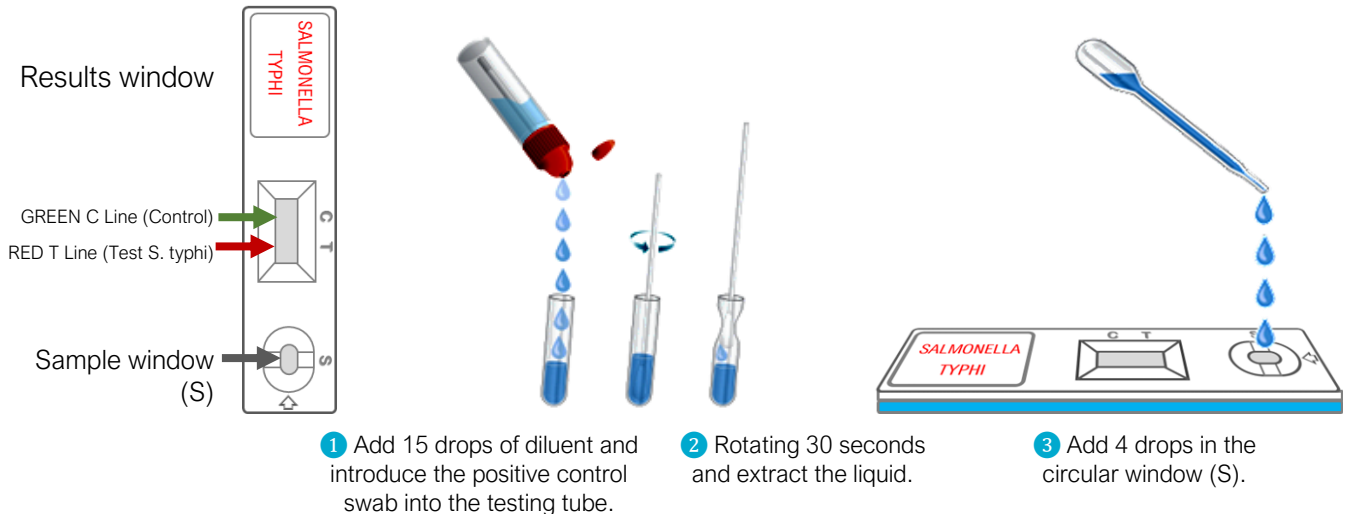
POSITIVE CONTROLS: INTENDED USE & COMPOSITION

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

biotical *Salmonella typhi* Positive control is manufactured with *Salmonella typhi* inactivated extract 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

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

biological 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.



1 Add 15 drops of diluent and introduce the negative control swab into the testing tube.

2 Rotating 30 seconds and extract the liquid.

3 Add 4 drops in the circular window (S).

- 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 intensity of the test line can depend on whether the antigen concentration is close to the detection limit value of the test or not.
- 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 typhi* in the sample, nevertheless it must be confirmed together with other laboratory techniques (biochemical and serological methods or by PCR). The infection must be confirmed by a specialist, after evaluating the clinical tests and all the laboratory results.
- False negative may occur in the test in samples with a low concentration of *Salmonella Typhi* (below the limit of detection value). Repeat test if symptoms persist.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Cut-off value of biotical *Salmonella typhi* Card is 1.25×10^7 UFC/mL.

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with faecal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (biotical *Salmonella typhi* Card, biotical) and an ELISA test (*Salmonella typhi* ELISA kit, ICL).

An evaluation was carried out, with culture of *Salmonella typhi*, with an immunochromatographic test (biotical *Salmonella typhi* Card, biotical) and these results were compared with the results obtained by a commercialized immunochromatographic test (Singlepath® *Salmonella*, Merck).

The results were as follows:

		IC Test: Singlepath® <i>Salmonella</i>		
		+	-	Total
IC Test: Biotical <i>Salmonella typhi</i> Card	+	10	0	10
	-	0	25	25
	Total	10	25	35

<i>Biotical Salmonella typhi Card vs Singlepath® Salmonella, Merck</i>	MIDDLE VALUE	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	>99.9%	69.2% - 100%
SPECIFICITY	>99.9%	86.3% - 100%
PPV	>99.9%	-
NPV	>99.9%	-
ACCURACY	>99.9%	90.0% - 100%

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

CROSS REACTIVITY

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

Campylobacter coli

Campylobacter jejuni

Clostridium difficile

Escherichia coli O157:H7

Helicobacter pylori

Listeria monocytogenes

Shigella boydii

Shigella dysenteriae

Shigella flexneri

Shigella sonnei

Streptococcus aureus

Yersinia enterocolitica

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

DIL

Sample diluent

LOT

Batch code

REF

Catalogue number

biotical Salmonella typhi Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA BIOTICAL SALMONELLA TYPHI CARD?

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

FIEBRE ENTÉRICA

La fiebre entérica, tifoidea o paratifoidea supone un importante problema de salud en muchos países endémicos.

Los síntomas de la fiebre entérica incluyen fiebre, debilidad, letargia, dolor muscular, dolor de cabeza, pérdida de apetito, diarrea o estreñimiento, manchas rosas en las mejillas y, en los casos más graves, aumento de tamaño del hígado y del bazo, estado mental alterado y meningitis (fiebre, tortícolis y convulsiones). La diferencia entre la fiebre entérica causada por *Salmonella typhi* y la fiebre entérica causada por *Salmonella paratyphi*, es que la primera aparece normalmente entre una y tres semanas tras la exposición y varía en gravedad.

La elevada mortalidad y morbilidad provocada por las diferentes salmonellas se debe además a su resistencia a múltiples fármacos, con una susceptibilidad reducida a las fluoroquinolonas, lo que hace crucial su rápida detección. Con biotical Salmonella typhi Card, el profesional de salud podrá realizar un diagnóstico presuntivo rápido de fiebre entérica, y/o utilizar el test para la identificación de aislados sospechosos de *Salmonella typhi* a partir de un coprocultivo.

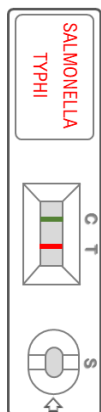
TABLA DE REFERENCIAS

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

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25ST	biotical Salmonella typhi Card	25 Test sin control positivo ni control negativo.
RTB25STC	biotical Salmonella typhi Card (+PC)	25 Test con control positivo, sin control negativo.
RTB25STCN	biotical Salmonella typhi Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿CÓMO FUNCIONA BIOTICAL SALMONELLA TYPHI 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** de control (C): con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- En la línea **ROJA** de test (T): anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Salmonella typhi*.
- En la zona de muestra (S): En el material absorbente de la zona de muestra (S): se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de T del test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Salmonella typhi*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea C 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 monoclonales anti-*Salmonella typhi*-microesferas rojas de látex de la línea T) y avanzan por capilaridad a través de la membrana. Los anticuerpos anti-*Salmonella typhi* presentes en la línea 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 typhi* presentes en la línea T, no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) 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.

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 RTB25STC & RTB25STCN).
- Control negativo (solo en la referencia RTB25STCN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

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

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

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C) como máximo 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. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

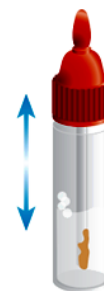
- Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra **1**, tomando una pequeña cantidad de heces y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadir 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 **2**. Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.



Tubo para dilución



1 Muestra de heces



2 Agite vigorosamente

Colonias sospechosas de *Salmonella typhi* en coprocultivo



1 Tubo para dilución de muestra



2 Colonias de *Salmonella typhi* en la placa

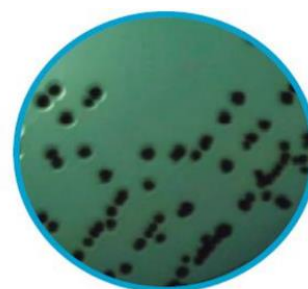


3 Agitar vigorosamente

Método 1: Agar Entérico de Hektoen (HEA)

El Agar Entérico de Hektoen (HEA) es el método de elección para el aislamiento de *Salmonella typhi* (atmósfera aerobia, 24 horas/37 °C). Tras 24 horas de incubación en Hektoen aparecerán las colonias verdes de *Salmonella typhi*.

- Examinar las placas Hektoen tras un día de incubación. Seleccionar colonias típicas de *Salmonella typhi*. Abrir el tubo para dilución 1. Usar el palito o una aguja de siembra para “picar” en 3 o 4 colonias sospechosas de *Salmonella typhi* 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.



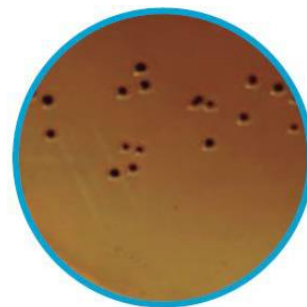
Colonias de *Salmonella typhi* en HEA

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 typhi* (atmósfera aerobia, 24-48 horas/35-37 °C). Tras el periodo de incubación en SS las típicas colonias de *Salmonella typhi* 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 typhi*. 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 typhi* **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 typhi* en SS

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

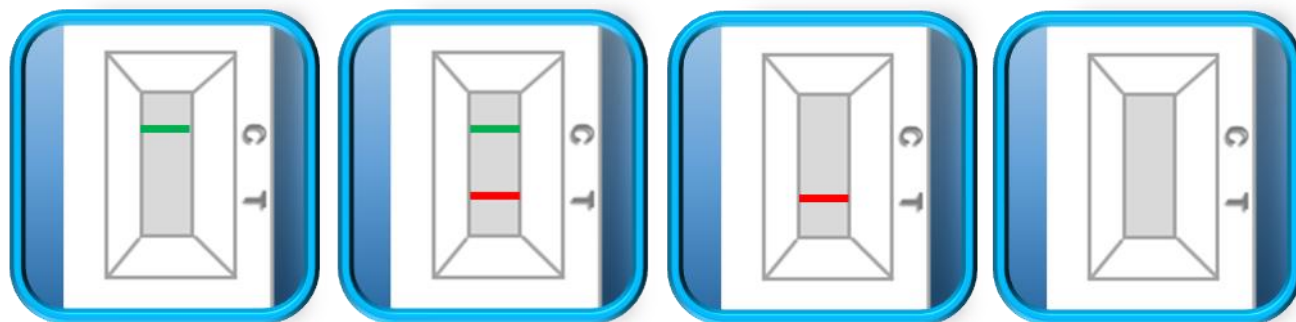


- Proceder a **agitar el tubo de recogida de heces** para asegurar una buena dispersión de la muestra.
- Retire la tarjeta de test (card) de su bolsa sellada justo antes de usarla.
- Tomar el tubo para dilución de la muestra, **cortar la punta del tapón 4**.
- **Añadir 4 gotas** del líquido en la ventana circular marcada con la letra S **5**, evitando 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 typhi</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 typhi</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 **RTB25STC & RTB25STCN**).

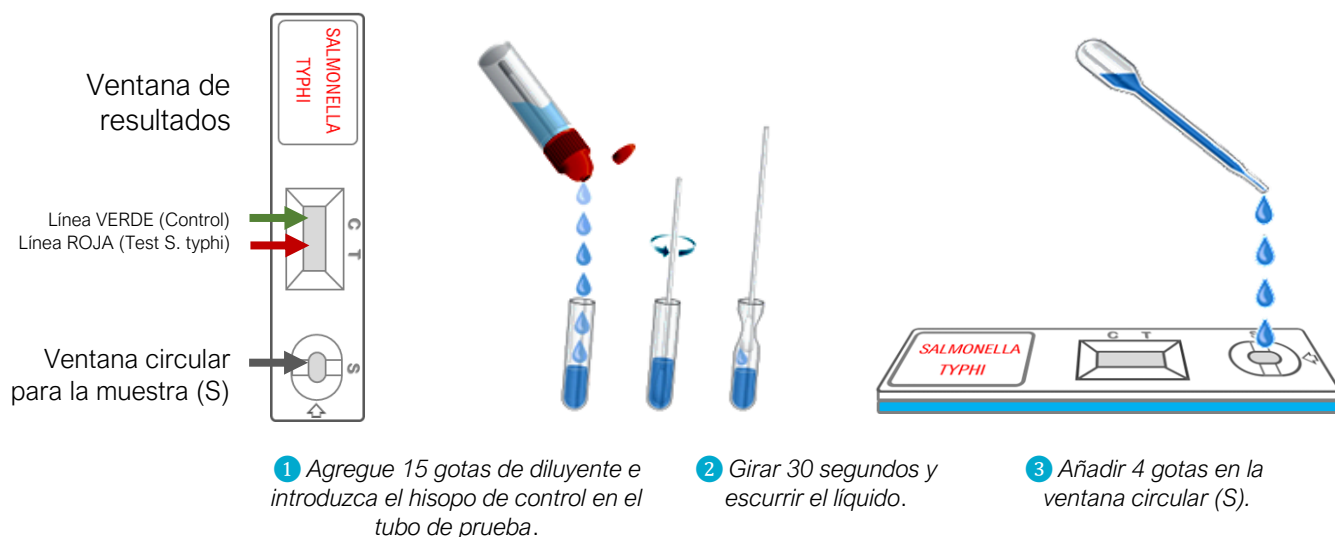
CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical *Salmonella typhi* Positive control es un control de calidad externo para el test biotical *Salmonella typhi* Card. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de la muestra y la tarjeta de test funcionen correctamente.

biotical *Salmonella typhi* Positive control está fabricado con extractos de *Salmonella typhi* inactivos secadas en 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 seco 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

Línea C VERDE (Control)
Línea T ROJA (Test S. typhi)

Ventana circular para la muestra (S)



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.
- La intensidad de la línea del test puede dependiendo de si la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test o no.
- 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 typhi* en la muestra, sin embargo, debe ser confirmado junto con otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos y serológicos o por PCR). La infección debe confirmarse por un especialista, tras evaluar las pruebas clínicas y todos los resultados de laboratorio.
- Pueden producirse falsos positivos en el test en muestras con poca concentración de *Salmonella typhi* (inferior al valor de límite de detección). Repetir la prueba si los síntomas continuasen.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica

El valor de cut-off de biotical Salmonella typhi Card es 1.25×10^7 UFC/mL.

Sensibilidad clínica y especificidad

Se llevó a cabo una evaluación, con cultivo de *Salmonella typhi*, con un test inmunocromatográfico (biotical Salmonella typhi Card, biotical) y estos resultados fueron comparados con los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico comercializado (Singlepath® Salmonella, Merck).

Los resultados se muestran a continuación:

		IC Test: Singlepath® Salmonella		
		+	-	Total
IC Test: Biotical Salmonella typhi Card	+	10	0	10
	-	0	25	25
	Total	10	25	35

<i>Biotical Salmonella typhi Card vs Singlepath® Salmonella, Merck</i>	VALOR MEDIO	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	>99.9%	69.2% - 100%
ESPECIFICIDAD	>99.9%	86.3% - 100%
PPV	>99.9%	-
NPV	>99.9%	-
PRECISIÓN	>99.9%	90.0% - 100%

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

REACTIVIDAD CRUZADA

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

Campylobacter coli

Campylobacter jejuni

Clostridium difficile

Escherichia coli O157:H7

Helicobacter pylori

Listeria monocytogenes

Shigella boydii

Shigella dysenteriae

Shigella flexneri

Shigella sonnei

Streptococcus aureus

Yersinia enterocolitica

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. PFEIFER Y, MATTEN J, RABSCH W. Salmonella enterica serovar typhi with CTX-M β -lactamase, Germany. Emerg Infect Dis. 2009 Sep. <http://www.cdc.gov/EID/content/15/9/1533.htm>.
2. ABUBAKAR, 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.



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

info@biotical.es
www.biotical.es



biotical health S.L.U.

