

Salmonella MonlabTest®

MO-804024 20 TESTS

One step test to detect Salmonella antigens

A rapid, one step test for the qualitative detection of *Salmonella* in human feces.
For professional *in vitro* diagnostic use only.

INTENDED USE

Salmonella MonlabTest® is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Salmonella* in feces specimens, which might be useful for the diagnosis of salmonellosis.

SYNTHESIS

Clinical syndromes in humans caused by infection with *Salmonella enterica* are divided into typhoid fever, caused by *S. enterica serovars typhi* and *paratyphi*, and a range of clinical syndromes, including diarrhoeal disease, caused by the non-typhoid *salmonellae* (NTS) of which there are around 2,500 serovars. Typhoid fever is a human-restricted and highly adapted invasive systemic disease of adults and children that shows little association with immunosuppression. In contrast, NTS have a broad vertebrate host range and epidemiology that often involves food animals, at least in industrialised countries where it usually presents as gastroenteritis. Severe, invasive disease due to NTS is usually associated with the immunocompromised state common in HIV-infected adults. Invasive NTS disease is also common in young African children with co-morbidities such as severe anaemia, malnutrition and HIV infection.

Salmonella MonlabTest® provides a rapid detection of *Salmonella* directly from the fecal samples.

PRINCIPLE

The *Salmonella* MonlabTest® is a qualitative lateral flow immunoassay for the detection of *Salmonella* in human feces samples. The membrane is pre-coated with antibodies against *Salmonella* antigens on the test line region. During testing, the sample reacts with the particle coated with anti-*Salmonella* antibodies which was pre-dried on the test strip. The mixture moves upward on the membrane by capillary action. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will react with the mixture conjugates and generate coloured lines. A green coloured band always appears in the control line and serves as verification that sufficient volume was added, that proper flow was obtained and as an internal control for the reagents.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- The test should remain in the sealed pack until use.
- Do not use the test if pack is damaged.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, do not eat, drink or smoke in the area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The test should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
- The presence of yellow lines in the results window (control and test line zone) that are visible before using the test are completely normal. That not means failure on test functionality.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pack either at refrigerated or room temperature (2-30°C/36-86°F). The test is stable through the expiration date printed on the sealed pack. The test must remain in the sealed pack until use. Do not freeze.

MATERIALS PROVIDED	MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED
<ul style="list-style-type: none"> - 20 Tests - Instruction for use - 20 Specimen collection vials with buffer - 1 Control -: negative swab + testing tube + pipette - 1 Control +: positive swab + testing tube + pipette 	<ul style="list-style-type: none"> - Specimen collection container - Disposable gloves - Timer

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect sufficient quantity of feces (1-2 g or mL for liquid sample). Stool samples should be collected in clean and dry containers (no preservatives or transport media). The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C/36-46.4°F) for 1-2 days prior to testing. For longer storage (maximum 1 year) the specimen must be kept frozen at -20°C/-4°F. Freezing and thawing cycles are not recommended. The sample will be totally thawed, brought to room temperature and mix as thoroughly as possible before testing.

PROCEDURES

To process the collected stool samples (see illustration 1):
Use a separate specimen collection vial for each sample. Unscrew the cap of the vial and introduce the stick, only the part of the propeller and as vertical as possible, **four times** into the same faecal specimen to pick up quite a lot of sample. Close the vial with the buffer and stool sample. Shake the vial in order to assure good sample dispersion. For liquid stool samples, aspirate the faecal specimen with a dropper and add 125µL into the specimen collection vial with buffer.

Test Procedure (see illustration 2)
Allow the tests, stool samples and buffer to reach to room temperature (15-30°C/59-86°F) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Remove the *Salmonella* MonlabTest® from its sealed pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collection vial to assure good sample dispersion. Break off the top of the vial.
3. Use a separate device for each sample. **Dispense 3 drops** into the specimen well (S). Start the timer.
4. Read the result at **10 minutes** after dispensing the sample.

Illustration 1

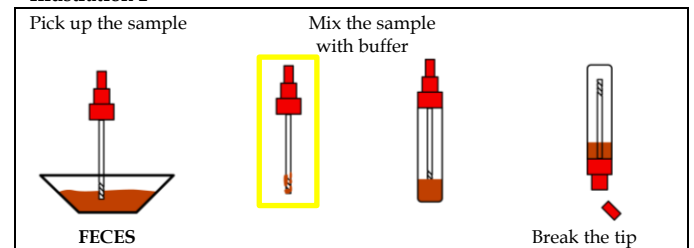
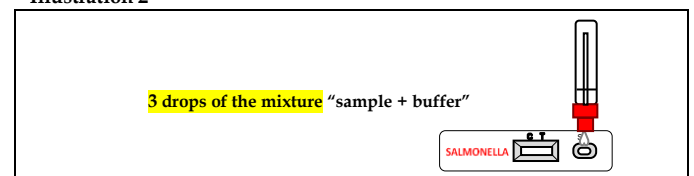
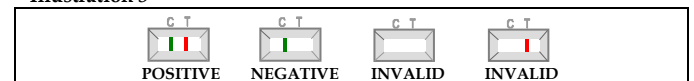


Illustration 2



INTERPRETATION OF RESULTS

Illustration 3



POSITIVE: Two lines appear across the central window. In the result line region, a **red** test line marked in the illustration 3 with the letter T, and in the control line region, a **green** control line marked in the illustration 3 with the letter C.

NEGATIVE: Only one **green** band appears across the control line region marked with the letter C at the illustration 3 (control line).

INVALID: Total absence of the **green** control coloured band regardless the appearance or not of the **red** test line. See illustration Note: Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test 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 (I) will vary depending on the concentration of antigens 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 controls are included in the test:

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

External Quality Control

Each kit contains a positive and negative control material. Use the control swabs to check that the extraction reagents and the test are working properly. Also use the controls to test that you are able to correctly perform the test procedure.

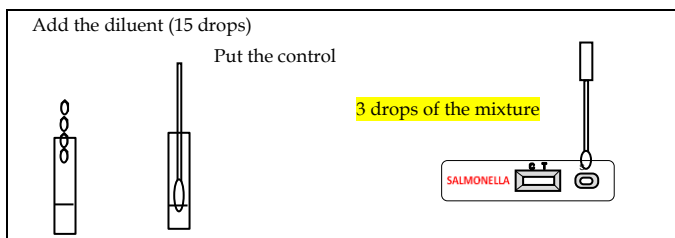
Quality Control Procedure:

Salmonella Positive control: Remove the *Salmonella* positive control from its sealed pouch. Add the diluent (15 drops) in a testing tube. Put the *Salmonella* positive control swab, mix 60 seconds and extract as much liquid possible from the swab. Discard the swab. Remove the test from its sealed pouch and **dispense 3 drops** of the positive control liquid into the specimen well (S).

Result: *Salmonella* positive (see interpretation of results).

Salmonella Negative control: Repeat the procedure for Negative Swab Control using the Reagent Control (-) instead the Reagent Control (+)

Result: *Salmonella* negative (see interpretation of results).



LIMITATIONS

1. *Salmonella* MonlabTest® will only indicate the presence of *Salmonella* in the specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of *Salmonella* antigens in feces specimens only. Neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen concentration can be determined by this test.
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 line.
4. Freezing and thawing cycles for the sample are not recommended, it could cause wrong results.
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 salmonellosis. All results must be interpreted together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.
7. Mucous and/or bloody stool samples could cause non-specific reactions in the test. Mucous and/or bloody stool samples whose result is positive should be followed up with other techniques to confirm the result.

EXPECTED VALUES

Typhoid fever and salmonellosis are public health problems in developing countries, where the incidence of cases per year is 200-

500/100.000. Transmission occurs by contamination of water or food with bacteria. Animals and humans are the principal reservoirs.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Detection limit

The detection limit range for the different species are: $5 \cdot 10^7 - 3.12 \cdot 10^6$ CFU/mL of inactivated *Salmonella enteritidis* antigen cells culture, $10 \cdot 10^6 - 6.25 \cdot 10^5$ CFU/mL of inactivated *Salmonella typhimurium* antigen cells culture, $10 \cdot 10^7 - 6.25 \cdot 10^6$ CFU/mL of inactivated *Salmonella typhi* antigen cells culture.

Sensitivity and specificity

It was performed an evaluation using *Salmonella* MonlabTest® compared with a commercial qPCR kit (*Salmonella*, *Campylobacter* & *Y. enterocolitica* Real Time PCR Detection kit).

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

	<i>Salmonella</i> MonlabTest® vs <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> & <i>Y. enterocolitica</i> Real Time PCR Detection Kit	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%

Cross-Reactivity

It was performed an evaluation to determine the cross reactivity of *Salmonella* MonlabTest®. There is not cross reactivity with common gastrointestinal pathogens, other organisms and substances occasionally present in feces.

<i>Adenovirus</i>	<i>Hemoglobina human/bovine/pig</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Lactoferrin</i>
<i>Calprotectin</i>	<i>Legionella</i>
<i>Campylobacter coli/jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Norovirus GI/Norovirus GII</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Rotavirus</i>
<i>Cryptosporidium</i>	<i>Shigella boydii/dysenteriae/flexneri/sonnei</i>
<i>Entamoeba dispar/Entamoeba histolytica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli O:111; O:026; O157:H7</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Giardia</i>	<i>Transferrin</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Yersinia enterocolitica O:3/O:9</i>

REFERENCES

- GORDON, M, et al, "Invasive salmonellosis in Malawi". J Infect Developing Countries 2008; 2(6):438-442.
- SANCHEZ-JIMENEZ, M. et al. "Validation of a PCR for diagnosis of typhoid fever and salmonellosis by amplification of the *hlyA* gene in clinical samples from Colombian patients", Journal of Medical Microbiology (2004), 53, 875-878.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by



Salmonella MonlabTest®

MO-804024 20 TESTS

Test rápido para la detección de antígenos de *Salmonella*



IVD

Test rápido para la detección cualitativa de antígenos de *Salmonella* en muestras de heces humanas.

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Salmonella MonlabTest® es un test rápido inmunocromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de *Salmonella* en muestras de heces humanas que sirve de ayuda en el diagnóstico de una posible infección por salmonelosis.

RESUMEN

Los cuadros clínicos provocados por una infección por *Salmonella enterica* en humanos se dividen en: fiebre tifoidea, causada por *Salmonella enterica* serotipos *typhi* y *paratyphi* y en otros cuadros clínicos, que incluyen enfermedad diarreica, provocada por *Salmonellas* no tifoideas (NTS) que son aproximadamente unos 2500 serotipos. La fiebre tifoidea es una enfermedad exclusiva de humanos, altamente adaptada, de tipo invasivo y sistémica en adultos y niños asociada con inmunosupresión. Por el contrario, NTS, presenta una amplia variedad de hospedadores vertebrados y su epidemiología incluye alimentos de origen animal, al menos en los países industrializados donde normalmente se presenta como gastroenteritis. La enfermedad causada por NTS más grave e invasiva normalmente está asociada con el estado inmunocomprometido de los adultos infectados con VIH. Esta enfermedad invasiva por NTS también es muy común en niños africanos igualando la morbilidad de la anemia grave, la desnutrición y la infección por el VIH.

Salmonella MonlabTest® proporciona una rápida detección de *Salmonella* directamente de muestras de heces.

PRINCIPIOS

Salmonella MonlabTest® es un inmunoensayo cualitativo para la detección de antígenos de *Salmonella* en muestras de heces humanas. En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a antígenos de *Salmonella*. Durante el proceso, la muestra reacciona con partículas que presentan en su superficie anticuerpos anti-*Salmonella* (conjugado). La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. En el caso de que se de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una o dos líneas coloreadas en la zona de líneas del test. Una línea verde siempre debe verse en la zona de la línea de control ya que, sirve como verificación de que el volumen de muestra añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilizar tras la fecha de caducidad.
- El test debe estar en su envase sellado hasta el momento de usarlo.
- No utilizar el test si el envase se encuentra dañado.
- Cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, no comer, ni beber o fumar en la zona de realización del ensayo.
- Todas las muestras deben ser consideradas como potencialmente peligrosas y manipuladas de la misma forma que si se tratase de un agente infeccioso.
- El test debería desecharse en un contenedor de residuos sanitarios tras su utilización.
- La prueba debería ser realizada durante las dos horas posteriores a la apertura del envase.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona de líneas de control y test) que son visibles antes de utilizar el test son completamente normales. Estas líneas no significan fallo de funcionalidad del test.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El test debe almacenarse en su envase sellado refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). El test se conservará intacto hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No conviene congelar.

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO
<ul style="list-style-type: none"> - 20 Tests - Instrucciones de uso - 20 Viales de muestra con diluyente - 1 Control -: hisopo negativo + tubo de plástico+ pipeta - 1 Control +: hisopo positivo + tubo de plástico+ pipeta 	<ul style="list-style-type: none"> - Envase para la toma de muestras - Guantes desechables - Cronómetro

TOMA DE MUESTRA Y PREPARACIÓN

Tomar suficiente cantidad de muestra de heces (1-2g o mL para muestras líquidas). Las muestras de heces deberían ser almacenadas en un envase limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte). Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C/36-46,4°F) durante 1-2 días antes de usarse. Para una conservación más larga (máximo 1 año) deberían congelarse a -20°C/-4°F. En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente y mezclar muy bien siempre que sea posible antes de usarse. No se recomiendan los ciclos de congelación y descongelación de la muestra.

PROCEDIMIENTO

Para procesar la muestra de heces (ver dibujo 1):

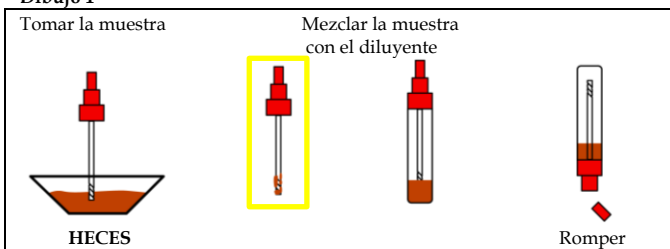
Utilice un vial de muestra con diluyente diferente para cada muestra. Desenrosque la parte de arriba del vial e introduzca el stick, sólo la parte de la hélice y lo más vertical posible, **cuatro veces** en la misma muestra de heces para tomar suficiente cantidad de muestra. Cierre el vial con el tampón y la muestra. Agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras líquidas, utilice una pipeta y añada aprox. 125µL en el vial para muestra con diluyente.

Procedimiento (ver dibujo 2)

Antes de realizar la prueba los test, muestras y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de realizar el ensayo.

1. Sacar *Salmonella* MonlabTest® de su envase sellado y usarlo tan pronto como sea posible.
2. Agitar el vial con la muestra para asegurarse de una buena dispersión. Romper la parte de arriba del vial.
3. Usar un test diferente para cada muestra. **Dispensar 3 gotas** en el pocillo de muestra (S). Poner en marcha el cronómetro.
4. Leer el resultado a los **10 minutos** tras dispensar la muestra.

Dibujo 1



Dibujo 2



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Dibujo 3



POSITIVO: Dos líneas en la zona central de la ventana, en la zona de resultados, una línea **roja** llamada línea del test *Salmonella* marcada con la letra T en el dibujo 3, y en la zona de control una línea **verde**, línea de control marcada con la letra C en el dibujo 3.

NEGATIVO: Únicamente una línea de color **verde** se verá en la zona de control marcada con la letra C (llamada línea de control).

INVALIDO: Ausencia total de la línea de control de color **verde**, a pesar de que aparezca o no la línea **roja** en la zona de resultados. Nota: un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento inadecuado o un deterioro de los



reactivos podrían ser la causa de la no aparición de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests y contacte con su distribuidor.

NOTAS DE AYUDA EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La intensidad de la línea roja de la zona de resultados (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno que se encuentre en la muestra. Sin embargo, esta prueba cualitativa no puede determinar ni la cantidad ni el incremento de antígenos presentes en las muestras.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en el test:

- La línea verde que aparece en la zona de control (C). Esta línea confirma que el volumen añadido de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.

Control de calidad externo

Cada kit contiene un control positivo y un control negativo. Utilice los controles para el comprobar que los reactivos de extracción y el test funcionan correctamente. Utilice también los controles para comprobar que se ha realizado de forma correcta el procedimiento del test.

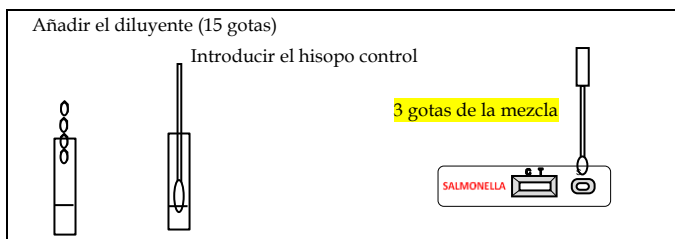
Procedimiento de Control de Calidad:

Control positivo *Salmonella*: sacar el control positivo *Salmonella* de su envase. Añadir el diluyente (15 gotas) en un tubo de ensayo. Poner el hisopo de control positivo de *Salmonella*, mezclar 60 segundos y extraer el máximo líquido posible del hisopo. Desechar el hisopo. Sacar de su envase el test y dispensar 3 gotas del líquido control positivo en la zona de muestra marcada con una S.

Resultado: *Salmonella* positivo (ver interpretación resultados).

Control negativo *Salmonella*: Repetir el procedimiento con el hisopo de Control Negativo utilizando Reactivo Control (-) en vez de Reactivo Control (+).

Resultado: *Salmonella* negativo (ver interpretación resultados).



LIMITACIONES

1. *Salmonella* MonlabTest® indicará únicamente la presencia de antígenos de *Salmonella* en la muestra de heces (detección cualitativa) y solamente debería usarse para este fin. No puede detectar ni la cantidad ni el aumento de concentración de antígenos en heces.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas marrones). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
3. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.
4. No se recomienda realizar ciclos de congelación y descongelación de la muestra.
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. Este test proporciona un diagnóstico presuntivo de infección por *Salmonella* (salmonelosis). Todos los resultados obtenidos deben ser interpretados conjuntamente con la información clínica y los hallazgos de laboratorio disponibles por un especialista.
7. Muestras de heces mucosas y/o sanguinolentas podrían causar reacciones inespecíficas en el test. Muestras de heces mucosas y/o sanguinolentas cuyo resultado sea positivo debería confirmarse con otras técnicas.

VALORES ESPERADOS

La fiebre tifoidea y la salmonelosis son problemas de salud pública en los países en desarrollo, donde la incidencia de casos por año es de 200-500/100.000. La transmisión se produce por la contaminación del agua o los alimentos con bacterias. Los animales y los humanos son los principales reservorios.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Límite de detección

El rango del límite de detección del test para las diferentes especies es: $5 \cdot 10^7$ - $3.12 \cdot 10^6$ UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella enteritidis*, $10 \cdot 10^6$ - $6.25 \cdot 10^5$ UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella typhimurium*, $10 \cdot 10^7$ - $6.25 \cdot 10^6$ UFC/mL de cultivo inactivado de células de antígeno de *Salmonella typhi*.

Sensibilidad y Especificidad

Se realizó una evaluación utilizando *Salmonella* MonlabTest® comparación con un kit comercial de qPCR (*Salmonella*, *Campylobacter* & *Y. enterocolitica* Real Time PCR Detection Kit).

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

	<i>Salmonella</i> MonlabTest® <i>Campylobacter</i> & <i>Y. enterocolitica</i> Real Time PCR Detection Kit	vs <i>Salmonella</i> , Real Time PCR Detection Kit
		95% CI (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%

Reacciones cruzadas e interferencias

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

<i>Adenovirus</i>	<i>Hemoglobina humana/bovina/cerdo</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Lactoferrin</i>
<i>Calprotectina</i>	<i>Legionella</i>
<i>Campylobacter coli/jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Norovirus GI/Norovirus GII</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Rotavirus</i>
<i>Cryptosporidium</i>	<i>Shigella boydii/dysenteriae/flexneri/sonnei</i>
<i>Entamoeba dispar/Entamoeba histolytica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> O:111; O:026; O157:H7	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Giardia</i>	<i>Transferrina</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3/O:9

BIBLIOGRAFÍA

- GORDON, M, et al, "Invasive salmonellosis in Malawi". J Infect Developing Countries 2008; 2(6):438-442.
- SANCHEZ-JIMENEZ, M. et al. "Validation of a PCR for diagnosis of typhoid fever and salmonellosis by amplification of the hilA gene in clinical samples from Colombian patients", Journal of Medical Microbiology (2004), 53, 875-878.

SIMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad