

AmniSure® ROMTest

Instructions For Use

A rapid, non-instrumented, qualitative immunochromatographic test for the *in vitro* detection of amniotic fluid in vaginal discharge of pregnant women

EN English.....	2
ES-LA Español (Latinoamérica)	4
FR-CA Français (Canada).....	6

IVD

 QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874 USA

REF FMRT-1-10-US
FMRT-1-25-US

1090607 Rev. 06
02/2022

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

EN

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.¹ Accurate diagnosis of [fetal] membranes rupture, however, remains a frequent clinical problem in obstetrics.^{1,3}

Currently available tests have limitations and in some degree are invasive.¹ 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.

Health care professionals should use the test to evaluate patients with clinical signs/symptoms suggestive of [fetal] membranes rupture.

PRINCIPLE OF THE TEST

The AmniSure ROM 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, two, or no lines. The presence of only a control line indicates no membranes ruptured; two lines indicate there is a rupture. A test line only or no lines at all indicate an invalid result. See the "Test Procedure" section of these instructions for use for graphics depicting all possible test results.

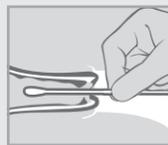
The AmniSure ROM Test uses the principles of immunochromatography to detect human PAMG-1 (placental alpha microglobulin-1) protein present in amniotic fluid of pregnant women. Placental Microglobulin was selected as a marker of [fetal] membranes rupture due to its unique characteristics, i.e. its high 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 AmniSure ROM 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 visible test line in the Test Region. This line is produced by gold dye attached to conjugated antibodies and indicates a Rupture Of [fetal] Membranes. The second control line is designed to indicate that the test is functioning properly. This line appears

TEST PROCEDURE

NOTE: You must follow all directions carefully to get an accurate reading of the results. Do not use the Test 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 with the AmniSure ROM Test. Remove the sterile swab from its package following instructions on the packaging. The polyester tip of the swab should not touch anything prior to insertion into vagina. Hold the swab in the middle of its shaft and, while a patient is lying 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 or 5-7 cm deep). Withdraw the swab from the vagina **after one minute**.

3. After the swab has been removed from the vagina, immediately place the polyester tip into the provided solvent vial and rinse by rotating for one minute.

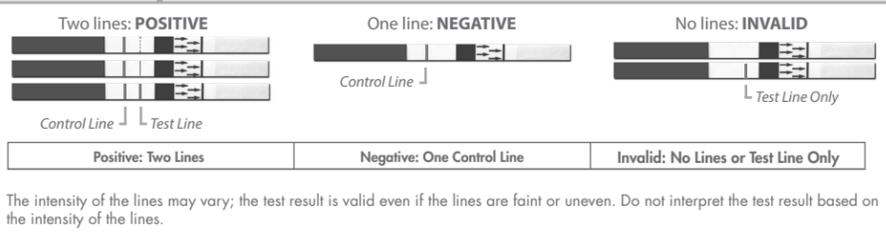
4. Remove the swab from the vial and dispose of it. Test the patient sample within 4 hours after collection. If the patient sample is not tested within 4 hours and sample storage is necessary, tightly close the sample vial and place in a refrigerator. Do not test the sample after more than 6 hours have passed since sample collection.



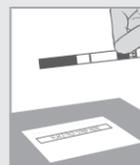
5. Tear open the foil pouch at the tear notches and remove the AmniSure ROM Test strip.

6. Dip the white end of the test strip (marked with arrows facing downward) into the vial with solvent. Strong leakage of amniotic fluid may make the results visible early, while a very small leak will take the full 10 minutes.

7. Remove the test strip from the vial if two lines are clearly visible in the test region or after 10 minutes sharp. Do not read or interpret the results after 15 minutes have passed since dipping the test strip in the vial. Read the results by placing the test strip on a clean, dry and flat surface in a well-lit environment via either natural or fluorescent lighting. A positive result is indicated by two lines in the test region, while a negative result is indicated by the presence of a control line and no test line. Please note that the presence of no lines or only a test line indicates an invalid test result. DO NOT interpret this as a negative test result. Invalid results require a retest. To properly distinguish between the test and control lines, please see Step 8.



The intensity of the lines may vary; the test result is valid even if the lines are faint or uneven. Do not interpret the test result based on the intensity of the lines.



8. To ensure correct identification of test and control line locations, compare the test strip to the graphics on the outer kit bag or foil pouch, as indicated. This will help confirm result interpretation.

LIMITATIONS OF THE TEST

- Each test is a single use disposable unit and cannot be reused.
- The AmniSure ROM Test results are qualitative. Make no quantitative interpretation 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.
- Use results 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.

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% Na₂S₂O₃.

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.
- Use the AmniSure ROM Test within six (6) hours after removing from foil pouch.

QUALITY CONTROL

Each AmniSure ROM Test has built-in reagent and procedural controls to assure accurate reading of the results. The appearance of one or two lines in the test results area verifies the integrity of the test procedure. It is recommended to use external controls and to follow federal, state, and local guidelines for quality control requirements. Freeze-dried PAMG-1 protein is recommended for a positive external control and can be purchased from QIAGEN. Saline solution is recommended for negative external control.

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.
- Observe safety precautions 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.^{4,5} 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.^{1,2} 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 ¹	203	98.9% (93.2-99.9%)	100.0% (95.9-100%)
Yale/Seoul ²	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%)
Total (gestational age 11-41 weeks)	432	98.9% (96.6-99.7%)	98.1% (94.1-99.5%)

Pooled Data:		
	<34 weeks ^{1,2} (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

The AmniSure ROM Test's results can be read if two stripes are clearly visible in the vial or at 10 minutes sharp after the Test strip is dipped into the vial. Stability tests were conducted where a lot containing one thousand the 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 15 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 alpha1-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 α -Globulins: 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.

GLOSSARY OF SYMBOLS

- IVD In Vitro Diagnostic Medical Device
- Do Not Reuse
- RX ONLY For Prescription Use Only
- Caution Consult Accompanying Instructions for Use
- Consult Instructions for Use
- Temperature Limitation
- REF Catalog Number
- Manufacturer
- Sufficient for "X" Tests
- LOT Batch Code
- GTIN Global Trade Item Number
- Use By Date

PATENT AND TRADEMARK INFORMATION

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)

AmniSure and associated logos are trademarks and/or registered trademarks of QIAGEN and/or its subsidiaries in the United States and/or other countries.

The AmniSure ROM Test and its use are covered by one or more of the following patents granted or licensed to QIAGEN and/or its subsidiaries; U.S. Patents 7,709,272; 8,114,610; 9,429,580; 9,568,479; 9,494,596, corresponding foreign patents and other patents pending. © 2019 QIAGEN

IVD

AmniSure® ROM (ruptura de las membranas [fetales]) Test

ESLA

INSTRUCCIONES PARA USO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

USO PREVISTO

La AmniSure ROM (ruptura de las membranas [fetales]) Test es una prueba inmunocromatográfica cualitativa rápida y sin instrumentar para la detección *in vitro* de líquido amniótico en la secreción vaginal de mujeres embarazadas. La AmniSure ROM Test detecta la proteína PAMG-1 marcador del líquido amniótico en la secreción vaginal. La prueba se ha diseñado para que la usen profesionales sanitarios (*Rx ONLY) para ayudar en la detección de la ruptura de las membranas fetales en mujeres embarazadas que refieren señales, síntomas o molestias que sugieren una ruptura de las membranas fetales.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El diagnóstico puntual y preciso de la ruptura de las membranas [fetales] (ROM) es fundamental ya que la ROM puede estar asociada a consecuencias neonatales y maternas graves. Si no se puede identificar la ROM en las pacientes, no se podrá darles un tratamiento adecuado.

Por otro lado, el diagnóstico erróneo de la ROM puede provocar que esta se trate de manera inadecuada (por ejemplo, hospitalización o inducción de parto). Por lo tanto, el diagnóstico correcto y puntual de la ROM es de gran importancia para el médico.¹ Sin embargo, el diagnóstico preciso de la ruptura de las membranas [fetales] sigue siendo un problema médico frecuente en la obstetricia.^{1,3}

Las pruebas que están disponibles actualmente tienen limitaciones y son invasivas en cierta medida.¹ La AmniSure ROM Test es una prueba rápida con tiras no invasiva que puede ayudar en la detección de la ROM y proporciona un diagnóstico rápido, puntual y de fácil interpretación. Por lo tanto, se pueden tomar medidas de manera oportuna para evitar que surjan complicaciones. En los ensayos clínicos, una AmniSure ROM Test se relacionó con el diagnóstico clínico obtenido mediante el uso combinado de tres pruebas de uso rutinario (nitrazina, Fern y acumulación).

El kit de la AmniSure ROM Test es un sistema autónomo de prueba que brinda resultados cualitativos.

Los profesionales sanitarios deben utilizar esta prueba para evaluar a las pacientes con signos/síntomas clínicos que sugieren una ruptura de las membranas [fetales].

PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

La AmniSure ROM Test no necesita un examen con espéculo que se utiliza de manera rutinaria en la actualidad para el diagnóstico de la ROM. Una muestra de líquido amniótico (tomada con una torunda vaginal) se coloca en un vial con un disolvente. El disolvente extrae la muestra de la torunda durante un minuto, tras lo cual se desecha la torunda. A continuación, la tira de la AmniSure ROM Test, un dispositivo de flujo lateral, se sumerge en el vial. La sustancia de la muestra fluye desde la región de absorción de la tira hasta la región de prueba. El resultado de la prueba se indica visualmente con la presencia de una o dos líneas, o bien sin ninguna línea. La presencia de únicamente una línea de control indica que no hay ruptura de las membranas y dos líneas indican que existe una ruptura. Una única línea de prueba o ninguna línea indican un resultado no válido. Consulte la sección "Procedimiento de prueba" de estas instrucciones de uso para ver los gráficos que describen todos los posibles resultados de la prueba.

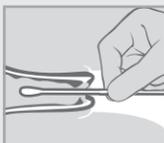
La AmniSure ROM Test utiliza los principios de la inmunocromatografía para detectar la proteína humana PAMG-1 (alfa microglobulina-1 placentaria) que está presente en el líquido amniótico de las mujeres embarazadas. La microglobulina placentaria se seleccionó como un marcador de la ruptura de las membranas [fetales] debido a sus características únicas, es decir, a su elevado nivel en el líquido amniótico, su bajo nivel en la sangre y su nivel de base extremadamente bajo (50-220 picogramos/ml) en la secreción cérvico vaginal cuando las membranas [fetales] están intactas.

La AmniSure ROM Test emplea anticuerpos monoclonales de alta sensibilidad que detectan incluso una cantidad mínima de la proteína, que está presente en la secreción cérvico vaginal tras la ruptura de las membranas [fetales]. Para reducir al mínimo la frecuencia de resultados falsos, se han seleccionado dos anticuerpos monoclonales para establecer el umbral de sensibilidad de la AmniSure ROM Test en el nivel bajo óptimo. Este nivel permite detectar cantidades extremadamente pequeñas de líquido amniótico en la secreción vaginal. La concentración de base de PAMG-1 que utiliza esta combinación de anticuerpos monoclonales es de aproximadamente 50-220 picogramos (es decir, 0,05-0,22 ng) por 1 ml de secreción vaginal. El punto de corte de sensibilidad de la AmniSure ROM Test es de 5 ng/ml, es decir, al menos 20 veces mayor que la concentración de base. Este intervalo ha permitido incrementar la precisión de la AmniSure ROM Test.

Durante el procedimiento de prueba, la microglobulina placentaria de la muestra se une secuencialmente al anticuerpo monoclonal conjugado con las partículas de marcado, y después se une a otro anticuerpo monoclonal que está inmovilizado en un transportador insoluble. Cuando los anticuerpos conjugados entran en contacto con la proteína PAMG-1 en la región de absorción de la tira, "capturan" la proteína PAMG-1 y la transportan a la región de prueba. La región de prueba de la tira reactiva contiene anticuerpos que están inmovilizados en ella. Estos anticuerpos "se unen" a la proteína PAMG-1 fijada a los anticuerpos conjugados que fluyen hacia arriba desde la región de absorción. Esta "unión" inmoviliza el sistema de proteína PAMG-1/anticuerpos conjugados para crear una línea de prueba visible en la región de prueba. Esta línea se produce gracias a una

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

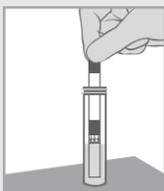
NOTA: Debe seguir todas las instrucciones cuidadosamente para obtener una lectura precisa de los resultados. No utilice la prueba antes de que transcurran 6 horas desde la eliminación de las soluciones desinfectantes o medicamentos de la vagina. La placenta previa y el tacto vaginal antes de la obtención de la muestra pueden producir resultados incorrectos en la prueba.



1. Tome el vial con disolvente sujetándolo por el tapón y agítelo bien para asegurarse de que todo el líquido del vial se haya dirigido hasta el fondo. Abra el vial con disolvente y colóquelo en posición vertical.



2. Para tomar una muestra de la superficie de la vagina, utilice la torunda esterilizada de poliéster que se suministra con la AmniSure ROM Test. Retire la torunda esterilizada de su paquete siguiendo las instrucciones del envase. La punta de poliéster de la torunda no debe entrar en contacto con ningún material antes de introducirla en la vagina. Sujete la torunda por la parte media de la varilla y, mientras la paciente está recostada boca arriba, introduzca cuidadosamente la punta de poliéster de la torunda en la vagina hasta que los dedos toquen la piel (no más de 5-7 cm de profundidad). Retire la torunda de la vagina **cuando haya pasado un minuto**.



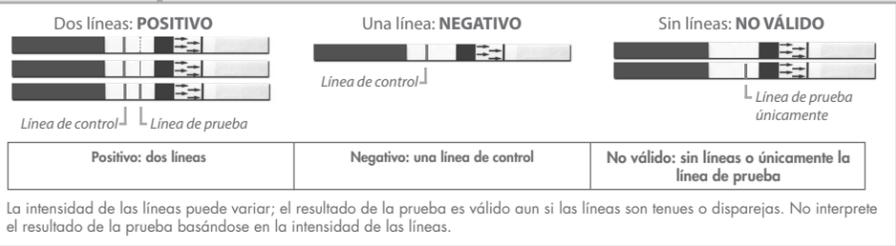
3. Una vez que se haya retirado la torunda de la vagina, coloque de inmediato la punta de poliéster en el vial con disolvente suministrado y bañe la punta girando el vial durante un minuto.

4. Retire la torunda del vial y deséchela. Analice la muestra de la paciente en un plazo de 4 horas a partir de su obtención. Si no se analiza la muestra de la paciente en un plazo de 4 horas y se necesita almacenar la muestra, tape firmemente el vial con la muestra y colóquelo en un refrigerador. No analice la muestra si han pasado más de 6 horas desde la obtención de la muestra.

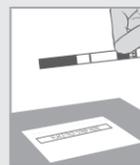
5. Abra la bolsa de aluminio por las muescas de apertura fácil y extraiga la tira de la AmniSure ROM Test.

6. Sumerja la punta blanca de la tira reactiva (marcada con flechas hacia abajo) en el vial con disolvente. La pérdida excesiva de líquido amniótico puede hacer que los resultados se puedan visualizar rápidamente, mientras que una pérdida muy reducida tomará los 10 minutos completos.

7. **Retire la tira reactiva del vial si se pueden ver claramente dos líneas en la región de prueba o después de que hayan transcurrido exactamente 10 minutos.** No lea ni interprete los resultados después de que hayan pasado 15 minutos a partir del momento en que se sumergió la tira reactiva en el vial. Lea los resultados colocando la tira reactiva sobre una superficie limpia, seca y plana en un ambiente con buena iluminación, ya sea natural o fluorescente. El resultado positivo se indica con dos líneas en la región de prueba, mientras que el resultado negativo se indica con la presencia de una línea de control y ninguna línea de prueba. Tenga en cuenta que la ausencia de líneas o la aparición de una sola línea indica un resultado de prueba no válido. NO interprete esto como un resultado de prueba negativo. Los resultados no válidos requieren la repetición de la prueba. Para distinguir adecuadamente entre las líneas de prueba y las de control, consulte el paso 8.



La intensidad de las líneas puede variar; el resultado de la prueba es válido aun si las líneas son tenues o dispares. No interprete el resultado de la prueba basándose en la intensidad de las líneas.



8. Para garantizar la identificación correcta de las ubicaciones de la línea de prueba y la línea de control, compare la tira reactiva con los gráficos que están en el bolsillo exterior del kit o en la bolsa de aluminio, según se indique. Esta acción ayudará a confirmar la interpretación de los resultados.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Cada prueba es una unidad desechable de un solo uso y no se puede reutilizar.
- Los resultados de la AmniSure ROM Test son cualitativos. No haga una interpretación cuantitativa basándose en los resultados de la prueba.
- Cuando hay una cantidad considerable de sangre en la torunda, la prueba puede fallar y no es recomendable. En los casos donde únicamente hay pequeñas cantidades de sangre en la torunda, la prueba aún funcionará adecuadamente.
- En casos muy poco frecuentes donde una muestra se toma 12 horas o un poco después de una ruptura, se puede producir un resultado falso negativo debido a que el feto obstruye la ruptura o a que el saco amniótico se ha vuelto a sellar.
- Se desconoce el rendimiento de la prueba en pacientes sin signos o síntomas de ROM.

- **Utilice los resultados junto con otra información clínica.**
- La imposibilidad de detectar la ruptura de la membrana no garantiza que la membrana no esté rota.
- Las mujeres pueden entrar en trabajo de parto a pesar de que se ha obtenido un resultado negativo en la prueba.
- El rendimiento de la AmniSure ROM Test no se ha establecido en la presencia de los siguientes contaminantes: cremas o óvulos vaginales antifúngicos, K-Y® Jelly, tratamiento para la candidiasis Monistat®, talco para bebés (almidón y talco), humectante femenino Replens® o aceite para bebé.
- No se ha establecido el rendimiento de la AmniSure ROM Test en presencia de meconio en el líquido amniótico.

tintura dorada que se ha agregado a los anticuerpos conjugados e indica la ruptura de las membranas [fetales]. La segunda línea de control está diseñada para indicar que la prueba funciona correctamente. Esta línea aparece cuando el anticuerpo contra la IgG murina "captura" el anticuerpo antimurino con la tintura dorada. La tintura dorada le da su color a la línea obtenida.

REACTIVOS Y COMPONENTES

El kit de la AmniSure ROM Test incluye los siguientes componentes: 1) Instrucciones de uso 2) Tira reactiva de la AmniSure ROM Test en una bolsa de aluminio con desecante 3) Torundas vaginales esterilizadas de poliéster 4) Vial de plástico con solución disolvente que contiene: NaCl al 0,9 %, Trítón X-100 al 0,01 %, NaN₃ al 0,05 %.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Almacene el kit en un lugar seco a una temperatura de 4 a 25 °C. **NO CONGELAR**
- Cuando se almacene en la bolsa de aluminio a la temperatura recomendada, la prueba se mantendrá estable hasta la fecha de caducidad indicada en la misma bolsa.
- Utilice la AmniSure ROM Test dentro de un período de seis (6) horas a partir del momento en que se extrae de la bolsa de aluminio.

CONTROL DE CALIDAD

Cada AmniSure ROM Test cuenta con un reactivo integrado y controles de procedimiento para garantizar la lectura correcta de los resultados. La aparición de una o dos líneas en el área de resultados de la prueba indica la integridad del procedimiento de prueba. Se recomienda utilizar controles externos y seguir los lineamientos federales, estatales y locales para cumplir con los requisitos de control de calidad. Se recomienda el uso de la proteína PAMG-1 congelada en seco para el control positivo externo y esta se puede comprar a QIAGEN. Se recomienda el uso de una solución salina para el control negativo externo.

Nota: Si se separan los componentes del kit antes de su uso, registre los números de lote del kit de la AmniSure ROM Test o los números específicos de la tira reactiva, la torunda y el disolvente que se han utilizado en cada prueba.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Una prueba con falsos negativos puede dar lugar a un nivel inadecuado de cuidado de los recién nacidos con menos de 37 semanas de gestación si el dispositivo se emplea en instituciones que no son las que cuentan con los equipos para el cuidado de bebés prematuros (por ejemplo, unidades de cuidados neonatales de nivel III-II).
- Los resultados falsos negativos pueden retrasar el diagnóstico de la ruptura de las membranas y pueden aumentar el riesgo de que se produzcan corioamnionitis, oligohidramnios y complicaciones del cordón umbilical fetal. Es posible que los resultados **negativos** por sí solos no descarten la ruptura de la membrana.
- **Tenga en cuenta las precauciones de seguridad cuando recoja, manipule y deseche las muestras para la prueba.**
- No utilice los componentes dañados de la prueba.
- Los kits de la prueba usados son de riesgo biológico. Tome las precauciones adecuadas cuando manipule y deseche los kits de la prueba usados.
- No los utilice después de la fecha de caducidad que está impresa en la bolsa de aluminio y en la etiqueta de la caja.
- No vuelva a utilizar los componentes del kit de la prueba.
- No doble ni pliegue la tira reactiva ni la bolsa de aluminio que contiene la tira reactiva.
- La pérdida persistente de poco líquido residual puede producir resultados falsos negativos.
- Hasta que se excluya el diagnóstico de ruptura de la membrana, evite realizar un tacto vaginal para prevenir que se produzcan infecciones y reducir el período de latencia.

VALORES ESPERADOS

La pérdida de líquido amniótico indica que hay una ruptura de las membranas [fetales] en todas las mujeres. Los estudios de la proteína alfa microglobulina-1 placentaria (PAMG-1) la han establecido como un marcador de líquido amniótico.^{4,5} Se midió la concentración de PAMG-1 en las secreciones cervicales y vaginales de mujeres sin complicaciones en el embarazo y esta varía de 0,05 a 0,22 ng/ml. Cuando hay presencia de vaginitis o mezcla no significativa de suero sanguíneo, el nivel de base de la proteína PAMG-1 puede llegar al valor máximo de 3 ng/ml. Las concentraciones de PAMG-1 en el líquido amniótico entran en el rango de 2000-25.000 ng/ml La pérdida clínicamente significativa de líquido amniótico aumenta por miles la concentración de PAMG-1 en la secreción cérvico vaginal. El umbral de sensibilidad de la AmniSure ROM Test se ajusta con un factor de 20 por encima del nivel de base de la proteína PAMG-1 (la AmniSure ROM Test detecta 5-7 ng/ml de PAMG-1).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

El rendimiento clínico de la AmniSure ROM Test se determinó mediante tres estudios donde se comparó con el diagnóstico clínico proporcionado a partir de la combinación de las pruebas de nitrazina, Fern y acumulación que se realizan de manera rutinaria.^{1,7} El diagnóstico se estableció cuando dos de tres pruebas de control proporcionaron resultados idénticos (método 2 de 3). Se evaluó a un total de 432 pacientes en diferentes centros. De estas pacientes, 108 eran mujeres con menos de 34 semanas de gestación, la mayoría de las 108 (70 %) tenían una gestación superior a 24 semanas. La edad gestacional en las pacientes variaba entre 11 y 41 semanas. Los criterios de exclusión incluyeron hemorragia vaginal activa de cualquier origen y placenta previa. Se encuentra disponible el análisis estadístico de estos 432 casos. En relación con los diagnósticos clínicos determinados mediante pruebas clínicas rutinarias, la sensibilidad, la especificidad y los intervalos de confianza (IC) del 95 % de la AmniSure ROM Test se estimaron como se indica a continuación:

Centro	N.º de pacientes	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
Sharp ¹	203	98,9 % (93,2-99,9 %)	100,0 % (95,9-100 %)
Yale/Seoul ⁷	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 %)
Total (edad gestacional de entre 11 y 41 semanas)	432	98,9 % (96,6-99,7 %)	98,1 % (94,1-99,5 %)

Datos agrupados:		
	<34 semanas ¹⁻⁷ (IC del 95 %)	≥34 semanas (IC del 95 %)
Sensibilidad	98,3 % (90,9-99,9 %)	99,07 % (96,8-99,8 %)
Especificidad	95,9 % (86,0-99,5 %)	99,07 % (95,4-99,9 %)

En paralelo a las pruebas de nitrazina, Fern y acumulación, las mujeres admitidas se analizaron con la AmniSure ROM Test.

ESTUDIOS DE INTERFERENCIA

Las infecciones vaginales o la orina no interfieren con los resultados de la AmniSure ROM Test. La investigación y el análisis detallados mostraron que la concentración de PAMG-1 en los exudados vaginales durante las infecciones nunca supera el nivel de 3 ng/ml. El nivel de sensibilidad de la AmniSure ROM Test es de 5 ng/ml, excluyendo cualquier interferencia proveniente de infecciones. Se determinó que la concentración de PAMG-1 en el semen no supera los 4 ng/ml. La concentración de PAMG-1 de semen en las secreciones vaginales es incluso inferior debido al efecto de dilución realizada cuatro veces consecutivas durante la realización de la prueba. Por lo tanto, durante el desarrollo de la AmniSure ROM Test y durante los ensayos clínicos, no hubo interferencia a causa de la presencia de semen en los resultados.

Esto también se aplica a la orina. Se estudiaron quince muestras de orina para detectar la concentración de PAMG-1 en ella, con la prueba ELISA. La sensibilidad de la prueba ELISA fue de 0,5 ng de PAMG-1 por 1 ml de solución. En paralelo, también se utilizó la AmniSure ROM Test para detectar la PAMG-1 en la orina. Se habían obtenido muestras de mujeres embarazadas con 25-40 semanas de embarazo. Ambos métodos proporcionaron resultados negativos: No se encontró PAMG-1.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizó la especificidad de los anticuerpos monoclonales utilizados en la AmniSure ROM Test al evaluar su unión de reactividad cruzada a las proteínas: alfa microglobulina-2 de fertilidad, gonadotropina coriónica humana, beta 1-glicoproteína trofoblástica, lactógeno placentario humano, alfa-fetoproteína, albúmina sérica humana y algunas proteínas de fijación al factor de crecimiento insulinoide (IGFBP). Los anticuerpos monoclonales utilizados en la AmniSure ROM Test no tenían reactividad cruzada con otras proteínas, a excepción de que se determinó que el anticuerpo utilizado en la línea de prueba tenía reactividad cruzada con la proteína IGFBP-3 en la prueba ELISA. Se demostró que la concentración de IGFBP-3 en la secreción vaginal de mujeres embarazadas llega a 680 ng/ml, pero esta concentración no afecta la sensibilidad de la AmniSure ROM Test a la proteína PAMG-1.

ESTABILIDAD DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la AmniSure ROM Test se pueden leer si se observan dos líneas en el vial o a los 10 minutos exactos después de que la tira reactiva de la prueba se ha sumergido en el vial. Se han realizado pruebas de estabilidad donde se ha estudiado un lote que contenía mil kits de la AmniSure ROM Test. Se ha utilizado la proteína PAMG-1 purificada en concentraciones de 10 ng y 5 ng de PAMG-1 por 1 ml de solución salina fisiológica.

También se midieron la duración/estabilidad de los resultados. Una vez que el resultado se visualizó (aparecieron líneas en la región de prueba), este permaneció estable durante al menos 5 minutos. Este tipo de estabilidad se observa cuando la concentración de PAMG-1 es muy baja (5-10 ng/ml). Cuando la concentración es superior, las líneas permanecen estables durante horas. Cuando se utilice la AmniSure ROM Test, se recomienda que los resultados no se lean ni interpreten hasta que pasen 15 minutos después de que la tira reactiva de la prueba se haya sumergido en el vial.

BIBLIOGRAFÍA

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 alpha1-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 a-Globulines: Identification, Purification, Characteristics, Cellular Localization and Clinical Investigation. Scrono 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.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

- Producto sanitario para diagnóstico in vitro
- No reutilizar
- Para utilizar únicamente con receta médica
- Precaución: consulte las instrucciones de uso adjuntas
- Consultar las instrucciones de uso
- Limitación de temperatura
- Número de catálogo
- Fabricante
- Suficiente para "X" pruebas
- Código de lote
- Número mundial de artículo comercial
- Fecha de caducidad

INFORMACIÓN DE PATENTE Y MARCA REGISTRADA

K-Y® Jelly (propiedad de Reckitt Benckiser, Slough, Inglaterra)

Tratamiento para candidiasis Monistat® (propiedad de Insight Pharmaceuticals, White Plains, New York)

Humectante femenino Replens® (propiedad de Church and Dwight Co., Inc., Ewing, New Jersey)

AmniSure y los logotipos asociados son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de QIAGEN o sus filiales en los Estados Unidos u otros países.

La AmniSure ROM Test y su uso cuentan con cobertura de una o más de los siguientes patentes autorizadas o con licencia otorgada a QIAGEN y sus filiales; las patentes de EE. UU. 7.709.272; 8.114.610; 9.429.580; 9.568.479; 9.494.596, las patentes extranjeras correspondientes y otras patentes están pendientes.
© 2019 QIAGEN

IVD

AmniSure® ROM (rupture des membranes fœtales) Test

MODE D'EMPLOI POUR LE DIAGNOSTIC *IN VITRO*

UTILISATION PRÉVUE

L'AmniSure ROM Test (rupture des membranes fœtales [Rupture Of Membranes, en anglais]) est un test immunochromatographique qualitatif rapide ne nécessitant pas d'instruments et destiné à la détection *in vitro* du liquide amniotique dans les sécrétions vaginales des femmes enceintes. L'AmniSure ROM Test 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 (*Rx ONLY) 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 cliniciens¹. Le diagnostic précis de la rupture des membranes fœtales demeure cependant un problème clinique fréquent en obstétrique^{2,3}.

Les tests actuellement disponibles sur le marché présentent des limites et sont jusqu'à un certain point effractifs¹. L'AmniSure ROM Test 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 AmniSure ROM Test 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 d'AmniSure ROM Test est un système de test autonome qui fournit des résultats qualitatifs.

Les professionnels de la santé doivent utiliser ce test pour évaluer les patientes présentant des signes ou des symptômes cliniques indiquant une rupture des membranes fœtales.

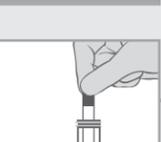
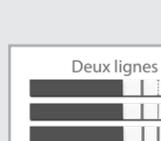
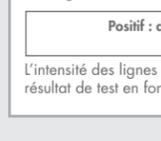
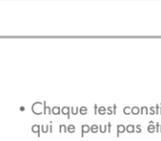
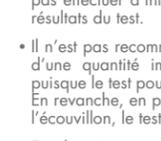
PRINCIPE DU TEST

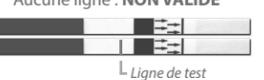
L'AmniSure ROM Test ne nécessite pas la réalisation de l'examen au spéculum qui est habituellement utilisé à l'heure actuelle pour diagnostiquer une rupture des membranes. Un échantillon de liquide amniotique (prélevé par écouvillonnage vaginal) est placé dans un flacon contenant du solvant. L'échantillon 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, de deux ou d'aucune ligne. La présence d'une seule ligne témoin 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. Une seule ligne de test ou aucune ligne indique un résultat non valide. Consultez la section « Procédure de test » de ces instructions pour l'utilisation des graphiques représentant tous les résultats de test possibles.

L'AmniSure ROM Test 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.

L'AmniSure ROM Test 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. Afin de réduire la fréquence de faux résultats, deux anticorps monoclonaux ont été sélectionnés pour établir le seuil de sensibilité de l'AmniSure ROM Test 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) par millilitre de sécrétions vaginales. Le seuil de sensibilité de l'AmniSure ROM Test est de 5 ng/ml, soit au moins 20 fois plus que la concentration de fond. Cette différence a permis d'accroître l'exactitude de l'AmniSure ROM Test.

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 visible dans la zone d'analyse. Cette ligne est produite par

	PROCÉDURE DE TEST
	REMARQUE : Toutes les instructions doivent être rigoureusement suivies pour effectuer une lecture exacte des résultats. Ne pas utiliser le test moins de 6 heures après le retrait d'une solution désinfectante ou d'un médicament du vagin. La présence d'un placenta prævïa 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 positiion verticale.
	2 Utiliser l'écouvillon en polyester stérile fourni avec l'AmniSure ROM Test 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 de l'écouvillon 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. Retirer l'écouvillon du vagin après une minute .
	3 Quand l'écouvillon est sorti du vagin, placer immédiatement l'extrémité en polyester dans le flacon de solvant fourni et rincer en tournant pendant une minute.
	4. Sortir l'écouvillon du flacon et le jeter. Analyser l'échantillon de la patiente dans les 4 heures suivant le prélèvement. Si l'échantillon de la patiente n'est pas analysé dans un délai de 4 heures et que la conservation de l'échantillon est requise, bien fermer le flacon d'échantillon et le mettre au réfrigérateur. Ne pas analyser l'échantillon après plus de 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon.
	5. Ouvrir le sachet en aluminium en utilisant les encoches d'ouverture et retirer la bandelette d'analyse AmniSure ROM.
	6 Tremper l'extrémité blanche de la bandelette d'analyse (marquée de flèches vers l'avant) dans le flacon contenant le solvant. Un écoulement important de liquide amniotique pourrait faire en sorte que le résultat apparaisse rapidement, alors qu'il faudra la période complète de 10 minutes dans le cas d'un écoulement très faible.
	7 Retirer la bandelette d'analyse du flacon si la présence de deux lignes est clairement visible dans la zone de test, ou après exactement 10 minutes. Ne pas lire ou interpréter le résultat après qu'un délai de 15 minutes s'est écoulé depuis le trempage de la bandelette d'analyse dans le flacon. Lire les résultats en plaçant la bandelette de test sur une surface plane, proche et sèche dans un endroit bien éclairé par une lumière naturelle ou fluorescente. Un résultat positif est indiqué par deux lignes dans la zone de test, alors qu'un résultat négatif est indiqué par la présence d'une ligne témoin et aucune ligne de test. Remarque que l'absence de ligne ou la présence d'une seule ligne de test indique un résultat de test non valide. NE PAS interpréter cela comme un résultat de test négatif. Les résultats non valide requièrent un nouveau test. Pour distinguer correctement les lignes de test et témoin, consulter l'étape 8.
	8 Pour assurer l'identification correcte des emplacements des lignes de test et témoin, comparez la ligne de test aux graphiques sur la pochette extérieure de la trousse ou le sachet en aluminium, comme indiqué. Ceci aide à confirmer l'interprétation du résultat.
	

Deux lignes : POSITIF	Une ligne : NÉGATIF	Aucune ligne : NON VALIDE
		
<i>Ligne témoin</i> ↓ <i>Ligne de test</i>	<i>Ligne témoin</i> ↓	<i>Ligne de test uniquement</i>

Positif : deux lignes	Négatif : une ligne témoin	Non valide : aucune ligne ou ligne de test uniquement
L'intensité des lignes peut varier; le résultat du test est valide même si les lignes sont faibles ou irrégulières. Ne pas interpréter le résultat de test en fonction de l'intensité des lignes.		

LIMITES DU TEST

• Chaque test constitue une unité jetable à usage unique qui ne peut pas être réutilisée.

• Les résultats de l'AmniSure ROM Test sont qualitatifs. Ne pas effectuer d'interprétation quantitative basée sur les 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 faux 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.

• **Utiliser les résultats avec les autres informations 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 de l'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 Monistat®, poudre pour bébé (amidon et talc), hydratant féminin Replens®, huile pour bébé.

• Le rendement de l'AmniSure ROM Test n'a pas été établi lorsqu'il y a présence de méconium dans le liquide amniotique.

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 d'AmniSure ROM Test contient les composants suivants : 1) mode d'emploi; 2) bandelette d'analyse AmniSure ROM dans un sachet d'aluminium contenant un dessiccatif; 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 NaN₃ à 0,05 %.

CONSERVATION ET STABILITÉ

• Conserver la trousse dans un endroit sec à une température de 4 à 25 °C. 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.
• Utilisez l'AmniSure ROM Test dans les six (6) heures suivant l'ouverture du sachet d'aluminium.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Chaque AmniSure ROM Test contient des témoins intégrés de réactifs et de procédure pour confirmer que les résultats sont correctement lus. 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. Il est recommandé d'utiliser les contrôles externes et de respecter les directives nationales, régionales et locales relatives aux exigences de contrôle qualité. La protéine PAMG-1 lyophilisée est recommandée pour un contrôle externe positif et peut être achetée auprès de QIAGEN. Un soluté physiologique est recommandé pour le contrôle externe négatif.

Remarque : Si les composants de la trousse sont séparés avant l'utilisation, noter le numéro de lot de la trousse d'AmniSure ROM Test 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 faux 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 IIIII).

• 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.

• **Respecter les précautions de sécurité 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 trousses de test usagées présentent un risque biologique. Prendre les mesures de précaution appropriées lors de la manipulation et de l'élimination des trousses 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 minime de liquide résiduel, peut entraîner un résultat faux 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^{4, 5}. 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 d'AmniSure ROM Test a été établi à un facteur de 20 fois au-dessus de la concentration de fond de PAMG-1 (l'AmniSure ROM Test détecte une concentration de 5-7 mg/ml de PAMG-1).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

La performance clinique de l'AmniSure ROM Test a été déterminée 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^{1, 2}. 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 prævïa. 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 de l'AmniSure ROM Test s'établissaient comme suit :

Site	Nbre de patientes	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Sharp ¹	203	98,9 % (93,2-99,9 %)	100,0 % (95,9-100 %)
Yale/Séoul ²	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 %)
Total (âge gestationnel : 11-41 semaines)	432	98,9 % (96,6-99,7 %)	98,1 % (94,1-99,5 %)

Données agrégées :		
	< 34 semaines ^{1,7} (IC à 95 %)	≥ 34 semaines (IC à 95 %)
Sensibilité	98,3 % (90,9-99,9 %)	99,07 % (96,8-99,8 %)
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 l'AmniSure ROM Test.

ÉTUDES SUR LES SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Les infections vaginales et l'urine n'influencent pas les résultats de l'AmniSure ROM Test. 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 de l'AmniSure ROM Test est de 5 ng/ml, ce qui écarte toute influence découlant des infections. Il a été montré que la concentration de PAMG-1 dans la 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 de l'AmniSure ROM Test 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, l'AmniSure ROM Test 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 l'AmniSure ROM Test 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 l'AmniSure ROM Test 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 de l'AmniSure ROM Test envers PAMG-1.

STABILITÉ DES RÉSULTATS

Le résultat de l'AmniSure ROM Test peut être analysé si deux lignes sont clairement visibles dans le flacon ou lorsqu'un délai d'exactlyement 10 minutes s'est écoulé après le trempage de la bandelette d'analyse dans le flacon. Des tests de stabilité ont été menés sur un lot contenant mille trousses d'AmniSure ROM Test. 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 demeurerait 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 de l'AmniSure ROM Test, il est recommandé de ne pas analyser ou interpréter les résultats au-delà d'un délai de 15 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.*
- Caughey AB et al. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. Rev Obstet Gynecol. 2008 Winter; 1(1):11-22.*
- 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(1):62-4.*

- Tatarinov YS et al. 1980. Two New Human Placenta-Specific a-Globulines: 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.*

GLOSSAIRE DES SYMBOLES

IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro

 Ne pas réutiliser

RX ONLY À utiliser uniquement sur ordonnance

 Mise en garde, consulter le mode d'emploi fourni

 Consulter le mode d'emploi

 Limite de température

REF Numéro de référence

 Fabricant

 Suffit pour « X » tests

LOT Code de lot

GTIN Code article international

 Date de péremption

INFORMATIONS DE BREVET ET DE MARQUE COMMERCIALE

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)

AmniSure et les logos associés sont des marques commerciales et/ou des marques déposées de QIAGEN et/ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

L'AmniSure ROM Test et son utilisation sont couverts par un ou plusieurs des brevets suivants accordés à ou sous licence de QIAGEN et/ou ses filiales; brevets américains 7,709,272; 8,114,610; 9,429,580; 9,568,479; 9,494,596, brevets étrangers correspondants et autres brevets en attente. © 2019 QIAGEN

IVD