

1. Uso previsto

El test NADAL® Typhoid IgG/IgM es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección y la diferenciación de IgG e IgM anti-*Salmonella typhi* (*S. typhi*) y *Salmonella paratyphi* (*S. paratyphi*) en suero, plasma o sangre completa. El test está diseñado para servir como prueba de detección y como ayuda en el diagnóstico de una infección por *S. typhi* y *S. paratyphi*. Sólo es apto para el uso profesional. Cualquier muestra que resulte reactiva con el test NADAL® Typhoid IgG/IgM se debe confirmar con un método alternativo de test.

2. Introducción y significado clínico

La fiebre tifoidea y la paratifoidea son infecciones bacterianas causadas por la *S. typhi* y *S. paratyphi* tipo A, B y C, que se transmiten a través de la ingestión de agua y alimentos contaminados. Se estima que, anualmente, se producen 17 millones de casos y 600.000 muertes asociadas a nivel mundial.¹ Los pacientes infectados por VIH aumentan significativamente el riesgo de infección clínica con *S. typhi* y *S. paratyphi*. Entre el 1-5% de pacientes se convierten en portadores crónicos, acogiendo a la *S. typhi* en la vesícula biliar. El diagnóstico clínico de la infección depende del aislamiento de la *S. typhi* y la *S. paratyphi* de la sangre, médula ósea o una lesión anatómica específica. En instalaciones que no se pueden permitir el funcionamiento de este largo y complicado procedimiento, se usa el test de Felix Widal para facilitar el diagnóstico. Sin embargo, existen muchas limitaciones que producen dificultades en el test Widal.^{3,4}

En contraste, el test NADAL® Typhoid IgG/IgM es un test simple y rápido. Permite la detección simultánea y la diferenciación de IgG e IgM anti-*S. typhi* y anti-*S. paratyphi* en muestras de suero, plasma o sangre completa, ayudando a la determinación de una exposición pasada o actual a la *S. typhi* y *S. paratyphi*.

3. Principio del test

El test NADAL® Typhoid IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El casete del test está compuesto por: 1) una almohadilla con conjugado de color burdeos, conteniendo antígenos recombinantes H y O conjugados con oro coloidal (conjugado HO) y conjugados de oro con IgG de conejo, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de test (G y M) y una línea de control (C). La línea de test "M" está recubierta con IgM monoclonales anti-humanos para la detección de IgM anti-*S. typhi* y anti-*S. paratyphi*. La línea de test "G" está recubierta con reactivos para la detección de IgG anti-*S. typhi* y anti-*S. paratyphi*. La línea de control (C) está recubierta con IgG de cabra anti-conejo.

Cuando se dispensa un volumen suficiente de muestra en el pocillo correspondiente (S) del casete de test, ésta migrará a lo largo de la membrana por acción capilar. Si el IgM está presente en la muestra, se unirá a los conjugados HO. Los inmunocomplejos quedan capturados en la membrana por la IgM anti-humana formando la línea "M" de color burdeos, indicando un resultado positivo para IgM anti-*S. typhi* o anti-*S. paratyphi*. Si el IgG está presente en la muestra, se unirá a los conjugados HO. Los inmunocomplejos son capturados por los reactivos que recubren la membrana, formando la línea "G" de color burdeos e indicando un resultado positivo para

IgG anti-*S. typhi* o anti-*S. paratyphi*. La ausencia de las líneas de test (M y G) sugiere un resultado negativo. El casete de test contiene un control interno (C) que debe mostrar una línea de color burdeos por los inmunocomplejos de los conjugados de oro con IgG de cabra anti-conejo e IgG de conejo, independientemente de la aparición de color en las líneas de test. De otra forma, el resultado del test no se considera válido y se deben volver a analizar las muestras con un nuevo casete de test.

4. Reactivos y materiales provistos

- 30 casetes de test (incluye pipetas de plástico desechables y desecantes)
- 1 búfer ("Diluent", 5 ml)
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Cronómetro
- Dispositivo de punción (para el test de sangre completa)
- Recipiente para las muestras

6. Almacenamiento y conservación

Todos los componentes del kit están listos para su uso. Almacene los kits de test a 2-30°C. Si los almacenan a 2-8°C, asegúrese de llevarlos a temperatura ambiente antes de abrirlos. Los casetes de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No congele los dispositivos ni los exponga a temperaturas por encima de los 30°C.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra en el área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test.
- No coma, beba o fume en el área de manipulación de las muestras y realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y

seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).

- No utilice sangre hemolizada para la prueba.
- Lea los resultados del test a los 15 minutos de añadir la muestra y el búfer ("Diluent") al pocillo correspondiente (S) del casete. La lectura de los resultados después de más de 15 minutos puede producir resultados imprecisos.
- No realice la prueba en una habitación con fuertes corrientes de aire, como ventiladores eléctricos o aire acondicionado.

8. Recolección de muestras y preparación

Considere los materiales de origen humano como infecciosos y trátelos siguiendo los procedimientos estándar de bioseguridad.

Plasma

1. Recolecte una muestra de sangre por punción venosa en un tubo recolector (con EDTA, citrato o heparina).
2. Separe el plasma por centrifugación.
3. Retire con cuidado el plasma en un tubo nuevo previamente etiquetado.

Suero

1. Recolecte la muestra de sangre por punción venosa en un tubo de recolección (sin anticoagulantes).
2. Deje que la sangre se coagule.
3. Separe el suero por centrifugación.
4. Retire el suero con cuidado en un nuevo tubo etiquetado.

Tras su recolección, analice las muestras lo más pronto posible. Si no va a realizar la prueba inmediatamente, puede almacenar las muestras a 2-8°C hasta 5 días. Para almacenamientos prolongados, congele las muestras a -20°C. Evite congelar y descongelar las repetidamente. Antes de realizar la prueba, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente y mézclelas bien. Las muestras que presenten partículas visibles se deben clarificar por centrifugación antes de analizarlas. Para evitar interferencias en la interpretación de los resultados, no utilice muestras que presenten gran lipemia, hemólisis o turbidez.

Sangre

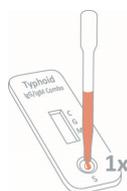
Las gotas de sangre completa se pueden obtener por punción digital o venosa. No utilice sangre hemolizada para la prueba.

Si no va a realizar la prueba inmediatamente, refrigere las muestras de sangre completa (2-8°C). Se deben analizar dentro de las 24 horas posteriores a su recolección.

9. Procedimiento del test

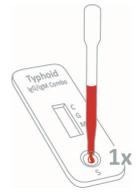
Antes de la prueba, lleve las muestras y los componentes a temperatura ambiente (15-30°C) si han estado refrigeradas o congeladas. Mezcle las muestras descongeladas antes de comenzar.

1. Cuando esté todo listo para la prueba, abra la bolsa sellada, extraiga el casete de test y colóquelo sobre una superficie limpia y plana. Asegúrese de etiquetar el casete con el número de identificación de la muestra.
2. a) Llene un gotero de plástico con la muestra. Sostenga el gotero verticalmente, deposite 1 gota (aprox. 30-45 µL) de suero/plasma en el pocillo para la muestra del casete de test, asegurando que no se produzcan burbujas de aire.



O bien

b) Llene un gotero de plástico con la muestra. Sostenga el gotero verticalmente y dispense 1 gota (aprox. 40-50 µL) de sangre completa en el pocillo para la muestra (S) del casete de test, asegurando que no se produzcan burbujas de aire.



O bien

c) Deje caer una gota de sangre de la punta del dedo sobre el centro del pocillo para la muestra (S) del casete de test.



3. Añada inmediatamente 1 gota (aprox. 35-50 µl) del búfer ("Diluent") de la muestra en el pocillo (S), sosteniendo el tubo en posición vertical. Active el cronómetro.



4. Lea los resultados del test a los 15 minutos. No los interprete después de más de 15 minutos. Los resultados positivos ya se pueden leer en 1 minuto.



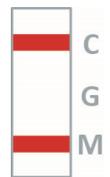
15 min

Para evitar la confusión, elimine el casete de test una vez interpretado el resultado.

10. Interpretación del resultado

Positivo para IgM

Aparecen dos líneas coloreadas: una en el área de control (C) y la otra en el área de test "M". El resultado del test indica la presencia de IgM anti-*S. typhi* y/o anti-*S. paratyphi*. El resultado es reactivo.



Positivo para IgG

Aparecen dos líneas coloreadas: una en el área de control (C) y la otra en el área de test "G". El resultado del test indica la presencia de IgG anti-*S. typhi* y/o anti-*S. paratyphi*. El resultado es reactivo.



Positivo para IgM e IgG

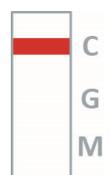
Aparecen tres líneas coloreadas: una línea coloreada en el área de control (C) y una en cada región de las líneas "M" y "G". El resultado indica la presencia de IgM e IgG anti-*S. typhi* y/o anti-*S. paratyphi*. El resultado es reactivo.



Nota: las muestras con resultados reactivos se deben confirmar con métodos de test alternativos y considerando todos los hallazgos clínicos, antes de que se determine como positivo.

Negativo

Sólo aparece una línea coloreada en la región de control (C). La ausencia de una línea coloreada en cada región de test "M" y "G" indica que no se han detectado IgM e IgG anti-*S. typhi* y anti-*S. paratyphi*. El resultado es no reactivo.



No válido

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) actúa como control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de la muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

12. Limitaciones

- Siga las instrucciones de los apartados "Procedimiento del test" e "Interpretación del resultado" para detectar la presencia de anticuerpos contra *S. typhi* o *S. paratyphi* en muestras de suero, plasma o sangre completa de pacientes. En caso contrario, se pueden producir resultados incorrectos.
- El test NADAL® Typhoid IgG/IgM está limitado a la detección cualitativa de anticuerpos contra *S. typhi* o *S. paratyphi* en muestras de suero, plasma o sangre completa humanas. El color de la intensidad de las líneas de test no tiene correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado no reactivo indica la ausencia de anticuerpos anti-*S. typhi* o *S. paratyphi*. Sin embargo, no excluye la posibilidad de exposición a *S. typhi* o *S. paratyphi*.
- Se pueden producir resultados no reactivos cuando la cantidad de anticuerpos anti-*S. typhi* o *S. paratyphi* presentes en la muestra está por debajo del límite de detección del test, o cuando los anticuerpos buscados no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recolecta la muestra.
- Las muestras con cantidades inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide, pueden afectar a los resultados esperados.
- Si el test muestra un resultado no reactivo pero los síntomas persisten, se recomienda volver a realizar la prueba con un nuevo casete unos días después o utilizar un método alternativo de test (ej. ELISA).
- Los resultados obtenidos con este test se deben interpretar junto con otras técnicas de diagnóstico y otros hallazgos clínicos.

13. Características del rendimiento**Rendimiento clínico del test NADAL® Typhoid IgG/IgM (IgM)**

Se analizaron un total de 234 muestras de pacientes susceptibles con el test NADAL® Typhoid IgG/IgM y un EIA *S. typhi* IgM disponible en el mercado.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

EIA IgM	Test NADAL® Typhoid IgG/IgM (IgM)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	31	3	34
Negativo	2	198	200
Total	33	201	234

Sensibilidad relativa: 91,2%

Especificidad relativa: 99,0%

Concordancia general: 97,9%

Rendimiento clínico del test NADAL® Typhoid IgG/IgM (IgG)

Se analizaron un total de 214 muestras de pacientes susceptibles utilizando el test NADAL® Typhoid IgG/IgM y un EIA IgG *S. typhi* disponible en el mercado.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

IgG EIA	Test NADAL® Typhoid IgG/IgM (IgG)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	13	1	14
Negativo	2	198	200
Total	15	199	214

Sensibilidad relativa: 92,9%

Especificidad relativa: 99,0%

Concordancia general: 98,5%

14. Referencias

1. Ivanoff BN, Levine MM, Lambert PH. Vaccination against typhoid fever: present status. Bulletin of the World Health Organization 1994; 72: 957-71.
2. Gotuzzo E, Frisancho O, Sanchez J, Liendo G, Carillo C, Black RE, Morris JG. Association between the acquired immunodeficiency syndrome and infection with Salmonella typhi or Salmonella paratyphi in an endemic typhoid area. Archives of Internal Medicine 1991; 151: 381-2.
3. Clegg A, Passey M, Omena MK, et al. Re-evaluation of the Widal agglutination test in response to the changing pattern of typhoid fever in the highlands of Papua New Guinea. Acta Tropica 1994;57:255-63
4. Pang T. False positive Widal test in nontyphoid Salmonella infection. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 1989; 20: 163-4.
5. Ismail A, Hai OK, Kader ZA. Demonstration of an antigenic protein specific for Salmonella typhi. Biochem Biophys Res Commun. 1991;181(1):301-5.

Rev. 0, 2015-11-09 MP