

# AmniSure® ROM (Rupture Of [fetal] Membranes) Test

INSTRUCTIONS FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE



## INTENDED USE

The AmniSure ROM (Rupture Of [fetal] Membranes) Test is a rapid, non-instrumented, qualitative immunochromatographic test for the *in vitro* detection of amniotic fluid in vaginal discharge of pregnant women. The AmniSure ROM Test detects PAMG-1 protein marker of the amniotic fluid in vaginal discharge. The test is for use by health care professionals (\*Rx ONLY) to aid in the detection of ROM in pregnant women reporting signs, symptoms, or complaints suggestive of ROM.

## SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The timely and accurate diagnosis of rupture of [fetal] membranes (ROM) is crucial because ROM may be associated with serious neonatal and maternal consequences. Failure to identify patients with ROM can result in the failure to intervene appropriately.

Conversely, the false diagnosis of ROM can lead to inappropriate interventions (e.g., hospitalization or induction of labor). Therefore the correct and timely diagnosis of ROM is of crucial importance for the clinician.<sup>1</sup> Accurate diagnosis of [fetal] membranes rupture, however, remains a frequent clinical problem in obstetrics.<sup>1,3</sup>

Currently available tests have limitations and in some degree are invasive.<sup>1</sup> The AmniSure ROM Test is a rapid non-invasive strip test that can aid in the detection of ROM, providing rapid, easy-to-interpret and timely diagnosis. Consequently, measures can be taken in a timely manner to prevent complications. In clinical trials, one AmniSure ROM Test correlated with clinical diagnosis obtained through combined usage of three routinely used tests (Nitrazine, Ferning, and Pooling).

The AmniSure ROM Test kit is a self-contained test system providing qualitative results that are both accurate and do not require collection methods such as speculum examination.

The test should be used to evaluate patients with clinical signs/symptoms suggestive of [fetal] membranes rupture.

## PRINCIPLE OF THE TEST

The Test does not require speculum examination that is used routinely today for ROM diagnosis. A sample of amniotic fluid (taken by vaginal swab) is placed into a vial with a solvent. The solvent extracts the sample from the swab for one minute, after which the swab is disposed. The AmniSure ROM Test strip, a lateral flow device, is then dipped into the vial. The sample substance flows from the Pad Region of the strip to the Test Region. The test result is indicated visually by the presence of one or two lines. One line indicates no membranes ruptured; two lines indicate there is a rupture.

The AmniSure ROM Test uses the principles of immunochromatography to detect human PAMG-1 (placental alpha microglobulin-1) protein present in amniotic fluid of pregnant women. Placental Microglobulin was selected as a marker of [fetal] membranes rupture due to its unique characteristics, i.e. its high level in amniotic fluid, low level in blood and extremely low background level (50-220 picogram/ml) in cervico-vaginal discharge when the [fetal] membranes are intact.

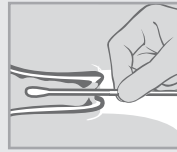
The Test employs highly sensitive monoclonal antibodies that detect even a minimum amount of the protein, which is present in cervico-vaginal discharge after the rupture of the [fetal] membranes. To minimize the frequency of false results, two monoclonal antibodies have been selected to set the sensitivity threshold of the AmniSure ROM Test at the optimal low level. This level allows the detection of extremely small quantities of amniotic fluid in vaginal discharge. Background concentration of PAMG-1 that uses this combination of monoclonal antibodies is around 50-220 picogram (i.e. 0.05-0.22 ng) per 1 ml of vaginal discharge. The sensitivity cut-off of the AmniSure ROM Test is 5 ng/ml, i.e. at least 20 times higher than the background concentration. This gap allowed increasing the accuracy of the AmniSure ROM Test.

During the test procedure, placental microglobulin from the sample sequentially binds to the monoclonal antibody conjugated with the label particles, and then to another monoclonal antibody, immobilized on an insoluble carrier. When conjugated antibodies come in contact with PAMG-1 on the Pad Region, they "catch" PAMG-1 and transport it to the Test Region. The Test Region of the test strip has antibodies immobilized on it. These antibodies "meet" PAMG-1 bound to conjugated antibodies flowing up from the Pad Region. This "meeting" immobilizes the system of PAMG-1/conjugated antibodies, resulting in a red/pink test line that becomes visible in the Test Region. This line is produced by gold dye attached to conjugated antibodies and indicates a Rupture Of [fetal]

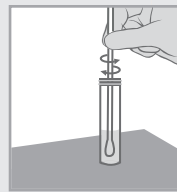
## TEST PROCEDURE

NOTE: You must follow all directions carefully to get an accurate reading of the results.

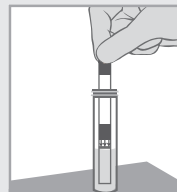
The Test should not be used earlier than 6 hours after the removal of any disinfectant solutions or medicines from the vagina. Placenta previa and performing digital exams prior to sample collection can lead to inaccurate test results.



1. Take the solvent vial by its cap and shake well to make sure all liquid in the vial has dropped on the bottom. Open the solvent vial and put it in a vertical position.



2. To collect a sample from the surface of the vagina use the sterile polyester swab provided. Remove the sterile swab from its package following instructions on the package. The polyester tip should not touch anything prior to insertion into vagina. Hold the swab in the middle of the stick and, while a patient is lying flat on her back, carefully insert the polyester tip of the swab into the vagina until the fingers contact the skin no more than 2-3 inches (5-7 cm) deep. Withdraw the swab from the vagina **after 1 minute**.



3. Place the polyester tip into the vial and rinse the swab in the solvent by rotating for one minute.

4. Remove and dispose of the swab.

5. Test the patient sample within 30 minutes after collection. If the patient sample is not tested within 30 minutes and sample storage is necessary, tightly close the sample vial and place in a refrigerator for no more than 6 hours before testing.

6. Tear open the foil pouch at the tear notches and remove the AmniSure ROM Test strip.

7. Dip the white end of the test strip (marked with arrows) into the vial with solvent. Strong leakage of amniotic fluid may make the results visible early (within minutes), while a very small leak will take the full 5 minutes.

8. Remove the test strip if two stripes are clearly visible in the vial or after 5 minutes sharp. Read the results by placing the test on a clean, dry, flat surface. Do not read or interpret the results after 10 minutes have passed since dipping the test strip into the vial.



• The darkness of the stripes may vary. The Test is valid even if the stripes are faint or uneven. Do not try to interpret the test result based on the darkness of the stripes. • If only a control line is visible, the test result is negative. If both control and test lines are visible, the test result is positive. If no lines are visible, the test result is invalid.

## LIMITATIONS OF THE TEST

- Each test is a single use disposable unit and cannot be reused
- The AmniSure ROM Test results are qualitative. No quantitative interpretation should be made based on the test results.
- When there is a significant presence of blood on the swab, the test can malfunction and is not recommended. In cases of only trace amounts of blood on the swab, the test still functions properly.
- In very rare cases when a sample is taken 12 hours or later after a rupture, a false negative result may occur due to obstruction of the rupture by fetus or resealing of the amniotic sac
- Test performance in patients without signs or symptoms of ROM is unknown
- Results should be used in conjunction with other clinical information
- Failure to detect membrane rupture does not assure the absence of membrane rupture
- Women may labor spontaneously despite a negative test result
- The performance of the AmniSure ROM Test has not been established in the presence of the following contaminants: anti-fungal creams or suppositories, K-Y® Jelly, Monistat® Yeast Infection Treatment, Baby Powder (Starch and Talc), Replens® Feminine Moisturizer, or Baby Oil
- The performance of the AmniSure ROM Test has not been established in the presence of meconium in the amniotic fluid

Membranes. The second control line is designed to indicate that the test is functioning well. This line appears when anti-mouse IgG antibody "catches" the mouse antibody with gold dye. Gold dye gives the resulting line its color.

## REAGENTS AND COMPONENTS

The AmniSure ROM Test kit includes the following components: 1) Instructions for use 2) AmniSure ROM Test strip in foil pouch with desiccant 3) Sterile polyester vaginal swabs 4) Plastic vial with solvent solution containing: 0.9% NaCl, 0.01% Triton X-100, 0.05% NaN<sub>3</sub>.

## STORAGE AND STABILITY

- Store the kit in a dry place at 4 to 25°C (40 to 77°F). DO NOT FREEZE.
- When stored in the foil pouch at the recommended temperature, the test is stable until the "Use By" date on the foil pouch
- The AmniSure ROM Test should be used within six (6) hours after removing from foil pouch

## QUALITY CONTROL

Each AmniSure ROM Test has built-in reagent and procedural controls to make sure it is working properly. The appearance of one or two lines in the test results area verifies the integrity of the test procedure. If only a Control Line is visible the test result is negative. If both Control and Test Line are visible, the test result is positive. If no lines are visible, the test result is invalid.

**Note:** If separating the kit components prior to use, please record the AmniSure ROM Test kit lot numbers and/or specific strip, swab, and solvent lot numbers used for each test.

## PRECAUTIONS AND WARNINGS

- A false-negative test may result in an inadequate level of care for newborns less than 37 weeks gestation if device is used in institutions other than those equipped to care for preterm infants (e.g. Level II-III nurseries)
- False negative results can delay the diagnosis of rupture of membranes and can increase the risk of chorioamnionitis, oligohydramnios and fetal umbilical cord accident. Negative results alone may not rule-out membrane rupture.

- Safety precautions should be observed when collecting, handling, and disposing of test samples
- Do not use damaged components of the test
- Used test kits are biohazardous. Take proper precautions when handling/discarding used test kits.
- Do not use after the "Use By" date, which is printed on the foil pouch and on the box labeling
- Do not reuse the test kit components
- Do not bend or fold the test strip or the aluminum foil pouch with the test strip in it
- Interrupted leakage with minimal residual fluid can lead to false-negative result
- Until the diagnosis of membrane rupture is excluded, avoid digital cervical examination to prevent infection and shorten the latency period

#### EXPECTED VALUES

Leakage of amniotic fluid is indicative of the [fetal] membranes rupture in all women. Studies of placental alpha microglobulin-1 protein (PAMG-1) have established it as a marker of amniotic fluid.<sup>4,5</sup> Concentration of PAMG-1 in cervical and vaginal discharge of pregnant women without complications in pregnancy was measured and is ranged from 0.05 to 0.22 ng/ml. When vaginitis or non-significant admixture of blood serum is present, the background level of PAMG-1 can reach the maximum of 3 ng/ml. PAMG-1 concentrations in the amniotic fluid fall into 2,000-25,000 ng/ml range. Clinically significant leakage of amniotic fluid increases PAMG-1 concentration in cervico-vaginal discharge by a factor of thousands. The sensitivity threshold of the AmniSure ROM Test is set by a factor of 20 above the background level of PAMG-1 (The AmniSure ROM Test detects 5-7 ng/ml of PAMG-1).

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The clinical performance of the AmniSure ROM Test was determined by three studies where it was compared to clinical diagnosis provided by a combination of routinely used Nitrazine, Ferning and Pooling tests.<sup>1,7</sup> The diagnosis was set when two out of three control tests gave identical results (2-out-of-3 method). A total of 432 patients were evaluated at different sites. Of these patients, 108 were from women below 34 weeks gestation; the majority of those 108 (70%) were above 24 weeks. Patient gestational age ranged from 11-41 weeks. Exclusion criteria included active vaginal bleeding from any source and placenta previa. Statistical analysis is available for these 432 cases. Relative to clinical diagnoses determined by routine clinical tests, the AmniSure ROM Test's sensitivity, specificity, and 95% Confidence Intervals (CI) were estimated as follows:

Site	# of Patients	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Sharp <sup>1</sup>	203	98.9% (93.2-99.9%)	100.0% (95.9-100%)
Yale/Seoul <sup>7</sup>	183	98.7% (95.1-99.8%)	87.5% (66.5-96.7%)
Wesley	46	100.00% (83.4-100%)	100.00% (80.8-100%)
<b>Total</b> (gestational age 11-41 weeks)	432	<b>98.9%</b> <b>(96.6-99.7%)</b>	<b>98.9%</b> <b>(96.6-99.7%)</b>

Pooled Data:		
	<34 weeks <sup>1,7</sup> (95% CI)	≥34 weeks (95% CI)
Sensitivity	98.3% (90.9-99.9%)	99.07% (96.8-99.8%)
Specificity	95.9% (86.0-99.5%)	99.07% (95.4-99.9%)

Parallel to Nitrazine, Ferning, and Pooling tests, admitted women were tested with the AmniSure ROM Test.

#### INTERFERENCE STUDIES

Vaginal infections or urine do not interfere with the results of the AmniSure ROM Test. Detailed research and analysis showed that PAMG-1 concentration in vaginal exudates during infections never exceeds the level of 3 ng/ml. The AmniSure ROM Test's sensitivity level is 5 ng/ml, excluding any interferences resulting from infections. Concentration of PAMG-1 in sperm was found not to exceed 4 ng/ml. Concentration of sperm PAMG-1 in vaginal discharge is even lower due to four-time dilution effect during testing. Therefore, during the development of the AmniSure ROM Test and during clinical trials, there was no interference of sperm factor in the results.

The same is true for urine. Fifteen samples of urine were studied for PAMG-1 concentration in it, using ELISA. Sensitivity of ELISA was 0.5 ng of PAMG-1 per 1 ml of solution. Parallel to that, the AmniSure ROM Test was also used to detect PAMG-1 in

urine. Samples have been obtained from pregnant women at 25-40 weeks of pregnancy. Both methods gave negative results: PAMG-1 has not been found.

#### CROSS REACTIVITY

The specificity of monoclonal antibodies used in the AmniSure ROM Test was tested by studying their cross-reactive binding to proteins: alpha-2-microglobulin of fertility, human chorionic gonadotropin, trophoblastic beta-1-glycoprotein, human placental lactogen, alpha-fetoprotein, human serum albumen, and some IGFBP proteins. Monoclonal antibodies used in the AmniSure ROM Test were not cross-reactive to other proteins, except that antibody used in the Test line was found cross-reactive to IGFBP-3 protein in ELISA. It was shown that concentration of IGFBP-3 in vaginal discharge of pregnant women reaches 680 ng/ml, but this concentration does not impact the sensitivity of the AmniSure ROM Test to PAMG-1.

#### STABILITY OF RESULTS

AmniSure ROM Test's results can be read if two lines are clearly visible in the vial or 5 minutes sharp after the Test strip is dipped into the vial. The timing is based off of a clinical study involving seven hospitals and 339 patients, which showed a 99.4% overall percent agreement with the previous reading time."

Stability tests were conducted where a lot containing one thousand AmniSure ROM Test kits has been studied. Purified PAMG-1 has been used in concentrations of 10 ng and 5 ng of PAMG-1 per 1 ml of physiologic saline solution.

The duration/stability of results was also measured. After the result became visible (lines appeared in the test region), it remained stable for at least 5 min. This kind of stability is observed when PAMG-1 concentration is very small (5-10 ng/ml). When the concentration is higher the lines remain stable for hours. In using the AmniSure ROM Test, it is recommended that the results not be read or interpreted after 10 minutes are passed after the Test strip is dipped into the vial.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Cousins LM et al. AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. *Am J Perinatol.* 2005 Aug; 22(6):317-20.
2. Lockwood CJ et al. Fetal membrane rupture is associated with the presence of insulin-like growth factor-binding protein-1 in vaginal secretions. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994 Jul; 171(1):146-50.
3. Caughey AB et al. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008 Winter; 1(1):11-22.
4. Petrunin DD et al. Immunochemical identification of organ specific human placental alpha 1-globulin and its concentration in amniotic fluid. *Akush Ginekol (Mosk).* 1977 Jan; (1):62-4.
5. Tatarinov YS et al. 1980. Two New Human Placenta-Specific  $\alpha$ -Globulines: Identification, Purification, Characteristics, Cellular Localization and Clinical Investigation. *Scrano Symposium No. 35:35-46.* London and New York: Academic Press.
6. Chen FC, Dudenhausen JW. Comparison of two rapid strip tests based on IGFBP-1 and PAMG-1 for the detection of amniotic fluid. *Am J Perinatol.* 2008 Apr; 25(4):243-6.
7. Lee SE et al. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes *Obstet Gynecol.* 2007 Mar; 109(3):634-40.

#### TRADEMARKS

K-Y® Jelly (Owned by Reckitt Benckiser, Slough, England)

Monistat® Yeast Infection Treatment (Owned by Insight Pharmaceuticals, White Plains, New York)

Replens® Feminine Moisturizer (Owned by Church and Dwight Co., Inc., Ewing, New Jersey)

#### IVD

 QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874 USA

 FMRT-1-10-CA  
FMRT-1-25-CA

U.S. Patent 7,709,272. Issued and pending patents in other countries.  
© 2015-2016 QIAGEN

2016/09/20  
1090608 Rev. 03

# Test AmniSure® ROM (rupture des membranes fœtales)

MODE D'EMPLOI POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO



## UTILISATION PRÉVUE

Le test AmniSure ROM (rupture des membranes fœtales) est un test immunochromatographique qualitatif rapide, ne nécessitant pas d'instruments, destiné à la détection *in vitro* du liquide amniotique dans les sécrétions vaginales des femmes enceintes. Le test AmniSure ROM détecte le marqueur protéique PAMG-1 dans le liquide amniotique des sécrétions vaginales. Ce test est conçu pour être utilisé par les professionnels de la santé (\*sur prescription seulement) pour aider à détecter la rupture des membranes chez les femmes enceintes faisant état ou se plaignant de signes ou de symptômes indiquant une rupture des membranes.

## RÉSUMÉ ET DESCRIPTION DU TEST

Un diagnostic rapide, en temps opportun, de la rupture des membranes fœtales est essentiel puisque la rupture peut être associée à des conséquences graves pour la mère et le nouveau-né. Si la rupture des membranes n'est pas détectée chez une patiente, il est possible que celle-ci ne reçoive pas une intervention appropriée.

À l'inverse, un diagnostic erroné de rupture des membranes peut entraîner des interventions inappropriées (p. ex., hospitalisation ou déclenchement artificiel du travail). Par conséquent, le diagnostic précis en temps opportun de la rupture des membranes est d'une importance capitale pour les cliniciens<sup>1</sup>. Le diagnostic précis de la rupture des membranes fœtales demeure cependant un problème clinique fréquent en obstétrique<sup>1,3</sup>.

Les tests actuellement disponibles sur le marché présentent des limites et sont jusqu'à un certain point inefficaces<sup>1</sup>. Le test AmniSure ROM est un test rapide et non effractif par bandelette qui peut aider à détecter la rupture des membranes et fournir un diagnostic rapide et facile à interpréter en temps opportun. Des mesures peuvent ensuite être rapidement prises pour éviter les complications. Dans le cadre d'essais cliniques, le résultat d'un test AmniSure ROM était corrélé au diagnostic clinique obtenu par l'utilisation combinée de trois tests habituellement utilisés (nitrazine, cristallisation en feuille de fougère et accumulation vaginale).

La trousse de test AmniSure ROM est un système de test autonome qui fournit des résultats qualitatifs précis et qui ne nécessite pas de méthodes de prélèvement telles que l'examen au spéculum.

Ce test devrait être utilisé pour évaluer les patientes présentant des signes ou des symptômes cliniques indiquant une rupture des membranes fœtales.

## PRINCIPE DU TEST

Ce test ne nécessite pas la réalisation de l'examen au spéculum qui est habituellement utilisé à l'heure actuelle pour diagnostiquer une rupture des membranes. Un échantillon de liquide amniotique (prélevé par écouvillonnage vaginal) est placé dans un flacon contenant du solvant. L'échantillon est extrait de l'écouvillon pendant une minute dans le solvant, avant que l'écouvillon soit jeté. La bandelette d'analyse AmniSure ROM, un dispositif à débit latéral, est ensuite trempée dans le flacon. La substance de l'échantillon s'écoule de la zone tampon de la bandelette vers la zone d'analyse. Le résultat du test est indiqué visuellement par la présence d'une ou de deux lignes. La présence d'une ligne indique qu'il n'y a pas eu de rupture des membranes, alors que la présence de deux lignes indique qu'il y a eu rupture.

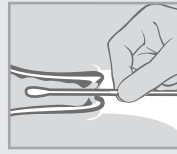
Le test AmniSure ROM est basé sur le principe de l'immunochromatographie pour détecter la protéine humaine PAMG-1 (alpha-1 microglobuline placentaire) présente dans le liquide amniotique des femmes enceintes. La microglobuline placentaire a été choisie comme marqueur de la rupture des membranes fœtales en raison de ses caractéristiques uniques : concentration élevée dans le liquide amniotique, concentration faible dans le sang et concentration de fond extrêmement faible (50-220 pg/ml) dans les sécrétions cervico-vaginales lorsque les membranes fœtales sont intactes.

Le test AmniSure ROM utilise des anticorps monoclonaux sensibles qui peuvent détecter une quantité minime de protéine, qui est présente dans les sécrétions cervico-vaginales à la suite de la rupture des membranes fœtales. Pour réduire la fréquence de faux résultats, deux anticorps monoclonaux ont été sélectionnés pour établir le seuil de sensibilité du test AmniSure ROM à un niveau faible optimal. Ce niveau de sensibilité permet de détecter la présence de quantités extrêmement faibles de liquide amniotique dans les sécrétions vaginales. La concentration de fond de PAMG-1 liée par cette association d'anticorps monoclonaux est d'environ 50-220 picogrammes (soit 0,05-0,22 ng)

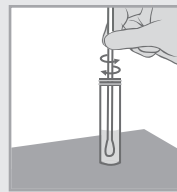
## PROCÉDURE DE TEST

REMARQUE : Toutes les instructions doivent être rigoureusement suivies pour effectuer une lecture exacte des résultats.

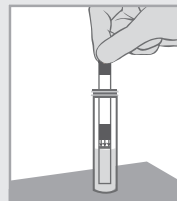
Le test ne doit pas être utilisé moins de 6 heures après le retrait d'une solution désinfectante ou d'un médicament du vagin. La présence d'un placenta prævia et la réalisation d'un examen digital avant le prélèvement de l'échantillon peuvent entraîner des résultats de test inexacts.



1. Prendre le flacon de solvant par le bouchon et bien l'agiter pour s'assurer que tout le liquide du flacon se dépose dans le fond. Ouvrir le flacon de solvant et le placer en position verticale.



2. Utiliser l'écouvillon en polyester stérile fourni pour prélever un échantillon de la surface du vagin. Retirer l'écouvillon stérile de son emballage en suivant les instructions se trouvant sur l'emballage. L'extrémité en polyester ne doit toucher à rien avant d'être insérée dans le vagin. Tenir l'écouvillon au milieu de la tige; pendant que la patiente est couchée sur le dos, insérer délicatement l'extrémité en polyester de l'écouvillon dans le vagin jusqu'à ce que les doigts touchent à la peau à une profondeur maximale de 5-7 cm (2-3 pouces). Retirer l'écouvillon du vagin **après 1 minute**.



3. Placer l'extrémité en polyester dans le flacon et rincer l'écouvillon dans le solvant en le faisant tourner pendant 1 minute.

4. Retirer et jeter l'écouvillon.

5. Analyser l'échantillon de la patiente dans les 30 minutes suivant le prélèvement. Si l'échantillon de la patiente n'est pas analysé dans un délai de 30 minutes et que la conservation de l'échantillon est requise, bien fermer le flacon d'échantillon et le mettre au réfrigérateur pendant une période maximale de 6 heures avant l'analyse.

6. Ouvrir le sachet en aluminium en utilisant les encoches d'ouverture et retirer la bandelette d'analyse AmniSure ROM.

7. Tremper l'extrémité blanche de la bandelette d'analyse (marquée de flèches) dans le flacon contenant le solvant. Un écoulement important de liquide amniotique pourrait faire en sorte que le résultat apparaisse rapidement (en quelques minutes), alors qu'il faudra la période complète de 5 minutes dans le cas d'un écoulement très faible.

8. **Retirer la bandelette d'analyse si la présence de deux lignes est clairement visible dans le flacon, ou après exactement 5 minutes.** Lire le résultat en plaçant le test sur une surface plane, propre et sèche. Ne pas lire ou interpréter le résultat après qu'un délai de 10 minutes s'est écoulé depuis le trempage de la bandelette d'analyse dans le flacon.

Deux lignes : **Présence de rupture**



Ligne témoin | Ligne de test

Une ligne : **Aucune rupture des membranes**



Ligne témoin

Aucune ligne : **Le test est invalide; effectuer un autre test**



• La couleur des lignes peut varier. Le test est valide même si l'intensité des lignes est faible ou irrégulière. Ne pas tenter d'interpréter le résultat de test en fonction de l'intensité de la couleur des lignes. • Si seule la ligne témoin est visible, le résultat du test est négatif. Si la ligne témoin et la ligne de test sont toutes deux visibles, le résultat du test est positif. Si aucune ligne n'est visible, le résultat du test est invalide.

## LIMITES DU TEST

- Chaque test constitue une unité jetable à usage unique qui ne peut pas être réutilisée.
- Les résultats du test AmniSure ROM sont qualitatifs. Aucune interprétation quantitative ne doit être faite à partir des résultats du test.
- Il n'est pas recommandé de réaliser le test en présence d'une quantité importante de sang sur l'écouvillon, puisque le test pourrait ne pas fonctionner correctement. En revanche, en présence de sang à l'état de traces sur l'écouvillon, le test fonctionnera correctement.
- En de très rares occasions, lorsqu'un échantillon est prélevé 12 heures ou plus après une rupture des membranes, le test peut donner un résultat faussement négatif en raison de l'obstruction de la rupture par le fœtus ou de la refermeture du sac amniotique.

- Le rendement du test chez les patientes ne présentant pas de signes ou de symptômes de rupture n'est pas connu.
- Les résultats du test doivent être utilisés en conjonction avec d'autres renseignements cliniques.
- Le fait de ne pas détecter une rupture des membranes ne garantit pas l'absence de rupture des membranes.
- Le travail peut se déclencher spontanément malgré l'obtention d'un résultat de test négatif.
- Le rendement du test AmniSure ROM Test n'a pas été établi en présence des contaminants suivants : crèmes ou suppositoires antifongiques, gel K-Y®, traitement contre les infections à levure Monistaf®, poudre pour bébé (amidon et talc), hydratant féminin Replens®, huile pour bébé.
- Le rendement du test AmniSure ROM n'a pas été établi en présence de méconium dans le liquide amniotique.

par millilitre de sécrétions vaginales. Le seuil de sensibilité du test AmniSure ROM est de 5 ng/ml, soit au moins 20 fois plus que la concentration de fond. Cette différence a permis d'accroître l'exactitude du test AmniSure ROM.

Pendant la réalisation du test, la microglobuline placentaire de l'échantillon se lie séquentiellement à l'anticorps monoclonal conjugué aux particules de marqueur, puis à un autre anticorps monoclonal immobilisé sur un porteur insoluble. Lorsque les anticorps conjugués se fixent à la protéine PAMG-1 dans la zone tampon, ils « capturent » PAMG-1 et la transportent à la zone d'analyse. La zone d'analyse de la bandelette d'analyse comporte des anticorps qui y sont immobilisés. Ces anticorps « rencontrent » la protéine PAMG-1 liée aux anticorps conjugués qui s'écoulent de la zone tampon. Cette « rencontre » immobilise le système PAMG-1/anticorps conjugués, entraînant l'apparition d'une ligne de test rouge ou rose dans la zone d'analyse. Cette ligne est produite par un marqueur doré fixé aux anticorps conjugués et indique qu'il y a eu rupture des membranes fœtales. La seconde ligne, celle du témoin, sert

à indiquer que le test a bien fonctionné. Cette ligne apparaît lorsque l'anticorps anti-IgG de souris « capture » l'anticorps de souris portant le marqueur doré, conférant à la ligne sa couleur.

## RÉACTIFS ET COMPOSANTS

La trousse de test AmniSure ROM contient les composants suivants : 1) mode d'emploi; 2) bandelette d'analyse AmniSure ROM dans un sachet d'aluminium contenant un dessiccant; 3) écouvillons vaginaux stériles en polyester; 4) flacon de plastique contenant une solution de solvant composée de NaCl à 0,9 %, de Triton X-100 à 0,01 % et de Na<sub>2</sub>S à 0,05 %.

## CONSERVATION ET STABILITÉ

- Conserver la trousse dans un endroit sec à une température de 4 à 25 °C (40 à 77 °F). **NE PAS CONGELER.**
- Lorsqu'il est conservé dans le sachet d'aluminium à la température recommandée, le test est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet d'aluminium.
- Le test AmniSure ROM doit être utilisé dans les six (6) heures suivant l'ouverture du sachet d'aluminium.

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

Chaque test AmniSure ROM contient des témoins intégrés de réactifs et de procédure pour confirmer qu'il fonctionne correctement. L'apparition d'une ou de deux lignes dans la zone de résultat d'analyse permet de valider l'intégrité de la procédure de test. Si seule la ligne témoin est visible, le résultat du test est négatif. Si la ligne témoin et la ligne de test sont toutes deux visibles, le résultat du test est positif. Si aucune ligne n'est visible, le résultat du test est invalide.

**Remarque :** Si les composants de la trousse sont séparés avant l'utilisation, noter le numéro de lot de la trousse de test AmniSure ROM et/ou le numéro de lot spécifique à la bandelette, à l'écouvillon et au solvant utilisés pour chaque test.

## PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- Un résultat faussement négatif peut entraîner un niveau inadéquat de soins prodigués à des nouveau-nés dont l'âge gestationnel est de moins de 37 semaines si le test est utilisé dans des établissements autres que ceux équipés pour prendre soin des bébés prématurés (p. ex., pouponnières de niveau III).
- Un résultat faussement négatif peut retarder le diagnostic d'une rupture des membranes et accroître le risque de chorioamnionite, d'oligohydramnie ou de problème lié au cordon ombilical du fœtus. Un résultat négatif, pris isolément, n'exclut pas nécessairement la possibilité d'une rupture des membranes.
- Des mesures de précaution doivent être prises lors du prélèvement, de la manipulation et de l'élimination des échantillons à tester.
- Ne pas utiliser les composants du test s'ils sont endommagés.
- Les trousse de test usagées présentent un risque biologique. Prendre les mesures de précaution appropriées lors de la manipulation et de l'élimination des trousse de test usagées.
- Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le sachet d'aluminium et sur l'étiquette de la boîte.
- Ne pas réutiliser les composants de la trousse de test.
- Ne pas plier la bandelette d'analyse ni le sachet d'aluminium contenant la bandelette d'analyse.
- L'interruption de l'écoulement, accompagnée d'une quantité minimale de liquide résiduel, peut entraîner un résultat faussement négatif.
- Avant qu'un diagnostic de rupture des membranes soit écarté, éviter de procéder à un examen digital du col afin d'éviter les infections et de réduire la période de latence.

## VALEURS ATTENDUES

L'écoulement de liquide amniotique indique une rupture des membranes fœtales chez toutes les femmes. Des études ont permis d'établir que la protéine alpha-1 microglobuline placentaire (PAMG-1) est un marqueur du liquide amniotique<sup>4, 5</sup>. La concentration de PAMG-1 dans les sécrétions cervicales et vaginales des femmes enceintes dont la grossesse se déroule sans complications a été mesurée et se situe dans une plage de 0,05 à 0,22 ng/ml. S'il y a présence de vaginite ou admixtion d'une quantité négligeable de sérum sanguin, la concentration de fond de PAMG-1 peut atteindre un maximum de 3 ng/ml. La concentration de PAMG-1 dans le liquide amniotique se situe entre 2 000 et 25 000 ng/ml. Un écoulement de liquide amniotique d'importance clinique augmente de plusieurs milliers de fois la concentration de PAMG-1 dans les sécrétions cervico-vaginales. Le seuil de sensibilité du test AmniSure ROM a été établi à un facteur de 20 fois au-dessus de la concentration de fond de PAMG-1. (Le test AmniSure ROM détecte une concentration de 5-7 mg/ml de PAMG-1.)

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Le rendement clinique du test AmniSure ROM a été déterminé dans le cadre de trois études, au cours desquelles ce test a été comparé au diagnostic clinique obtenu à l'aide d'une combinaison des tests habituellement utilisés, soit la nitrazine, la cristallisation en feuille de fougère et l'accumulation vaginale<sup>1, 7</sup>. Le diagnostic était posé lorsque deux des trois tests témoins donnaient des résultats identiques (méthode 2 sur 3). Au total, 432 patientes ont été évaluées dans différents centres. Parmi ces patientes, 108 étaient des femmes qui n'avaient pas atteint 34 semaines de grossesse; la majorité de ces 108 femmes (70 %) étaient à plus de 24 semaines. L'âge gestationnel des patientes variait de 11 à 41 semaines. Les critères d'exclusion comprenaient le saignement vaginal de toute source et le placenta prævia. L'analyse statistique a été réalisée pour ces 432 cas. Comparativement aux diagnostics cliniques établis à l'aide des tests cliniques habituels, la sensibilité, la spécificité et les intervalles de confiance (IC) à 95 % estimés du test AmniSure ROM s'établissaient comme suit :

Centre	Nb de patientes	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Sharp <sup>1</sup>	203	98,9 % (93,2-99,9 %)	100,0 % (95,9-100 %)
Yale/Séoul <sup>7</sup>	183	98,7 % (95,1-99,8 %)	87,5 % (66,5-96,7 %)
Wesley	46	100,00 % (83,4-100 %)	100,00 % (80,8-100 %)
<b>Total</b> (âge gestationnel : 11-41 semaines)	432	<b>98,9 %</b> <b>(96,6-99,7 %)</b>	<b>98,9 %</b> <b>(96,6-99,7 %)</b>

Données agrégées :	< 34 semaines <sup>1, 7</sup> (IC à 95 %)	≥ 34 semaines (IC à 95 %)
	Sensibilité	98,3 % (90,9-99,9 %)
Spécificité	95,9 % (86,0-99,5 %)	99,07 % (95,4-99,9 %)

Parallèlement aux tests à la nitrazine, de cristallisation en feuille de fougère et d'accumulation vaginale, les femmes inscrites ont subi le test AmniSure ROM.

## ÉTUDES SUR LES SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Les infections vaginales et l'urine n'influencent pas les résultats du test AmniSure ROM. Des études et des analyses détaillées ont montré que la concentration de PAMG-1 dans les sécrétions vaginales lors d'une infection ne dépasse jamais 3 ng/ml. Le seuil de sensibilité du test AmniSure ROM est de 5 ng/ml, ce qui écarte toute influence découlant des infections. Il a été montré que la concentration de PAMG-1 dans le sperme ne dépasse pas 4 ng/ml. La concentration de PAMG-1 spermatique dans les sécrétions vaginales est encore plus faible en raison de l'effet de dilution de quatre fois lors de l'analyse. Par conséquent, pendant la mise au point du test AmniSure ROM et les essais cliniques, les facteurs liés au sperme n'ont eu aucune influence sur les résultats.

Il en va de même pour l'urine. La concentration de PAMG-1 dans quinze échantillons d'urine a été analysée par ELISA. La sensibilité de l'ELISA était de 0,5 ng de PAMG-1 par millilitre de solution. En parallèle, le test AmniSure ROM a également été utilisé pour détecter PAMG-1 dans l'urine. Les échantillons ont été obtenus de femmes enceintes à 25-40 semaines de grossesse. Les deux méthodes ont donné des résultats négatifs, c'est-à-dire qu'aucune trace de la protéine PAMG-1 n'a été détectée.

## RÉACTIVITÉ CROISÉE

La spécificité des anticorps monoclonaux utilisés dans le test AmniSure ROM a été évaluée par l'analyse de leur liaison croisée aux protéines suivantes : alpha-2 microglobuline de fertilité, gonadotrophine chorionique humaine, bêta-1 glycoprotéine spécifique de la grossesse, hormone lactogène placentaire, alpha-fœtoprotéine, sérumalbumine humaine et quelques protéines IGFBP. Les anticorps monoclonaux utilisés dans le test AmniSure ROM n'ont présenté aucune réactivité croisée contre d'autres protéines, à l'exception de l'anticorps utilisé dans la ligne de test qui a présenté une réactivité croisée contre la protéine IGFBP-3 par ELISA. Il a été montré que la concentration d'IGFBP-3 dans les sécrétions vaginales des femmes enceintes peut atteindre 680 ng/ml, mais cette concentration n'a pas d'effet sur la sensibilité du test AmniSure ROM envers PAMG-1.

## STABILITÉ DES RÉSULTATS

Le résultat du test AmniSure ROM peut être analysé si deux lignes sont clairement visibles dans le flacon ou lorsqu'un délai d'exactement 5 minutes s'est écoulé après le trempage de la bandelette d'analyse dans le flacon. Ce délai, basé sur une étude clinique à laquelle ont participé sept hôpitaux et 339 patientes, a montré une concordance globale de 99,4 % avec le point d'analyse précédent.

Des tests de stabilité ont été menés sur un lot contenant mille trousse de test AmniSure ROM. La protéine PAMG-1 purifiée a été utilisée à une concentration de 10 ng et de 5 ng de PAMG-1 par millilitre de soluté physiologique.

La durée et la stabilité des résultats ont également été mesurées. Une fois que le résultat devenait visible (apparition de lignes dans la zone d'analyse), il demeurait stable pendant au moins 5 minutes. Ce niveau de stabilité est observé en présence d'une très faible concentration de PAMG-1 (5-10 ng/ml). Lorsque la concentration est plus élevée, les lignes demeurent stables pendant plusieurs heures. Lors de l'utilisation du test AmniSure ROM, il est recommandé de ne pas analyser ou interpréter les résultats au-delà d'un délai de 10 minutes après le trempage de la bandelette d'analyse dans le flacon.

## BIBLIOGRAPHIE

- Cousins LM et al. AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. *Am J Perinatol.* 2005 Aug; 22(6):317-20.
- Lockwood CJ et al. Fetal membrane rupture is associated with the presence of insulin-like growth factor-binding protein-1 in vaginal secretions. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994 Jul; 171(1):146-50.
- Caughy AB et al. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008 Winter; 1(1):11-22.
- Petrinin DD et al. Immunochemical identification of organ specific human placental alpha-1-globulin and its concentration in amniotic fluid. *Akush Ginekol (Mosk).* 1977 Jan; (1):62-4.
- Tatarinov YS et al. 1980. Two New Human Placenta-Specific  $\alpha$ -Globulins: Identification, Purification, Characteristics, Cellular Localization and Clinical Investigation. *Scrono Symposium No. 35:35-46.* London and New York: Academic Press.
- Chen FC, Dudenhausen JW. Comparison of two rapid strip tests based on IGFBP-1 and PAMG-1 for the detection of amniotic fluid. *Am J Perinatol.* 2008 Apr; 25(4):243-6.
- Lee SE et al. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2007 Mar; 109(3):634-40.

## MARQUES DE COMMERCE

Gel K-Y® (titulaire : Reckitt Benckiser, Slough, Angleterre)

Traitement contre les infections à levure Monistat® (titulaire : Insight Pharmaceuticals, White Plains, New York)

Hydratant féminin Replens® (titulaire : Church and Dwight Co., Inc., Ewing, New Jersey)

IVD



QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874 États-Unis

REF

FMRT-1-10-CA  
FMRT-1-25-CA

Brevet américain 7,709,272. Brevets émis ou en instance dans d'autres pays.

© QIAGEN, 2015-2016

2016/09/20  
1090608 Rev. 03