VITASSAY

Salmonella typhi+paratyphi

Test rápido de detección cualitativa simultanea de Salmonella typhi y Salmonella paratyphi en muestras de heces humanas.

IU-7455031 Ed00 Agosto 2016

CE IVD ES

Vitassay

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Vitassay Salmonella typhi + paratyphi es un ensayo rápido, inmunocromatográfico y en un solo paso para la detección cualitativa de Salmonella typhi y Salmonella paratyphi en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad que sirve de ayuda en el diagnóstico de una posible infección por Salmonella typhi y/o Salmonella paratyphi.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por Salmonella y la fiebre entérica se mantienen como un importante problema de salud pública en algunas partes del mundo, especialmente en países en desarrollo.

La forma más severa de la infección por Salmonella es la fiebre tifoidea causada por los serotipos adaptados al hospedador humano, como Salmonella typhi y Salmonella paratyphi.

La Salmonella entérica serotipo typhi y S. entérica paratyphi A, B y C producen fiebres tifoidea y paratifoidea. Se caracterizan por el largo período de incubación (14 días de media) y son comunes en las regiones tropicales, incluyendo Asia del Sur y del sureste. Aunque se han descritos casos en países no tropicales (por ejemplo, Estados Unidos y Japón) de viajeros que regresan a sus países, los casos atribuidos de origen doméstico en estos países no son frecuentes dado a la mejora de la higiene en las últimas décadas.

Estos patógenos se adquieren por ingestión de comida o agua contaminada fecalmente o directamente por portadores asintomáticos, siendo frecuentes los brotes. Algunas formas importantes de transmisión en algunos países incluye moluscos recogidos en aguas residuales, frutas crudas, vegetales fertilizados con estiércol humano y comidos crudos, leche o derivados lácteos, o durante la preparación de comida por las manos.

PRINCIPIO

Vitassay Salmonella typhi + paratyphi es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de Salmonella typhi y Salmonella paratyphi en muestras de heces humanas.

Tira A: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a Salmonella typhi.

Tira B: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a Salmonella paratyphi.

Durante el proceso, la muestra reacciona con los anticuerpos frente a Salmonella typhi (tira A) y Salmonella paratyphi (tira B), formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. Si la muestra es positiva en Salmonella typhi, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerá una línea roja en la tira A, y si la muestra es positiva en Salmonella paratyphi, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea roja en la tira B. Aunque la muestra sea positiva o negativa, la mezcla continua moviéndose a través de la membrana y la línea verde de control siempre aparecerá (para ambas tiras).

La presencia de una línea verde (en la zona de control (C)) indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar el test si el envase primario se encuentra dañado.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Para evitar errores de contaminación, un nuevo test deberá utilizarse para la evaluación de cada muestra. Dispositivos de un solo uso.
- Los tests tras su utilización 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 **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi**. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- 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.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 30ºC (35.6 y 86ºF) en su envase original sellado.

Así se garantiza el óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

No debe abrirse hasta el momento de su uso.

No congelar.

Vitassay
Parque Tecnológico WALQA
Ctra. N.330, Km.566
22197-Cuarte (Huesca, SPAIN)
www.vitassay.com

MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
▪ **25** tests/kit **Vitassay Salmonella typhi+paratyphi.** ▪ Instrucciones de uso. ▪ **25** viales con diluyente para dilución de muestra.	▪ Recipiente para recogida de muestras. ▪ Guantes desechables. ▪ Cronómetro.

RECOGIDA DE MUESTRAS

La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2 g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

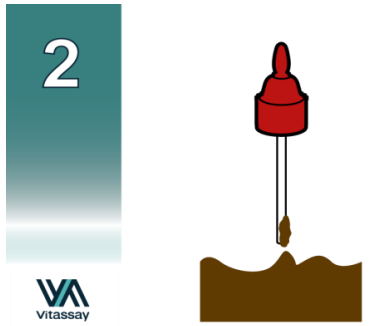
Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8ºC/35.6-46.4ºF) durante 1-2 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 1 año, debe congelarse a -20ºC (-4ºF). La muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

No se recomiendan ciclos de congelación descongelación, por lo que, se debe descongelar únicamente la cantidad necesaria de muestra para hacer la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

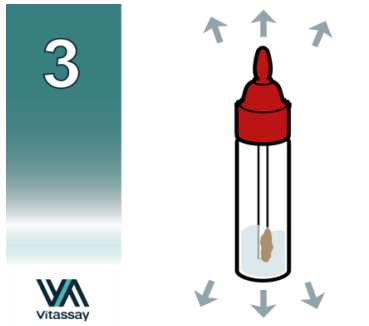
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Abrir el vial con diluyente para dilución de muestra (figura 1).
2. Tomar la cantidad de muestra necesaria para la realización del test a partir de las heces recogidas, para ello, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra, tomando aprox. 125 mg, (figura 2), el palo con la muestra tomada se introduce en el vial para dilución de muestra. Si la muestra es líquida, se añade aproximadamente 125 µL en el vial para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
3. Cerrar el vial con la muestra y el diluyente. Agitar vigorosamente para facilitar la dispersión de la muestra (figura 3).

Vial de dilución de muestra.



Toma de muestras en 4 zonas distintas.



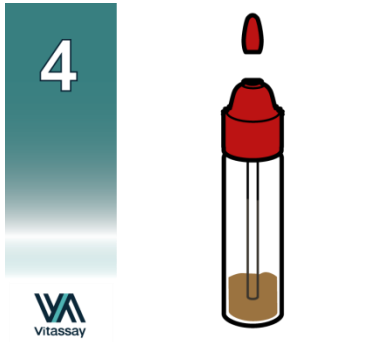
Poner la muestra dentro del vial, cerrar el tapón y agitar.

PROCEDIMIENTO

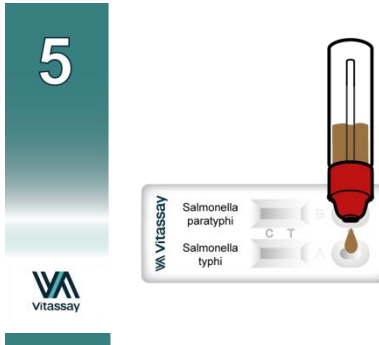
Antes de realizar la prueba, los test, muestras de heces, controles y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30ºC / 59-86ºF). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el vial con la muestra para asegurar una buena dilución de la muestra.
2. Sacar **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi** de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el vial con diluyente para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (figura 4) y dispensar 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra S para la tira A - Salmonella typhi (figura 5), y 4 gotas, usando el mismo vial, en la ventana circular marcada con la letra S para la tira B – Salmonella Paratyphi (figura 6).
4. Leer el resultado a los **10 minutos**. No leer resultados transcurridos más de 10 minutos.

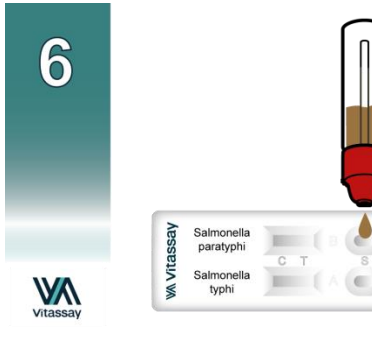
Si no se observa el avance de la cromatografía debido a la presencia de partículas sólidas, se debe agitar con el palito la muestra en la ventana. Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



Cortar la punta del tapón.

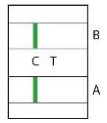


Dispensar 4 gotas en la ventana circular, marcada con la letra S para la tira A - Salmonella typhi.

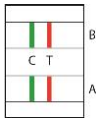
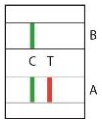
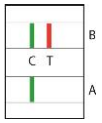


Dispensar 4 gotas en la ventana circular, marcada con la letra S para la tira B – Salmonella paratyphi.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	Tira A Salmonella typhi	Tira B Salmonella paratyphi	INTERPRETACIÓN
	**Negativo**	**Negativo**	No existe presencia de Salmonella typhi ni paratyphi en la muestra. No hay infección causada por salmonella typhi ni paratyphi.
	VERDE	VERDE	

Vitassay
Parque Tecnológico WALQA
Ctra. N.330, Km.566
22197-Cuarte (Huesca, SPAIN)
www.vitassay.com

	**Positivo** VERDE-ROJO	**Positivo** VERDE-ROJO	Existe presencia de Salmonella typhi y paratyphi. Infección causada por Salmonella typhi y paratyphi.
	**Positivo** VERDE-ROJO	**Negativo** VERDE	Existe presencia de Salmonella typhi. Infección causada por Salmonella typhi.
	**Negativo** VERDE	**Positivo** VERDE-ROJO	Existe presencia de Salmonella paratyphi. Infección causada por Salmonella paratyphi.
Cualquier otro resultado			Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test. **Nota:** procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, o volumen insuficiente de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Si los síntomas o la situación continuan, dejar de utilizar el kit y contactar con su distribuidor local.

Observaciones: La intensidad de la línea de color rojo en la zona de línea de test (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi**. La línea verde aparece como control interno del proceso (C), comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- No debe utilizarse **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi** una vez abierto y transcurridas 2 horas.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas de color pardo). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar dependiendo de la concentración de antígenos.
- No ha sido determinado el uso del test en muestras diferentes a las humanas.
- La calidad de **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras.
- Los resultados positivos determinan la presencia de Salmonella typhi y/o paratyphi en muestras de heces. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio para determinar 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.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor límite de detección. Si los síntomas o la situación continuan, para la determinación de Salmonella typhi y/o paratyphi se debería realizar la prueba con la muestra previamente sometida a enriquecimiento.

VALORES ESPERADOS

La gastroenteritis es frecuentemente producida por la Salmonella no tifoidea como la Salmonella entérica serotipo Typhimurium, serotipo enteritidis, serotipo Stanley y serotipo Weltevreden. La distribución de los diferentes serotipos de Salmonella varían entre regiones y países. Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud estima que 17 millones de casos de fiebre tifoidea se producen anualmente, donde la Salmonella entérica serotipo Typhi es el principal organismo aislado en las últimas décadas, sin embargo, en algunas provincias de China y Pakistan, hay un incremento del número de casos de fiebre causados por Salmonella Paratyphi A.

La enfermedad sigue siendo un problema para la salud pública en países en desarrollo. En el año 2000, se estimó que sobre 21.6 milliones (una incidencia del 3.6 por cada mil habitamntes) de casos de fiebre tifoidea en el mundo, resultando en un total de 216000 muertes y más del 90% de esta morbilidad y mortalidad ocurrió en Asia.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, utilizando **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi** y otro test comercializado (Singlepath®Salmonella, Merck).

Los resultados se muestran a continuación:

		Singlepath®Salmonella		
		Positivo	**Negativo**	**Total**
Vitassay Salmonella typhi + paratyphi	**Positivo**	10	0	10
	Negativo	0	25	25
Salmonella typhi	**Total**	10	25	35

		Singlepath®Salmonella		
		Positivo	**Negativo**	**Total**
Vitassay Salmonella typhi + paratyphi	**Positivo**	10	0	10
	Negativo	0	30	30
Salmonella paratyphi	**Total**	10	30	40

Vitassay Salmonella typhi + paratyphi vs Singlepath®Salmonella			
Sensibilidad	**Especificidad**	**VPP**	**VPN**
>99%	>99%	>99%	>99%

Los resultados mostraron que **Vitassay Salmonella typhi + paratyphi** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar Salmonella typhi y Salmonella paratyphi.

Reacciones cruzadas

No se detectaron reacciones cruzadas con los siguientes patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces.

Campylobacter coli	*Listeria monocytogenes*	*Shigella flexneri*
Campylobacter jejuni	*Salmonella typhi (Tira B)*	*Shigella sonnei*
Clostridium difficile	*Salmonella paratyphi (Tira A)*	*Staphylococcus aureus*
E. coli O157: H7	*Shigella boydii*	*Yersinia enterocolitica*
Helicobacter pylori	*Shigella dysenteriae*	

REFERENCIAS/BIBLIOGRAFÍA

1. THONG, K.L.; THE, C.S.J.; CHUA, K.H. "Development and evaluation of a Multiplex Polymerase Chain Reaction for the detection of Salmonella species". Tropical Biomedicine 31(4): 689-697 (2014).

2. ABDULLAHI, MAS'UD. "Prevalent and Multiple drug resistance indexes of typhoidal and non-typhoidal salmonella isolated from stool samples of hospitalized subjects in Kano, North-West, Nigeria". Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology, Vol. 2; Issue 12, December 2015, pp. 3360-3369.

3. TETSURO KOBAYASHI, SATOSHI KUTSUNA; KAYOKO HAYAKAWA; YASUYUKI KATO; NORIO OHMAGARI; HIDEKO URYU; RITSUKO YAMADA; NAOYUKI KASHIWA; TAKAHITO NEI; AKIHITO EHARA; REIKO TAKEI; NOBUAKI MORI; YASUHIRO YAMADA; TOMOMI HAYASAKA; NARITO KAGAWA; MOMOKO SUGAWARA; AI

Vitassay
Parque Tecnológico WALQA
Ctra. N.330, Km.566
22197-Cuarte (Huesca, SPAIN)
www.vitassay.com

SUZAKI; YUNO TAKAHASHI; HIROYUKI NISHIYAMA; MASATOMO MORITA; HIDEMASA IZUMIYA; MAKOTO OHNISHI. "Outbreak of food-borne typhoid fever in Japan in 16 years". American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2016, vol. 94, no. 2, pp. 289-291.

4. MOHAMMAD ATIQUR RAHMAN. "Antimicrobial resistance patterns of Salmonella typhi isolated from stool culture". Chattagram Maa-O-Shishu Hospital Medical College Journal, Vol. 14, Issue 1, January 2015.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

IVD	Producto para diagnóstico *in vitro*		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
LOT	Número de lote	Σ n	Contiene <n> test
DIL	Diluyente de muestra	REF	Número de referencia

Vitassay
Parque Tecnológico WALQA
Ctra. N.330, Km.566
22197-Cuarte (Huesca, SPAIN)
www.vitassay.com