

INTENDED USE

The CerTest *Salmonella* is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Salmonella* (*S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*) in stool samples to detect a possible salmonellosis infection in humans.

INTRODUCTION

A total of 2501 different *Salmonella* serotypes have been identified up to 2004. *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*, the two most important serotypes for salmonellosis transmitted from animals to humans.

Salmonella infections are acquired by eating contaminated poultry, eggs or dairy products. The *Salmonella* spp. also spreads easily from raw or undercooked poultry to innocent vegetables, fruit or other foods via contaminated hands, knives, countertops or cutting boards. Due to the ability of *Salmonella* to multiply in a wide variety of foods, it is important to be able to isolate the organisms even when present in very small numbers in the faeces.

The symptoms of *Salmonella* infection are abdominal pain, diarrhoea, mild fever, chills, headache, nausea and vomiting, developing 12–72 hours (but occasionally as long as 7 days) after infection. The discomfort generally lasts a few days. It can be dangerous for the elderly, infants and the immunocompromised, who may become extremely ill. *Salmonella* is also one of the leading predictors for reactive arthritis, a painful, chronic and potentially debilitating condition that causes joint inflammation.

CerTest *Salmonella* provides a rapid detection of *Salmonella* spp. directly from the stool samples.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest *Salmonella* is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Salmonella* (*S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*) in stool samples. The membrane is pre-coated with antibodies, on the test band region, to recognize this antigen.

During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-*Salmonella* antibodies-red microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate (result region). The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

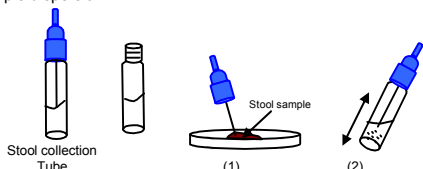
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, 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 sample as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Unscrew the cap and use the stick to pick up the sample (approx. 150mg); introduce the stick in 3 different parts of the sample; if the stool sample was liquid, take 150 µL using a pipette, and add the sample into the stool collection tube.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



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.

MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Salmonella* card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with sample diluent

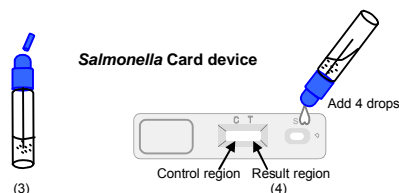
MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

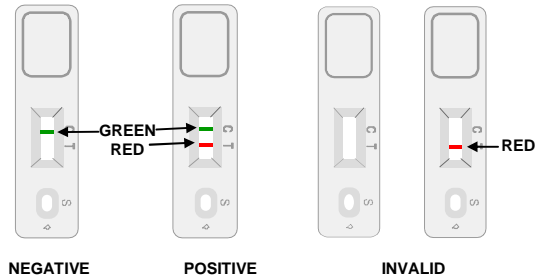
TEST PROCEDURE

Allow the tests, stool or enrichment samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the cap (3).
2. Remove the CerTest *Salmonella* device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense 4 drops or 100 µL into the circular window marked with an arrow (4).
- 4.- Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



- NEGATIVE:** Only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).
- POSITIVE:** In addition to the GREEN control band, a distinguishable RED band also appears in the site marked with the letter T (result line).
- INVALID:** A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless of the appearance or not of the result line (RED). Insufficient specimen volume or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the tests with a new test. If the problem 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 result line region (T) will vary depending on the concentration of antigen present in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

A green line appearing in the control region (C) is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

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 168 000 visits to physicians, 15 000 hospitalizations and 580 deaths annually.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
3. Some stool samples can decrease the intensity of the control green line.
4. Positive frozen and thawed samples could cause wrong results. Use fresh stool samples.
5. A negative result is not meaningful because it is possible the *Salmonella* content in the stool sample to be too small. A *Salmonella* determination should be carried out on a sample from an enrichment culture.
6. This test provides a presumptive diagnosis of *Salmonella* infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated must be based in the correlation of the results with further clinical observations.

PERFORMANCE

Detection limit
The detection limit for the different serotypes is: *S. enteritidis* 1x10⁴ bacteria/mL, *S. typhimurium* 1x10⁴ bacteria/mL and *S. typhi*: 1x10⁷ bacteria/mL.

Sensitivity and specificity
It was performed an evaluation using CerTest *Salmonella*. It was studied 40 stool samples and the results were confirmed by Singlepath@Salmonella. CerTest *Salmonella* test showed >99% of sensitivity and >97% of specificity. The antibodies used to elaborate this test recognise *Salmonella* epitopes found in stool of patients, as well as in preparations from the bacteria cultures *in vitro*. This preliminary values has to be taken with precaution until more evaluation data will be available.

Cross-reactivity

- It was performed an evaluation to determine the cross reactivity of CerTest *Salmonella*. There is not cross reactivity with common intestinal pathogens, other organisms and substances occasionally present in feces:
- *H. pylori*
 - *Escherichia coli* O157
 - *Listeria monocytogenes*
 - *Campylobacter*

REFERENCES

1. 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.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	<i>In vitro</i> diagnostic device		Batch code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		Sample diluent

USO PREVISTO

CerTest Salmonella es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección de la cualitativa de *Salmonella* (*S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*) en heces para detectar una posible salmonelosis en humanos.

INTRODUCCIÓN

Hasta el año 2004 se han identificado 2501 serotipos diferentes de *Salmonella*. *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*, son los dos serotipos más importantes de salmonelosis transmitida de animales a humanos.

La infección por *Salmonella* puede adquirirse a través del consumo de pollo, huevos o productos lácteos contaminados. *Salmonella* también puede propagarse fácilmente a partir de pollo crudo o poco cocinado, por contaminación cruzada a verduras, frutas u otros alimentos a través de manos, cuchillos y encimeras o tablas para cortar. Debido a la capacidad de *Salmonella* de multiplicarse en una gran variedad de alimentos, es importante ser capaz de aislar estos organismos aun cuando se encuentren en poca cantidad en las heces.

Los síntomas de la infección por *Salmonella* son, 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. El malestar generalmente dura unos pocos días. Puede ser peligroso para ancianos, niños y personas inmunodeprimidas, y alcanzar un estado muy grave. *Salmonella* es también uno de los indicadores principales para la artritis reactiva, un proceso doloroso, crónico y potencialmente debilitatorio que provoca inflamación en las articulaciones.

CerTest Salmonella proporciona una rápida detección de *Salmonella* spp. directamente en muestras de heces.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest Salmonella es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de *Salmonella* en muestras de heces. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos anti-*Salmonella*-microesferas rojas) previamente secados en el test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una línea de color ROJO aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de *Salmonella*, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

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 la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

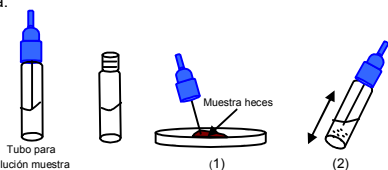
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4° C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, deben mantenerse congeladas a -20° C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Considerar previamente la cantidad de muestra necesaria antes de descongelar ya que ciclos de congelación y descongelación no son recomendables. Homogeneizar la muestra de heces todo lo que sea posible antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- (1) Desenroscar el tape y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se introduce el palito en 3 zonas distintas de la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces (aprox. 150mg), si la muestra fuera líquida se tomarán 150 µL de la misma con una pipeta, introducir la muestra en el tubo para dilución.
- (2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



Nota: Es posible que el contenido de *Salmonella* en la muestra de heces sea muy bajo por lo que un resultado negativo no significa que sea negativo para *Salmonella*. Por lo que se recomienda realizar un enriquecimiento de la muestra en medio Rappaport-Vassiliadis.

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest Salmonella card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tapón de extracción

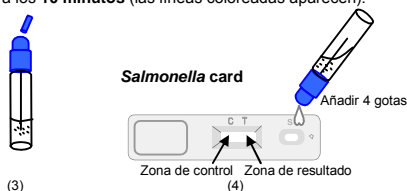
MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de la muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

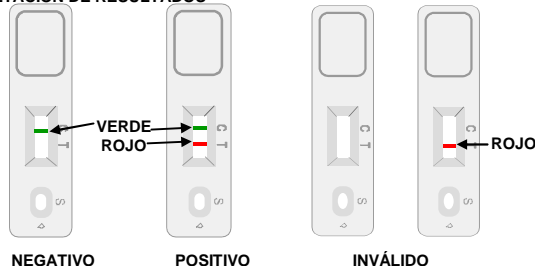
PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, las muestras de heces, las muestras enriquecidas y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 °C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba. Pasos a seguir:

1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest Salmonella de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 4 gotas o 100 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo (4).
4. Leer el resultado a los 10 minutos (las líneas coloreadas aparecen).



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, 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 resultado).

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (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 dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color rojo en la zona de resultado (T) del dispositivo de reacción 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 del antígeno 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 zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado

VALORES ESPERADOS

Salmonelosis constituye un peligro de salud pública y representa un coste muy significativo 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* no-tifoidea provocando 168000 visitas a médicos, 15000 hospitalizaciones y 580 muertes.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
3. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control verde.
4. Muestras positivas congeladas y descongeladas podrían dar lugar a la aparición de resultados erróneos. Usar muestras frescas.
5. Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que el contenido de *Salmonella* en la muestra de heces sea muy bajo. Por lo que, se debería repetir la prueba con la muestra previamente sometida a enriquecimiento.
6. Esta prueba diagnostica una posible infección por *Salmonella* (salmonelosis) situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Límites de detección

El límite de detección para los distintos serotipos es: *S. enteritidis* 1x10⁶ bacterias/mL, *S. typhimurium* 1x10⁶ bacterias/mL and *S. typhi*: 1x10⁷ bacterias/mL.

Sensibilidad y especificidad

Se llevó a cabo una evaluación con CerTest Salmonella. Se estudiaron 40 muestras de heces y los resultados fueron confirmados mediante Singlepath® Salmonella (Merck). CerTest Salmonella mostró >99% de sensibilidad y >97% de especificidad.

Los anticuerpos utilizados para elaborar esta prueba reconocen epitopos de *Salmonella* encontrados en las muestras de heces de los pacientes, así como en las preparaciones provenientes de cultivos de la bacteria *in vitro*.

Estos primeros resultados obtenidos deben ser valorados con precaución hasta que se disponga de más datos provenientes de distintas evaluaciones.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar la reacción cruzada de CerTest Salmonella. No hay reacción cruzada con varios patógenos comunes en el intestino, otros organismos y sustancias que ocasionalmente están presentes en heces:

- *H. pylori*
- *Listeria monocytogenes*
- *Escherichia coli* O157
- *Campylobacter*

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso		Número de referencia
	Almacenar en lugar seco		Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad		Diluyente para muestra