

AmniSure® ROM (Gebroken [foetale] Vliezen) Test

AANWIJZINGEN VOOR IN VITRO DIAGNOSTISCH GEBRUIK

BEOOGD GEBRUIK

De AmniSure® ROM (Gebroken [foetale] Vliezen) Test is een instrumentloze kwalitatieve immunochromatografische sneltest voor de *in vitro* detectie van vruchtwater in vaginale afscheiding van zwangere vrouwen. De test is bedoeld voor gebruik door personeel in de gezondheidszorg ter ondersteuning bij de detectie van gebroken vliezen bij zwangere vrouwen bij wie men dit vermoedt¹.

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE TEST

Vroegtijdig breken van de vliezen (PROM) komt voor bij ca. 10% van de zwangerschappen. Op het moment vormt PROM één van de belangrijkste therapeutische dilemma's in de obstetrische praktijk.¹ PROM is misschien de meest voorkomende diagnose die samenhangt met vroegtijdige bevalling en neonatale complicaties die opname op een neonatale intensive care unit vereisen. De zorg voor de patiënt met PROM en PPRM (voortijdige PROM) is kostbaar en blijft een belangrijk perinataal dilemma voor de clinicus die het risico van zwangerschapsverlenging probeert af te wegen tegen de risico's van infectie¹.

De risico's van PROM aan het einde van de zwangerschap zijn gerelateerd aan ernstige neonatale consequenties, zoals voortijdige bevalling,² foetale nood, uitgezakte navelstreng, abruptio placentae en infectie.³ PPRM is PROM die vóór de 37^e week van de zwangerschap plaatsvindt. Dit maakt 20-40% van de PROM uit, en dit cijfer wordt verdubbeld bij meervoudige zwangerschappen. PPRM hangt samen met 20-50% van de vroeggeboorten, infectieziekten bij de moeder of de foetus, longhypoplasie van de foetus, uitzakking van de navelstreng, misvormingen bij de foetus, postnatale

endometritis. Deze gevolgen doen de morbiditeit en mortaliteit bij foetus en moeder aanzienlijk toenemen.⁴ De latentietijd in PPRM is omgekeerd evenredig aan de duur van de zwangerschap, waardoor er meer risico's bestaan voor zeer premature baby's en hun moeders. Aangezien PPRM samenhangt met 20-50% van de vroeggeboorten, is PPRM ook verantwoordelijk voor de neonatale problemen die voortkomen uit vroeggeboorten.²

Het niet identificeren van patiënten met PROM kan ertoe leiden dat men geen heilzame obstetrische maatregelen neemt (Neonatale sepsis komt bijv. voor als PROM meer dan 32 uur nadat het zich voordoet wordt vastgesteld). Andersom kan de onjuiste diagnose van gebroken vliezen leiden tot ongeschikte maatregelen (bijv. ziekenhuisopname of een ingeleide bevalling). **Daarom is de juiste en tijdige diagnose van deze aandoening van cruciaal belang voor de clinicus.**⁵ Juiste diagnose van gebroken vliezen blijft echter een veelvoorkomend klinisch probleem in de verloskunde⁶. De tijdige diagnose van deze aandoening is cruciaal omdat de PROM samenhangt met ernstige neonatale en maternale gevolgen. Helaas is er op dit moment in de klinische praktijk geen 'gouden regel' voorhanden voor de diagnose van gebroken vliezen. De meeste testen die momenteel beschikbaar zijn, zijn onnauwkeurig en tot op zekere hoogte invasief. Nitrazine en Ferning testen zijn hoogst onbetrouwbaar. Vanaf een uur na het breken van de vliezen worden ze steeds onnauwkeuriger en na 24 uur zijn ze volkomen onbetrouwbaar. De conclusie is dat deze testen bij langdurige PROM geen betere diagnostische informatie bieden dan wanneer die gewoon op klinische evaluatie is gebaseerd.⁸

AmniSure® lost deze problemen op. Het is een snelle striptest die kan detecteren of er sprake is van gebroken vliezen, en een uiterst accurate en tijdige PROM-diagnose stelt. Hierdoor kunnen ook tijdig maatregelen worden genomen om complicaties te voorkomen (profyactisch gebruik van antibiotica, weeënremmende medicijnen, ingeleide bevalling etc.)

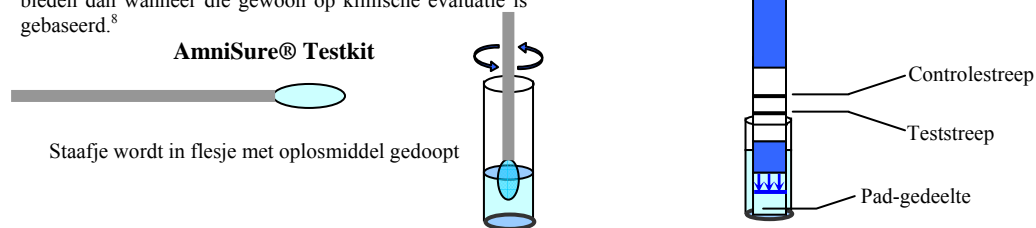
VOORDELEN VAN DE TEST

De AmniSure testkit is een op zichzelf staand testsysteem. Het geeft kwalitatieve resultaten die de bestaande methoden overtreffen in tijdigheid, nauwkeurigheid, gevoeligheid, specificiteit en betrouwbaarheid. AmniSure is één test die alle benodigde diagnoses kan stellen: van eenvoudige gevallen waarbij bevestigende diagnose nodig is tot de moeilijkste gevallen waarbij geen zichtbaar verlies van vruchtwater evident is (zgn. subklinische breuk). De test vereist geen speculumonderzoek, zoals dat momenteel voor ROM-diagnose wordt gebruikt¹.

PRINCIPE VAN DE TEST

Een monster van het vruchtwater (afgenomen met een vaginaal staafje) wordt in een flesje met oplosmiddel gedaan. In één minuut trekt het oplosmiddel het monster los van het staafje, waarna het staafje wordt weggegooid. AmniSure® Teststrip (dipstick) wordt dan in het flesje gedoopt. De substantie van het monster stijgt van het Pad-gedeelte van de strip naar het Testgedeelte. Het testresultaat wordt afgelezen aan de hand van één of twee streepjes.

Wat vaginale afscheiding wordt d.m.v. staafje opgenomen



De teststrip wordt in het flesje gedoopt

The AmniSure ROM Test gebruikt de principes van immunochromatografie om humaan PAMG-1 (placentair α 1-microglobuline)-proteïne te detecteren dat zich in het vruchtwater van zwangere vrouwen bevindt. Placentamicroglobuline werd gekozen als indicatie van gebroken vliezen vanwege de unieke eigenschappen: hoog gehalte in vruchtwater, laag gehalte in bloed en zeer laag achtergrondgehalte (50-220 picogram/ml) in cervico-vaginale afscheiding als de foetale vliezen intact zijn.

De test gebruikt erg gevoelige monoklonale anti-lichamen die een minimale hoeveelheid van het proteïne al detecteren dat na het breken van de vliezen in cervicovaginale afscheiding aanwezig is. Om het aantal foutieve resultaten te minimaliseren zijn verscheidene monoklonale antilichamen gekozen om de gevoeligheidsdrempel van AmniSure® zo laag mogelijk te stellen. Dit niveau maakt detectie mogelijk van zeer geringe hoeveelheden vruchtwater in vaginale afscheiding. Achtergrondconcentratie van PAMG-1 dat deze combinatie van monoklonale antilichamen gebruikt is ongeveer 0,05-0,22 ng per 1 ml vaginale afscheiding. De gevoeligheidsgrens van de AmniSure test is 5-7 ng/ml: zeker 20 keer hoger dan de achtergrond-concentratie. Door dit verschil steeg de nauwkeurigheid van de test tot 99%. Waardoor het vals positieve en vals negatieve resultaten elimineerde.

Tijdens de testprocedure bindt Placentair Microglobuline van het monster eerst aan een monokonaal antilichaam (A-Mal) en daarna aan een ander monokonaal antilichaam (B-Mal), geïmmobiliseerd op een onoplosbare drager. Wanneer A-Mallen in contact komen met PAMG-1 op het Pad-gedeelte 'vangen' ze PAMG-1 en transporteren het naar het testgedeelte. Op het testgedeelte zijn B-Mallen geïmmobiliseerd. B-Mallen 'ontmoeten' PAMG-1 gebonden aan A-Mallen die vanaf het Pad-gedeelte naar boven komen. Deze 'ontmoeting' immobiliseert het

systeem van PAMG-1/A-Mallen, waardoor een bruin gele teststreep zichtbaar wordt in het test-gedeelte. Deze Streep ontstaat door goudconjugaat dat aan de A-antilichamen kleeft, en duidt op gebroken vliezen. De tweede Controlestreep is om aan te geven dat de Test goed functioneert. Deze streep verschijnt wanneer konijn anti-muis IgG antilichaam het muis A-antilichaam met goudconjugaat vangt.

REAGENTIA EN ONDERDELEN Geleverd Materiaal:

1. Aanwijzingen voor gebruik 2. AmniSure Teststrip in folieverpakking met droogmiddel. Elke Teststrip bevat: a) A-Monokonaal antilichaam (geproduceerd door muis-hybridoma) b) Geïmmobiliseerd B-Monokonaal antilichaam (geproduceerd door een ander muis-hybridoma) c) Colloïdale gouddeeltjes verbonden aan A-Monokonaal antilichaam d) Muis-IgG e) Konijn anti-muis IgG antilichaam 3. Steriel Polyester vaginaal staafje 4. Plastic flesje met oplosmiddel. Het oplosmiddel bevat: a) 0,9% NaCl b) 0,01% Triton X100 c) 0,05% NaN₃

VOORZORG EN WAARSCHUWINGEN

*AmniSure testkit is voor in vitro diagnostisch gebruik. Niets van deze testkit is voor inwendig gebruik. *Lees en volg de aanwijzingen goed. Doet u dit niet, dan kunnen de resultaten onnauwkeurig zijn. *Neem veiligheidsmaatregelen bij het afnemen, behandelen en weggooien van testmonsters. *Gebruik geen beschadigde testonderdelen. *Gebruikte testkits zijn biologisch gevaarlijk. *Neem voorzorgsmaatregelen bij het behandelen en weggooien van de testkits. *Niet gebruiken na de datum die op de folieverpakking en het etiket van het doosje staat. *Hergebruik de onderdelen niet. *Buig of vouw de Teststrip of de folieverpakking met de Teststrip erin niet.

OPSLAG EN STABILITEIT

*Bewaar de kit op een droge plaats bij 4 tot 24°C (40 tot 75°F). VORSTVRIJ BEWAREN. *Wanneer de test in de

folieverpakking op de aanbevolen temperatuur wordt bewaard, is de test stabiel tot aan de datum op het doosje. *AmniSure test moet binnen zes (6) uur nadat deze uit het foliezakje is gehaald, worden gebruikt.

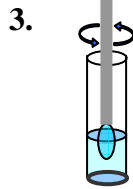
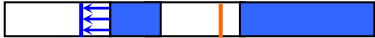
TESTPROCEDURE

1. Pak het flesje oplosmiddel bij de dop en schud het goed, zodat alle vloeistof op de bodem terecht komt. Open het flesje en zet het rechtop neer.
2. Gebruik het bijgeleverde Polyester staafje om een monster af te nemen uit de vagina. Neem het steriele staafje uit de verpakking volgens de instructies die daarop staan. Het Polyester uiteinde mag niet met iets in aanraking komen voor het in de vagina wordt ingebracht. Houd het staafje in het midden van het stokje vast en breng, terwijl de patiënte op haar rug ligt, het Polyester uiteinde voorzichtig in de vagina in tot de vingers de huid raken (niet dieper dan 5-7 cm). Neem het staafje **na 1 minuut** uit de vagina.
3. Plaats het Polyester uiteinde in het flesje en spoel het staafje af in het oplosmiddel door het 1 minuut rond te draaien.
4. Verwijder het staafje en gooi het weg.
5. Scheur de folieverpakking bij de inkeping open en verwijder de AmniSure teststrip.
6. Doop het witte uiteinde van de Teststrip (zie de pijltjes) in het flesje met reagentia. Sterk verlies van vruchtwater maakt de resultaten snel zichtbaar (binnen seconden), terwijl bij zeer gering verlies de volle 10 minuten misschien nodig zijn.
7. **Verwijder de Teststrip als twee strepen duidelijk zichtbaar zijn in het flesje of na precies 10 minuten.** Lees de resultaten af door de test op een schoon, droog, plat oppervlak te leggen. Lees of interpreteer de resultaten niet later dan 15 minuten nadat de Teststrip in het flesje werd gedoopt.

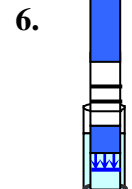


BEOORDELING VAN RESULTATEN

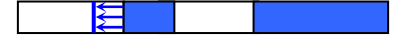
Eén streep, GEEN GEBROKEN VLIEZEN:



Twee strepen, VLIEZEN ZIJN GEBROKEN



Geen streep, TEST ONGELDIG, doe een nieuwe test:



** De streepjes zijn niet altijd even donker. De Test is ook geldig als de streepjes vaag of ongelijkmatig zijn. Beoordeel het resultaat niet op basis van hoe donker de streepjes zijn.

KWALITEITSCONTROLE

Elke AmniSure-test heeft ingebouwd reagens en procedurele controles om te zorgen dat alles goed werkt. Het verschijnen van 1 of 2 twee streepjes in het resultatengedeelte bevestigt de deugdelijkheid van de testprocedure. Als alleen een Controlestreep zichtbaar is, is het testresultaat negatief. Als zowel de Controlestreep als de Teststreep zichtbaar is, is het resultaat positief. Als er geen streepjes te zien zijn, is de test ongeldig.

BEPERKINGEN VAN DE TEST

De AmniSure Gebroken Vliezen Test is voor de in vitro detectie van humaan vruchtwater PAMG-1 proteïne in de vaginale afscheiding van zwangere vrouwen. De test moet worden gebruikt voor patiënten bij wie vermoed wordt en/of bij wie klinische signalen/symptomen bestaan dat de vliezen gebroken zijn.

- De test is bedoeld om vruchtwater lekkage op een bepaald moment op te sporen. In zeldzame gevallen, wanneer een monster 12 uur na een ruptuur is genomen en de lekkage is opgehouden, kan de test mogelijk geen ROM opsporen, veroorzaakt door verscheidene factoren. B.v. genezing van de ruptuur, denaturatie van het antigeen etc. Periodieke herhaling van de test is in deze situaties aan te bevelen.
- U moet alle aanwijzingen zorgvuldig opvolgen om tot een accurate interpretatie van de resultaten te komen.
- Elke test is een wegwerptest, voor eenmalig gebruik.
- De resultaten van de AmniSure Gebroken Vliezen Test zijn kwalitatief. Er dient geen kwantitatieve interpretatie te worden gebaseerd op de testresultaten.
- Wanneer er slechts gering bloedverlies is (Polyester uiteinde van het staafje is roze), dan presteert de test goed. Wanneer er sprake is van duidelijk bloedverlies (Polyester staafje is rood) dan kan de test niet goed werken.
- AmniSure® moet niet eerder worden gebruikt dan 6 uur na verwijdering van desinfecterende oplossingen of medicijnen uit de vagina.

VERWACHTE WAARDEN

Verlies van vruchtwater is bij alle vrouwen een indicatie van gebroken vliezen. Onderzoek van placentair α -micro-globuline-proteïne (PAMG-1) heeft aangetoond dat het op vruchtwater duidt.^{9,10} Concentratie van PAMG-1 in cervicale/vaginale afscheiding van zwangere vrouwen zonder complicaties tijdens de zwangerschap werd gemeten en varieert van 0,05 tot 0,22 ng/ml. Als er sprake

is van vaginitis of niet-significante vermenging met bloedserum kan het achtergrondniveau van PAMG-1 het maximum van 3 ng/ml bereiken. PAMG-1 concentraties in het vruchtwater vallen in het 2.000-25.000 ng/ml bereik. Klinisch significant vruchtwaterverlies verhoogt de PAMG-1 concentratie in cervico-vaginale afscheiding met een factor van duizenden. De gevoeligheidsdrempel van de AmniSure Test ligt een factor 20 boven het achtergrondniveau van PAMG-1 (AmniSure detecteert 5 ng/ml PAMG-1). Hierdoor waren testresultaten niet meer afhankelijk van mogelijke variaties in de verwachte waarden (PAMG-1 niveaus) bij een bepaalde populatie.

PRESTATIEKENMERKEN

De klinische prestatie van de AmniSure-test werd aanvankelijk bepaald door een onafhankelijke klinische studie in de VS. Deze klinische studie diende als de basis voor de FDA toestemming van AmniSure in de VS en liet de volgende resultaten zien!:

Gevoeligheid: **98,9%**. Specificiteit: **100%**. PPW (Positieve Voorspellende Waarde): **100%**. NVW (Negatieve Voorspellende Waarde): **99,1%**.

De klinische prestaties van AmniSure® werden vergeleken met de klinische diagnose verkregen door routinematige inzet van Nitrazine, Varentest en pooling.

De diagnose stond vast wanneer 2 van de 3 controle tests identieke resultaten gaven (de 2 van 3 methode), gevolgd door klinische observatie.

Een meer recent gepubliceerde studie werd uitgevoerd in Duitsland en vergeleek AmniSure met de oude immunoassay technologie (Actim™ PROM, gebaseerd op de detectie van IGFBP-1 proteïne), veel gebruikt in Duitsland. De conclusie van de studie was dat de "snelle strip test" gebaseerd op PAMG-1, gevoeliger lijkt dan de vergeleken test gebaseerd op het vinden van IGFBP-1 in vruchtwater¹¹.

Interferentie-onderzoek

Vaginale infecties of urine zijn niet van invloed op de resultaten van de AmniSure-test. Gedetailleerd onderzoek en analyse hebben aangetoond dat PAMG-1 concentratie in vaginale afscheiding tijdens infecties nooit het niveau van 3 ng/ml overschrijdt. Het gevoeligheidsniveau van AmniSure is 5 ng/ml, met uitsluiting van interferenties door infecties. Concentratie van PAMG-1 in sperma bleek de 4 ng/ml niet te overschrijden. Daarom was er tijdens de

AmniSure klinische studies geen interferentie van sperma in de resultaten.

AmniSure is ook gebruikt om PAMG-1 in urine te traceren. Monster van zwangeren tussen 25-40 weken werden hiervoor gebruikt. Daarbij werden 15 monsters urine getest op PAMG-1 concentraties, met behulp van ELISA. De gevoeligheid van ELISA was 0,5 ng PAMG-1 per 1 ml oplossing.

Samenvattend, bij beide methoden werd in de urine geen significante aanwezigheid van PAMG-1 gevonden.

Kruisreactiviteit

De specificiteit van monoklonale antilichamen in AmniSure werd getest door bestudering van hun kruisreactieve binding aan proteïnen: alpha-2-microglobuline van fertilititeit, humaan choriongonadotrofine, trofoblastaire beta-1-glycoproteïne, humaan placentair lactoogeen hormoon, alpha-fetoproteïne, humaan serumalbumine, en een aantal IGFBP proteïnen. Monoklonale antilichamen gebruikt in AmniSure, waren niet kruisreactief met andere proteïnen, behalve het antilichaam gebruikt in de testopzet, bleek wel kruisreactief te zijn met IGFBP-3-proteïne in ELISA. Concentratie van IGFBP-3 in vaginale afscheiding van zwangere vrouwen bleek 680 ng/ml te bereiken, maar deze concentratie heeft geen invloed op de gevoeligheid van de AmniSure-test voor PAMG-1.

Stabiliteit van Resultaten

AmniSure's testresultaten kunnen binnen enkele minuten nadat de teststrip in het flesje is gedoopt worden afgelezen. De meeste positieve resultaten kunnen binnen 0,5 – 3 minuten worden afgelezen. Kleine rupturen vergen tussen de 3 - 10 minuten. Om een kleine ruptuur uit te sluiten en/of ook een negatieve uitslag te bevestigen is het belangrijk de volle 10 minuten te wachten.

Het is af te raden de resultaten af te lezen 15 minuten nadat de teststrip in het flesje is gedoopt. Direct zichtbare lijnen horen bij een hoge concentratie PAMG-1 en blijven uren nadien nog zichtbaar. Wanneer de volle 10 minuten nodig zijn (b.v. bij een micro-ruptuur) om een positief resultaat te krijgen kan het zijn dat de testlijn slechts 5 minuten zichtbaar blijft na het verschijnen van de lijn.

BIBLIOGRAFIE

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; 22: 317-320.
2. Mercer B.M. et al., Am J Obstet Gynecol 2000, Sep; 183 (3):738-45.
3. Caughey AB, Robinson JN, and Norwitz, ER. Contemporary Diagnosis and Management of Preterm Premature Rupture of Membranes. Rev Obstet Gynecol. 2008; 1 (1):11-22D.
4. Furman B. et al., Clinical significance and outcome of preterm prelabor rupture of membranes:

population-based study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2000, Oct; 92 (2):209-16.

5. Lockwood C.J. et al., Am. J. Obstet. Gynecol. 1994, 171, No 1, pp.146-150.
6. Darj E, Lyrenas S., Acta Obstet. Gynecol. Scand., 1998, 77, pp.295-297
7. Gorodeski I.G, Haimovitz L., Bahari C.M., 1982, Journal Perinat. Med; 10 (6):286-92
8. Lee, S, Park J "Measurement of Placental Alpha-Microglobulin-1 in Cervicovaginal Discharge to Diagnose Rupture of Membranes", Obstet Gynecol 2007; 109: 634-640.
9. D. Petrunin, "Immunochemical identification of organ specific human placental alpha-globulin and its

concentration in amniotic fluid", Akush Ginekol (Mosk) 1977 Jan(1):64-5

10. Y. Tatarinov, D. Petrunin et al. 1980; "Two new Human Placenta-Specific α -Globulins: Identification, Purification, Localization, and Clinical Investigation", The Human Placenta, Ed by A.Klopper et al., Acad. Press, London-NY, pp.35-46
11. F. Chen, J. Dudenhausen, "Comparison of Two Rapid Strip Tests Based on IGFBP-1 and PAMG-1 for the Detection of Amniotic Fluid", Am J Perinatol 2008; 25:243-246.



©AmniSure® International LLC
30 JFK Street
Cambridge, MA 02138, USA
617-234-4441 Tel.
www.amnisure.com

EC REP
Société AmniSure SARL
2 Rue Hélène Boucher
Parc Ariane, Immeuble le Vénus
78280 Guyancourt FRANCE
Tel : +33 (0)1 61 08 54 85

ASPI500-DK004
3/23/10