
CERTEST

Salmonella

ONE STEP *Salmonella* CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



For information purposes only



CERTEST *Salmonella*

One Step test to detect *Salmonella* in card format /
Prueba de un solo paso para detección de *Salmonella* en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest *Salmonella* one step card test is a coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Salmonella* in stool samples and *Salmonella* suspected colonies in stool culture.

CerTest *Salmonella* card test offers a simple and a highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of *Salmonella* infection (salmonellosis) and it could be used to identify of suspected isolates of *Salmonella* from selective media (stool culture).

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.

TEST PRINCIPLE

CerTest *Salmonella* is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Salmonella* in stool samples and *Salmonella* suspected colonies in stool culture.

The strip consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with polyclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Salmonella* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (polyclonal antibodies anti-*Salmonella*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

If the sample is positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-*Salmonella* polyclonal antibodies-red polystyrene microspheres), which was previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-*Salmonella* antibodies present on the membrane (test line) capture the coloured conjugate and the red line will be visible. This band is used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no *Salmonella* antigens presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with the red-coloured conjugate complex. The anti-*Salmonella* antibodies present on the membrane (test line) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red line will not appear.

Whether the sample is positive or not, the mixture continues to move across the membrane to the immobilized specific antibodies placed in the control line. The anti-specific protein antibodies present on the membrane will capture control green-conjugate complex and the control line will always appears. The presence of this green line serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

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.

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 tests 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 CerTest *Salmonella* test. Do not use any other commercial kit component.
- The presence of yellow lines in the results window (control line zone and test line zone), before using the test, is completely normal and does not imply failure of the test functionality.



- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

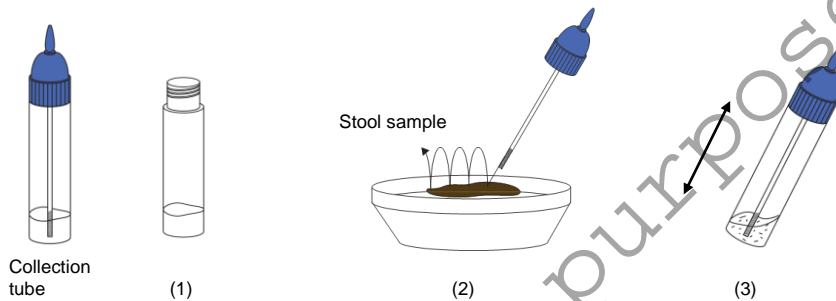
SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

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):

1. 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.
2. Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



Suspected *Salmonella* colonies in stool culture

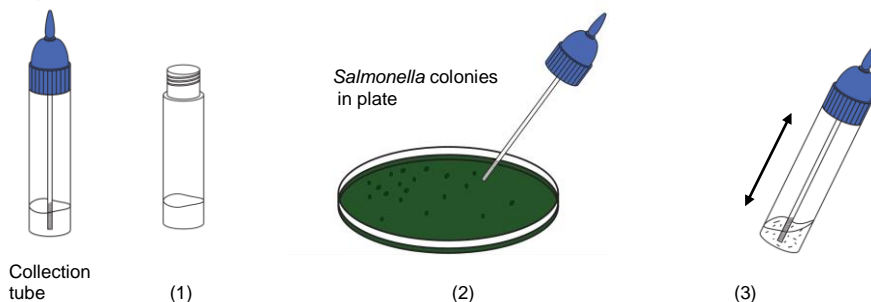
The Hektoen Enteric Agar (HEA) is the method of choice for the isolation of *Salmonella* (aerobic atmosphere, 24 hours/37°C). After 24 hours of incubation in Hektoen the typical *Salmonella* colonies will be green with black centre due to H₂S production.



Salmonella colonies in HEA

1. 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.
2. Close the tube with the diluent and suspected colonies. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).

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

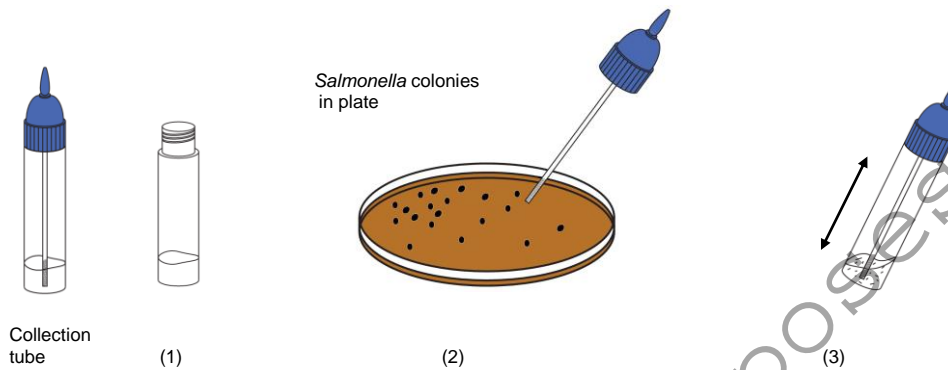


Salmonella Shigella Agar (SS) is another method for the isolation of *Salmonella* (aerobic atmosphere, 24-48 hours/35-37°C). After the incubation period in SS the typical *Salmonella* colonies will be transparent without any black center. The SS agar is a very inhibitor that sometimes prevents the growth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



Salmonella colonies in SS

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



MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Salmonella* card tests
- Instructions for use
- Collection tubes with diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

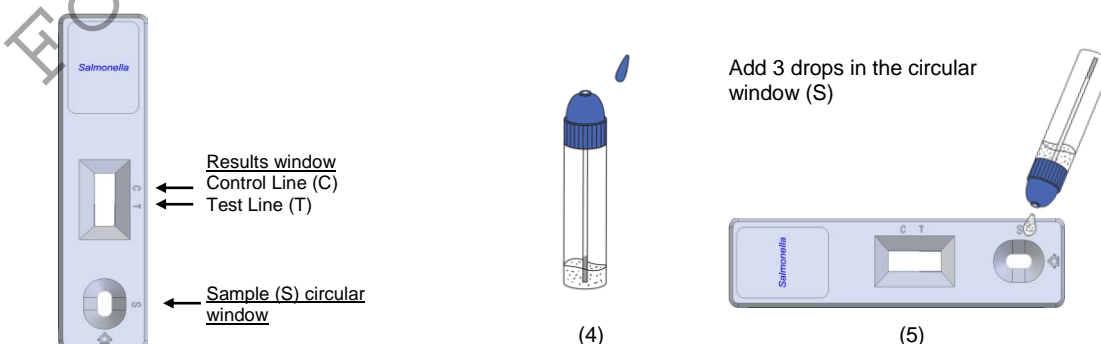
- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer
- Hektoen Enteric Agar (HEA)/*Salmonella* Shigella Agar (SS)

TEST PROCEDURE

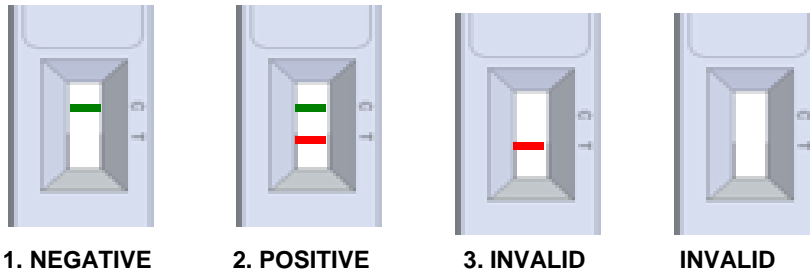
Allow tests, samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

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

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



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



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

NEGATIVE: Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persist, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

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

QUALITY CONTROL

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

LIMITATIONS

- The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
- An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
- The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentrations to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
- CerTest *Salmonella* should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
- Positive results determine the presence of *Salmonella* in faecal samples, nevertheless, it can be due to several causes and/or species. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques (biochemical and serological methods or by PCR) to confirm the results. A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
- A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the stool sample is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, a *Salmonella* determination should be carried out on a sample from an enrichment culture.
- Bloody stool samples can contain components that may cause non-specific reactions in the test. Every bloody stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.
- Mucous stool samples may cause non-specific reactions in the test- Every mucous stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.

EXPECTED VALUES

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit range for the different species are:

Salmonella enteritidis: $5 \cdot 10^7 - 3.12 \cdot 10^6$ CFU/mL of inactivated *Salmonella enteritidis* antigen cells culture.

Salmonella typhimurium: $10 \cdot 10^6 - 6.25 \cdot 10^5$ CFU/mL of inactivated *Salmonella typhimurium* antigen cells culture.

Salmonella typhi: $10 \cdot 10^7 - 6.25 \cdot 10^6$ CFU/mL of inactivated *Salmonella typhi* antigen cells culture.

Clinical sensitivity and specificity

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

		qPCR test: Viasure <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> & <i>Y. enterocolitica</i> Real Time Detection kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Salmonella</i>	+	47	2	49
	-	15	103	118
	Total	62	105	167

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

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

Cross reactivity

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

<i>Adenovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O:026	<i>Norovirus</i> GII
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O:157	<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> antigen GDH	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	<i>Hemoglobin</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	<i>Lactoferrin</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Legionella</i>	<i>Transferrin</i>
<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

ESPAÑOL**USO PREVISTO**

CerTest *Salmonella* card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de *Salmonella* en muestras de heces y de colonias sospechosas de *Salmonella* en coprocultivo.

CerTest *Salmonella* card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para 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).

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 spp* 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.

FUNDAMENTO DEL TEST

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

La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos policlonales frente a *Salmonella* en la línea de test (T) en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos policlonales frente a *Salmonella*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos policlonales anti-*Salmonella*-microesferas rojas de látex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza 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 membrana (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Esta línea se usará para la interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de *Salmonella* o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Salmonella* presentes en la membrana (línea de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido 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 el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.

- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Salmonella* test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona línea de control y zona línea de test), antes de utilizar el test, es completamente normal y no supone fallo de funcionalidad del test.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

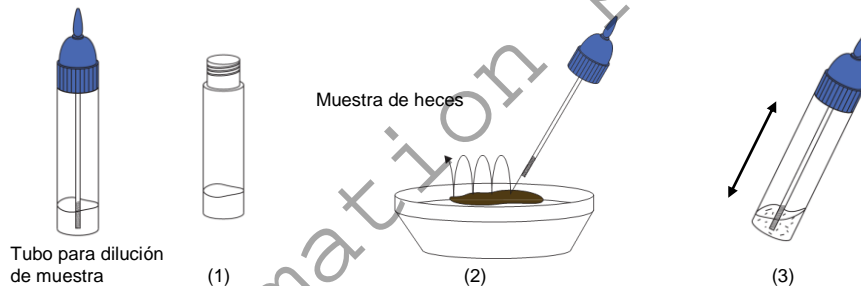
RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Muestras de heces

Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se pueden conservar en frío (2-8°C), máximo durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°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):

1. 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, añadida aprox. 125µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



Colonias sospechosas de *Salmonella* en coprocultivo

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

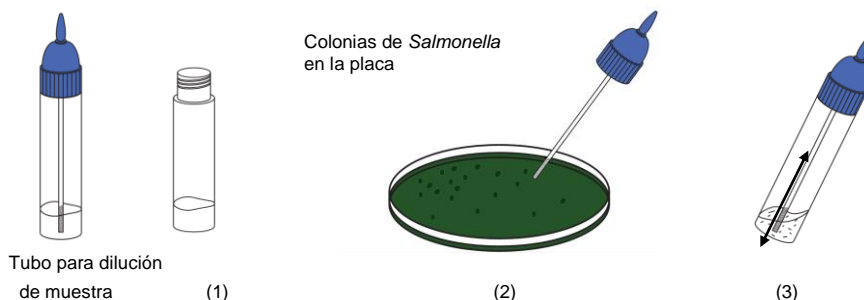
1. Examinar las placas Hektoen tras 1 día de incubación. Seleccionar colonias típicas de *Salmonella*. Abrir el tubo para dilución de muestra (1). Usar el palito o una aguja de siembra para "picar" en 3 ó 4 colonias sospechosas de *Salmonella* (2) y añadir al tubo para dilución de muestra.



Colonias de Salmonella en HEA

2. Cerrar el tubo con el diluyente y con las colonias sospechosas. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).

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

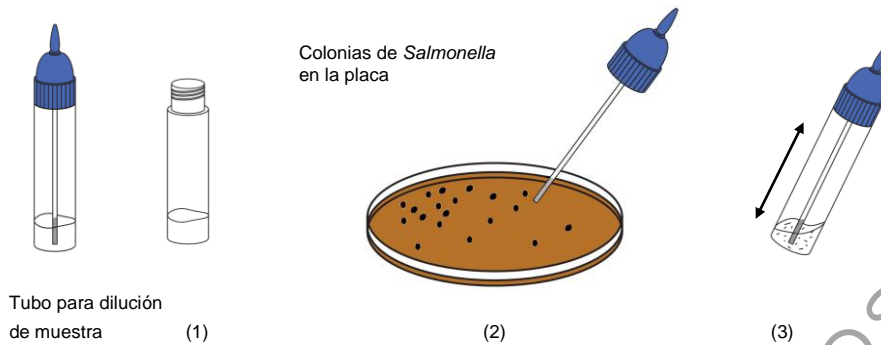


El Agar *Salmonella* Shigella (SS) es otro método para el aislamiento de *Salmonella* (atmósfera aeróbica, 24-48 horas/35-37°C). Tras el periodo de incubación en SS las típicas colonias de *Salmonella* serán transparentes. El agar SS es un medio muy inhibitorio que a veces impide el crecimiento de ciertas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



Colonias de *Salmonella* en SS

- Examinar las placas SS tras el periodo 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).



MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Salmonella* card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

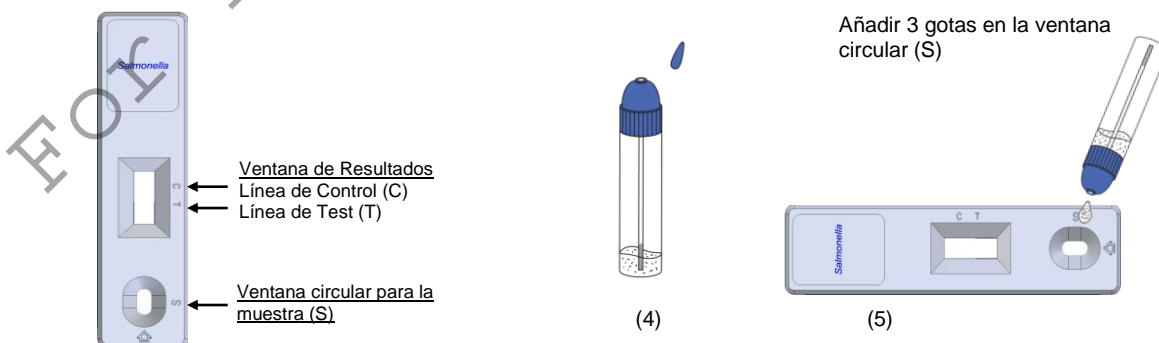
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro
- Agar entérico de Hektoen (HEA)/Agar *Salmonella* Shigella (SS)

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, 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.

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

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



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



1. NEGATIVO

2. POSITIVO

3. INVÁLIDO

INVÁLIDO

	<i>Salmonella</i>	Interpretación de resultados
1.	- VERDE	No hay presencia de <i>Salmonella</i> . No hay infección causada por <i>Salmonella</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Salmonella</i> . Infección por <i>Salmonella</i> , que podría llevar asociada dolor abdominal, diarrea, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, náuseas y vómitos, se desarrollan entre 12-72 horas (pero a veces pueden durar hasta 7 días) tras la infección.
3.	Cualquier otro resultado	Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

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

CONTROL DE CALIDAD

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

LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- CerTest *Salmonella* debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Salmonella* en muestras de heces, sin embargo, ésta puede ser debida a varias causas y/o especies. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos y serológicos o por PCR) para confirmar los resultados. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.

6. Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de *Salmonella* en la muestra de heces sea inferior al valor de límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de *Salmonella*, se debería repetir la prueba con la muestra previamente sometida a enriquecimiento.
7. Las muestras de heces sanguinolentas contienen componentes que podrían causar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra sanguinolenta cuyo resultado es positivo debe confirmarse con otras técnicas.
8. Muestra de heces mucosas podrían provocar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra de heces mucosas cuyo resultado sea positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas para confirmar el resultado.

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.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

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 de células de antígeno de *Salmonella enteritidis*.

Salmonella typhimurium: $10 \cdot 10^6 - 6.25 \cdot 10^5$ UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella typhimurium*.

Salmonella typhi: $10 \cdot 10^7 - 6.25 \cdot 10^6$ UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella typhi*.

Sensibilidad y especificidad clínica

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

		qPCR test: Viasure <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> & <i>Y. enterocolitica</i> PCR Real Time Detection kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Salmonella</i>	+	47	2	49
	-	15	103	118
	Total	62	105	167

CerTest <i>Salmonella</i> vs Viasure <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> & <i>Y. enterocolitica</i> Real Time PCR Detection Kit		
	Valor Medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	75.8%	63.3 – 85.8%
Especificidad	98.1%	93.5 – 99.8%
VPP	95.9%	86.0 - 99.5%
VPN	87.3%	79.9 – 92.7%

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

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de CerTest *Salmonella*; 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> O:157	<i>Rotavirus</i>
<i>Calprotectina</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> antigen GDH	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	<i>Hemoglobin</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	<i>Lactoferrina</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Legionella</i>	<i>Transferrina</i>
<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

REFERENCES/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.
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.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

IVD In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico in vitro	Keep dry Almacenar en lugar seco	Use by Fecha de caducidad	Manufacturer Fabricante	LOT Batch code Número de lote
Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	Temperature limitation Limitación de temperatura	Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL Sample diluent Diluyente de muestra	REF Catalogue number Número de referencia
Do not re-use No reutilizar	CE CE marking/ Marcado CE			