



Rupture of Membranes Test

INSTRUCTIONS FOR USE
INSTRUCCIONES DE USO
GEBRAUCHSANWEISUNG
GEBRUIKSAANWIJZING
ISTRUZIONI PER L'USO
KULLANIM TALIMATLARI

ROM-1025

TABLE OF CONTENTS

EN	Instructions For Use	3
ES	Instrucciones de uso	9
DE	Gebrauchsanweisung	15
NL	Gebruiksaanwijzing	22
IT	Istruzioni per l'uso	28
TU	Kullanım Talimatları	35

INTENDED USE

The Clinical Innovations ROM Plus ES fetal membrane rupture test is a rapid, qualitative immunochromatographic test for the in vitro detection of amniotic fluid in vaginal secretions of pregnant women with signs and symptoms of ROM. The test detects AFP (alpha-fetoprotein) and IGFBP-1 (insulin-like growth factor-binding protein-1 also known as PP12 (placental protein 12)) from amniotic fluid in vaginal secretions. The test is for prescription use by health care professionals to aid in the detection of rupture of membranes (ROM) in pregnant women in conjunction with other signs and symptoms.

REAGENTS AND COMPONENTS

Each ROM Plus ES kit contains:

- One ROM Plus ES test strip
- One sterile polyester vaginal swab
- One vial with buffer solution (phosphate-buffered saline)
- Directions for use (on each pouch)
- The test strip contains the following antibodies: sheep antihuman IGFBP-1, goat antihuman AFP, mouse conjugated colloid gold antihuman IGFBP-1 & AFP.

TEST SUMMARY

ROM Plus ES is a self-contained test kit that provides qualitative results for rupture of fetal membranes and is obtained at point-of-care sites. A speculum is not needed to obtain ROM Plus ES results. The test is non-invasive, with only a simple vaginal swab sample required. The sample is collected by placing the swab into the vagina for 15 seconds. The swab is then mixed into a vial containing 600 μ L of buffer solution for 15 seconds and the ROM Plus ES test strip is placed into the buffer solution. The liquid moves chromatographically and unidirectionally towards the absorbent pad.

TEST PRINCIPLE

During migration, the sample reacts with mono/polyclonal antibodies bound to the test strip membrane. These antibodies are immunoreactive to a combination of proteins, IGFBP-1 and AFP, which are markers of amniotic fluid. As the membrane absorbs the liquid sample, a control line will appear, indicating proper function of the device. If the sample contains the IGFBP-1 and/or AFP proteins, it binds to the antibody of the test line, causing the test line to appear and indicating a positive result. If the sample does not contain the IGFBP-1 and/or AFP, only the control line will be visible, indicating a negative result.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit in a dry place at 4° to 37°C (40° to 99°F). Do not freeze.
- When stored in the foil pouch at the recommended temperature, the test is stable until the "Expiration" date on the pouch.

- Use ROM Plus ES within six (6) hours after opening foil pouch.
- Use ROM Plus ES within six (6) hours of collecting the vaginal swab sample and placing it into the buffer vial.

PRECAUTIONS, LIMITS AND WARNINGS

- ROM diagnoses should not be based on any single test.
- ROM Plus ES is for in vitro diagnostic use only.
- ROM Plus ES is for healthcare professional use only.
- Allow pouch containing ROM Plus ES to reach room temperature prior to utilizing the test.
- All instructions should be followed carefully for accurate results.
- Each ROM Plus ES test kit is single use and disposable and should not be reused.
- ROM Plus ES results are qualitative. No quantitative interpretations should be made.
- ROM Plus ES test kits will function properly with trace amounts of blood in the sample. Significant amounts of blood discharge may cause the test to malfunction and is not recommended.
- Safety precautions should be observed when collecting, handling, and disposing of test samples.
- Used test kits are biohazardous.
- Elevated fetal serum, urine, cord blood, and amniotic fluid as well as maternal serum levels of AFP have been reported in the literature in various developmental disorders such as neural-tube defects, hypothyroidism, autoimmune states, congenital heart defects, cystic fibrosis, etc. ROM Plus ES has not been evaluated for potential interference in these conditions.

Results should be used in conjunction with other clinical information available

METHOD OR PERFORMANCE

The ROM Plus ES assay was validated for the parameters of linearity, limit of detection, accuracy/reproducibility, sensitivity, specificity and cross-reactivity:

High Concentration (“High Dose Hook” effect) – for the ROM Plus upper-detection range, the IGFBP-1 and AFP were tested. Concentrations of IGFBP-1 were tested up to 400,000 ng/ml and AFP up to 200,000 ng/ml with a positive visual results. (Although lines may be lighter in presence of very high AFP and IGFBP-1 concentrations, any line is considered positive.)

The lowest limit of detection (LOD) is 5 ng/ml for IGFBP-1 and 150 ng/ml for AFP. (These LOD concentrations refer to those in samples of vaginal secretions before dilution with buffer.)

Reproducibility was tested on different days at six levels of amniotic fluid spiked

into a negative control. The assay was run on three lots of ROM Plus to determine the visual positive or negative results. Two low positives, two moderate positives and two high positives were run on three lots of ROM Plus on four different days. No difference in activity was observed.

To determine interference and cross-reactivity of the assay, Tylenol, aspirin, and five different bath products (KY Gel, Surgilube, Lever Soap, Noxema cream, Pert Shampoo), were spiked into the low positive control at a final concentration of 0.1% without visual loss of activity. The same bath products were spiked into the negative-matrix control and shown to be negative. In addition, human semen, urine and blood were spiked into the low positive at a 10% final concentration without loss of activity. Human semen, urine and blood were also spiked into the negative-control matrix and shown to be negative. IGFBP-1 assay does not cross-react with IGFBP-2, IGFBP-3, and IGFBP-4 based on Western Blot results. ROM Plus was shown to be negative when tested with specimens that were positive for bacterial vaginosis and sexually transmitted diseases. All samples were pH>4.5.

In a multi-center prospective, observational study, ROM Plus was shown to outperform the standard clinical assessment. Included in the study were healthy pregnant women, 18 years of age or older, between 15-42 weeks of gestation reporting signs or symptoms of rupture of membranes. Patients with known placenta previa and/or active vaginal bleeding were excluded from the study. Initial evaluation included both the standard clinical assessment for rupture of membranes (SSE: speculum exam for fluid pooling, ferning, and nitrazine test), as well the ROM Plus. Rupture of membranes was diagnosed if fluid was seen leaking from the cervical os, or suspected if two of the three conditions were present: pooling of fluid, positive nitrazine test, or ferning. The diagnosis of rupture of membranes was confirmed after review of the patient's clinical course following delivery.

Clinicians performing the SSE were blinded from the ROM Plus results and vice versa. The clinical standard of pooling/ferning/nitrazine has been shown in the literature to have sensitivities of 16-51% and specificities around 70%^{1,2,3} (when these tests are used individually) and thus are not ideal reference standards. As a result, the final diagnosis of ROM was based on subsequent review of the patient's chart and clinical course—a common methodology described in the literature for the detection of ruptured membranes.^{4,5}

Table 1: Clinical Study⁶ - ROM Plus vs. Clinical Assessment (pooling/ferning/nitrazine)

Of the 285 patients (15-42 weeks of gestation), the false positive rate for ROM Plus was 9% and the false negative rate was 0.5%, sensitivity 99%, specificity 91%, positive and negative predictive values of 95% and 99%. Conventional clinical evaluation's sensitivity was 85%, specificity 98%, positive and negative predictive values of 99% and 77%. Results in this study for ROM Plus in preterm were: sensitivity of 100%, specificity of 94%. Table 1 shows the ROM Plus test results (by gestational age) obtained in the clinical study. Six of the nine false positives were at term and only three of the nine were preterm. Data are

presented as sensitivity and specificity with confidence intervals for all gestational age group, term and preterm groups, less than 24 weeks' gestational age, between 24 and 34 weeks, and greater than 34 weeks gestational age.

GA (weeks)	N	Sensitivity (95% confidence interval)	Specificity (95% confidence interval)
ALL	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

QUALITY CONTROL

Each ROM Plus ES test contains Internal Quality Control, which verifies the integrity of the test procedure (operator), verifies proper assembly of the test strip (device integrity) and that the test has been appropriately stored (not exposed to extreme temperature) (environment).

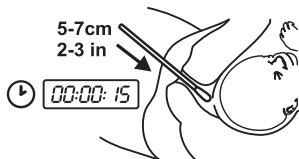
The positive control, demonstrated by the appearance of the control line (C), assures that the reagent is functioning properly (device integrity), an adequate sample volume was applied to the cassette (operator) and adequate capillary migration (lateral flow) occurred (device integrity). The negative control is represented by the lack of color along the entire strip length assuring no inappropriate binding occurred (device integrity). If the control line appears and there is color along the strip the test is functioning properly and does not need to be repeated.

Because this test contains two levels (positive and negative) of internal quality control and is a qualitative, moderately complex test, it is the company's recommendation that external QC be completed for each new lot number or shipment of test material and when there's suspicion of compromised specimen or improper storage and as required by regulatory or accrediting agencies.

ROM Plus Fetal Membrane Rupture Test Quality Control kit for external controls are available from Clinical Innovations, LLC. and are intended to monitor the performance of Clinical Innovation's ROM Plus fetal membrane rupture test strip. The control test kits contain human IGFBP-1 and human AFP amniotic fluid proteins at concentrations of 20 ng/ml and 600 ng/ml. External negative controls that do not contain these proteins are also available in the Quality Control Kit. Always follow federal, state and local guidelines for quality control documentation.

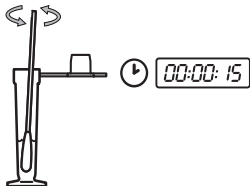
TEST PROCEDURE

1 - Collect Sample



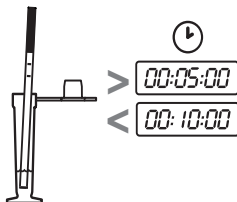
Remove ROM Plus ES contents from the packaging. Holding the buffer vial in an upright position, remove the shipping cap and set it aside. Remove the sterile swab from its package to collect a sample from the surface of the vagina. The tip of the swab should not touch anything prior to its insertion. Insert the swab tip into the vagina 2-3 inches (5-7 cm) deep. Withdraw the swab after a minimum of 15 seconds.

2 - Mix Sample and Run Test



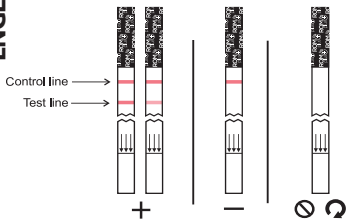
Place the swab tip into the vial. Mix the swab in the buffer for at least 15 seconds, then remove and dispose of the swab.

3 - Add test strip to vial and set timer



Tear open the foil pouch and remove the ROM Plus test strip. Place the white end of the test strip (marked with arrows) into the vial with buffer.

4 - Read test result



Remove the test strip if two lines are clearly visible or after 10 minutes. Darkness of the stripes may vary. The test is still valid even if the lines are faint. Do not interpret test results based on darkness of the lines. If only a control line (top line) is visible, the test result is negative. If both the control line and test line (bottom line) are visible, the test result is positive. If no lines are visible the test result is invalid and should be repeated. A light visible line located in the test line region should be

considered positive; in addition, very high concentrations of proteins may result in a light test line. It is recommended to read the strip by 10 minutes after placing it into the vial.

EXPECTED RANGES

IGFBP-1 concentration in amniotic fluid as determined in literature studies is between 10,500 and 350,000 ng/ml and for AFP from 2,800 to 26,000 ng/ml and in serum from 55 to 242 U/ml (equivalent to 33 to 290 ng/ml). Concentrations of IGFBP-1 in amniotic fluid was observed to be 100 to 1000 times higher than that in maternal serum. These studies also showed that concentrations of these proteins in urine to be negligible.⁷⁻⁹

Instrucciones de uso de ROM Plus ES

USO PREVISTO

La prueba de rotura de membrana fetal ROM Plus ES de Clinical Innovations es una prueba inmunocromatográfica cualitativa rápida para la detección in vitro del líquido amniótico en las secreciones vaginales de las mujeres embarazadas, que presenten señales y síntomas de ROM. La prueba detecta AFP (alfa-fetoproteína) e IGFBP-1 (proteína 1 vinculante de factor de crecimiento de insulina, también conocida como PP12 (proteína placenta 12)) a partir del líquido amniótico en las secreciones vaginales. La prueba es para ser usada bajo prescripción de profesionales sanitarios en la ayuda de detección de la ruptura de membranas (ROM) en mujeres embarazadas junto con otros signos y síntomas.

REACTIVOS Y COMPONENTES

Cada kit ROM Plus ES contiene:

- Una tira de prueba ROM Plus ES
- Una torunda vaginal estéril de poliéster
- Un vial con solución tampón (solución salina tamponada con fosfato)
- Instrucciones de uso (en cada bolsa)
- La tira de prueba contiene los siguientes anticuerpos: IGFBP-1 antihumano de oveja, AFP antihumano de cabra, IGFBP-1 y AFP antihumano de oro coloide conjugado de ratón.

RESUMEN DE LA PRUEBA

ROM Plus ES es un kit de ensayo independiente que proporciona resultados cualitativos sobre la rotura de las membranas fetales y se obtiene en centros sanitarios. No se necesita un espéculo para obtener resultados con ROM Plus ES. La prueba no requiere una exploración con espéculo y no es invasiva, solamente se precisa una sencilla torunda vaginal. La muestra se recoge introduciendo la torunda en la mucosa vaginal durante 15 segundos. La torunda se mezcla en un vial con 600 µL de solución reguladora durante 15 segundos y la tira de prueba ROM Plus ES se coloca dentro de la misma. El líquido se mueve por acción cromatográfica y unidireccionalmente hacia la almohadilla absorbente.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Durante la migración, la muestra reacciona con los anticuerpos mono/policlonales ligados a la membrana de la tira reactiva. Estos anticuerpos son inmunoreactivos a una combinación de proteínas, IGFBP-1 y AFP, que son marcadores del líquido amniótico. A medida que la membrana absorbe la muestra líquida, aparecerá una línea de control, que señala el funcionamiento correcto del dispositivo. Si la muestra contiene proteínas IGFBP-1 y/o AFP, estas se unirán al anticuerpo de la línea de análisis, de modo que aparecerá la línea de análisis que indica un resultado positivo. Si la muestra no contiene

las proteínas IGFBP-1 y/o AFP, solo será visible la línea de control, lo que indica un resultado negativo.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Almacene el kit en un lugar seco entre 4 y 37 °C (40 a 99 °F). No congelar.
- Si se almacena en la bolsa de aluminio a la temperatura recomendada, la prueba es estable hasta la fecha de "caducidad" indicada en la bolsa.
- Utilice ROM Plus ES dentro de las seis (6) horas posteriores a la apertura de la bolsa de aluminio.
- Utilice ROM Plus ES dentro de las seis (6) horas posteriores a la recogida de la muestra mediante torunda vaginal y su posterior introducción en el vial de tampón.

PRECAUCIONES, LÍMITES Y ADVERTENCIAS

- La diagnosis ROM no debería basarse solo en una prueba única.
- ROM Plus ES está diseñado exclusivamente para uso diagnóstico in vitro.
- ROM Plus ES está diseñado exclusivamente para uso profesional.
- Deje que la bolsa que contiene ROM Plus ES alcance la temperatura ambiente antes de la prueba.
- Se han de seguir cuidadosamente todas las instrucciones para obtener unos resultados exactos.
- Cada kit ROM Plus ES es de un solo uso y desechable, y no se debe reutilizar.
- Los resultados de ROM Plus ES son cualitativos. No se deben realizar interpretaciones cuantitativas.
- Los kits ROM Plus ES funcionarán correctamente si las muestras presentan trazas de sangre. Sin embargo, unas cantidades significativas de sangre pueden provocar que la prueba no se comporte según lo previsto, por lo que no se recomienda analizar esas muestras.
- Deben observarse precauciones de seguridad cuando se recojan, manipulen y se desechen muestras de pruebas.
- Los kits de prueba utilizados son biopeligrosos.
- Se han reportado en la literatura médica suero fetal elevado, orina, sangre del cordón y líquido amniótico, así como niveles de suero materno de AFP en varios trastornos de desarrollo, tales como defectos del tubo neural, hipotiroidismo, estados autoinmunes, defectos de corazón congénitos, fibrosis quística, etc. ROM Plus ES no ha sido evaluado en cuanto a interferencia potencial en estas condiciones.

Los resultados deben utilizarse junto con otra información clínica disponible.

MÉTODO O RENDIMIENTO

Se han validado los parámetros de linealidad, límite de detección, precisión/

reproducibilidad, sensibilidad, especificidad y reactividad cruzada de la prueba ROM Plus ES:

Alta concentración (efecto "gancho alta dosis") - para el rango de detección superior ROM Plus ES, se probaron IGFBP-1 y AFP. Las concentraciones de IGFBP-1 se probaron hasta 400.000 ng/ml y AFP hasta 200.000 ng/ml con resultados visuales positivos. (Aunque las líneas puedan quedar más claras en presencia de concentraciones muy altas de AFP y IGFBP-1 cualquier línea está considerada como positiva).

El límite inferior de detección (LOD) es de 5 ng/ml para IGFBP-1 y de 150 ng/ml para AFP. (Estas concentraciones LOD se refieren a las de las muestras de las secreciones vaginales antes de la dilución con el tampón.)

La reproducibilidad se comprobó en diferentes días en seis niveles de líquido amniótico en un control negativo. El ensayo se hizo con tres lotes de ROM Plus para determinar los resultados negativos o positivos visuales. Se analizaron dos positivos bajos, dos positivos moderados y dos positivos altos en tres lotes de ROM Plus en cuatro días diferentes. No se observaron diferencias en términos de actividad.

Para determinar la interferencia y la reactividad cruzada de la prueba, se añadieron Tylenol, aspirina y tres productos de baño diferentes (Gel KY, Surgilube, jabón Lever, crema Noxema, champú Pert) al control positivo bajo a una concentración final del 0,1 % sin pérdida visual de actividad. Los mismos productos de baño se añadieron a la matriz de control negativo y se obtuvieron resultados negativos. Además, se añadieron al control positivo bajo muestras de semen, orina y sangre humanos a una concentración final del 10 % sin pérdida de actividad. También se añadieron las muestras de semen, orina y sangre humanos a la matriz de control negativo y se obtuvieron resultados negativos. El ensayo de IGFBP-1 no mostró reacción cruzada con IGFBP-2, IGFBP-3, e IGFBP-4 según los resultados de la transferencia Western. ROM Plus resultó negativo cuando se probó con muestras que eran positivas a la vaginosis bacteriana y a enfermedades de transmisión sexual. Todas las muestras eran de un $\text{pH} > 4,5$.

En un estudio observacional en varios centros, ROM Plus superó las pruebas clínicas estándar. En el estudio se incluyeron mujeres embarazadas sanas, de 18 años de edad o más, con una gestación de entre 15 y 42 semanas, que mostraban signos o síntomas de ruptura de membranas. Los pacientes con placenta previa diagnosticada o con sangrado vaginal activo se excluyeron del estudio. La evaluación inicial incluyó tanto evaluación clínica estándar para ruptura de membranas (SEE: examen especular para prueba pooling, fern y de nitrazina), como ROM Plus. Se diagnosticó la ruptura de membranas si se veía el fluido filtrándose del orificio cervical o si se sospechaba la presencia de dos o tres condiciones: acumulación de fluidos, prueba de nitrazina positiva o fern. El diagnóstico de la ruptura de membranas se confirmó después del estudio del curso clínico del paciente después del parto.

Los clínicos realizando el SEE desconocían los resultados del ROM Plus y viceversa. Las publicaciones consultadas indican que el estándar clínico de pooling/fern/nitrazina tiene

sensibilidades de 16-51 % y especificidades del 70 %^{1,2,3} (cuando se usan las pruebas individualmente) y por lo tanto no son estándares de referencia ideales. Como resultado, el diagnóstico final de ROM se basó en revisiones subsiguientes del cuadro del paciente y de su curso clínico-una metodología común descrita en publicaciones para la detección de ruptura de membranas.^{4,5}

Tabla 1: Estudio clínico⁶ - ROM Plus frente a Evaluación clínica (pooling/fern/niacina)

De los 285 pacientes (15-42 semanas de gestación), el índice de falso positivo para ROM Plus fue del 9 % y el índice de falso negativo fue del 0,5 %, sensibilidad 99 %, especificidad 91 %, valores predictivos positivos y negativos del 95 % y 99 %. La sensibilidad de la evaluación clínica convencional fue del 85 %, especificidad 98 %, valores predictivos positivos y negativos del 99 % y 77 %. Los resultados de este estudio para ROM Plus en prematuros fue: sensibilidad del 100 %, especificidad del 94 %. La tabla 1 muestra los resultados de la prueba ROM Plus (por edad gestacional) obtenidos en el estudio clínico. Seis de cada nueve falsos positivos llegaron a término y solo tres de nueve fueron prematuros. Se presentan los datos como sensibilidad y especificidad con intervalos de confianza para todos los grupos de edad gestacional, grupos a término y prematuro, menos de 24 semanas de edad gestacional, entre 24 y 34 semanas, y más de 34 semanas de edad gestacional.

GA (semanas)	N	Sensibilidad (intervalo de confianza del 95 %)	Especificidad (intervalo de confianza del 95 %)
TODOS	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

CONTROL DE CALIDAD

Cada prueba ROM Plus ES contiene un control de calidad interno, que verifica la integridad del procedimiento de la prueba (operador), verifica el montaje correcto de la tira (integridad del dispositivo) y que la prueba ha sido almacenada de forma adecuada (no ha sido expuesta a temperaturas extremas) (entorno).

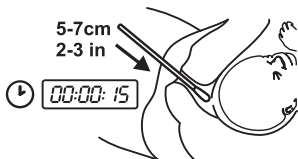
El control positivo, indicado por la aparición de la línea de control (C), asegura que el reactivo funciona de forma adecuada (integridad del dispositivo), que se ha utilizado una

muestra del volumen adecuado en el casete (operador) y que se produjo la migración capilar (flujo lateral) (integridad del dispositivo). El control negativo se representa con una falta de color en todo el largo de la tira, asegurando que no se ha producido un vínculo inadecuado (integridad del dispositivo). Si aparece la línea de control y hay color a lo largo de toda la tira, la prueba está funcionando de forma adecuada y no es necesario repetirla.

Dado que contiene dos niveles (positivo y negativo) de control de calidad interno y que es una prueba moderadamente compleja, la empresa recomienda que se complete un control de calidad externo para cada nuevo número de lote o envío del material de la prueba, y cuando se sospeche que la muestra se ha visto comprometida o ha sido mal almacenada, y tal como lo requieren las agencias reguladoras o acreditativas.

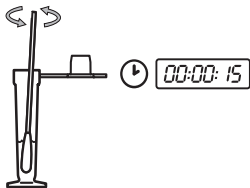
El kit de control de calidad de la prueba de rotura de membrana fetal ROM Plus para los controles externos están disponibles previa petición a Clinical Innovations, LLC y están previstos para supervisar el rendimiento de la tira de prueba de rotura de membrana fetal ROM Plus de Clinical Innovation. Los kits de prueba de control contienen proteínas humanas de líquido amniótico IGFBP-1 y AFP en concentraciones de 20 ng/ml y 600 ng/ml. Los controles negativos externos que no contienen estas proteínas también están disponibles en el kit de control de calidad. Siga siempre las directrices locales, estatales y federales para la documentación del control de calidad.

Procedimiento de la prueba



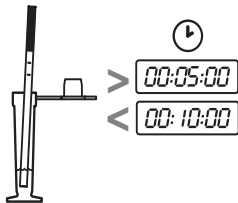
1- Recoja la muestra

Extraiga el contenido del ensayo ROM Plus ES de su envase. Mientras sostiene el vial de tampón en posición vertical, retire el tapón de transporte y deje el vial a un lado. Extraiga la torunda estéril de su envase para recoger una muestra de la superficie de la vagina. La punta de la torunda no debe entrar en contacto con nada antes de su inserción. Inserte la punta de la torunda en la vagina hasta 5-7 cm (2-3 pulgadas) de profundidad. Retire la torunda después de un mínimo de 15 segundos.



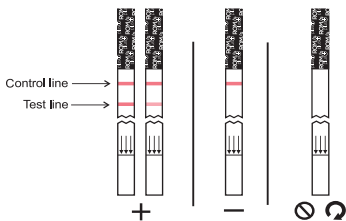
2- Mezcle la muestra y realice la prueba

Coloque la punta de la torunda en el vial. Mezcle la torunda en el tampón por al menos 15 segundos, y luego retire y deseche la torunda.



3- Añadir las tiras reactivas al vial y establecer un temporizador

Abra la bolsa de aluminio y saque la tira de prueba ROM Plus. Coloque el extremo blanco de la tira de prueba (marcado con las flechas) dentro del vial con tampón.



4- Lea el resultado de la prueba.

Retire la tira de prueba si hay dos líneas claramente visibles o después de 10 minutos. La oscuridad de las líneas puede variar. La prueba es válida aunque las líneas sean débiles. No interprete los resultados de la prueba en función de la oscuridad de las líneas. Si solo es visible una línea de control (línea superior), el resultado de la prueba es negativo. Si tanto la línea de control como la línea de análisis (línea inferior) son visibles, el

resultado de la prueba es positivo. Si no se observan líneas, o simplemente es visible la línea de análisis, el resultado de la prueba no es válido y debe repetirse. Una línea visible clara localizada en la región de la prueba debería considerarse como positiva; además, concentraciones muy altas de proteínas pueden dar como resultado una línea de prueba clara. Se recomienda leer la tira 10 minutos después de colocado el vial.

VALORES ESPERADOS

La concentración de IGFBP-1 en el líquido amniótico según los estudios publicados es de entre 10.500 y 350.000 ng/ml y la de AFP va desde 2.800 a 26.000 ng/ml, y en suero va desde 55 a 242 U/ml (el equivalente a 33 a 290 ng/ml). Se ha observado que las concentraciones de IGFBP-1 en el líquido amniótico fueron entre 100 y 1000 veces mayores que en el suero materno. Estos estudios también muestran que las concentraciones de estas proteínas en orina son insignificantes.⁷⁻⁹

VERWENDUNGSZWECK

Der ROM Plus ES Blasensprungtest von Clinical Innovations ist ein schneller, qualitativer, immunchromatographischer Test für den in vitro-Nachweis von Amnionflüssigkeit im Vaginalsekret von schwangeren Frauen mit Anzeichen und Symptomen für einen Blasensprung. Durch den Test werden AFP (Alpha-Fetoprotein) und IGFBP-1 (insulinähnliches wachstumsfaktorbindendes Protein 1, auch bekannt als PP12 (plazentares Protein 12)), nachgewiesen. Der Test ist verschreibungspflichtig und durch medizinisches Fachpersonal zu verwenden, um einen Blasensprung bei schwangeren Frauen im Zusammenhang mit weiteren Anzeichen und Symptomen nachzuweisen.

REAGENZIIEN UND BESTANDTEILE

Jedes ROM Plus ES-Set beinhaltet:

- Einen ROM Plus ES-Teststreifen
- Einen sterilen Vaginaltupfer aus Polyester
- Ein Gefäß mit Pufferlösung (phosphatgepufferte Salzlösung)
- Gebrauchsanweisung (auf jedem Beutel)
- Der Teststreifen enthält die folgenden Antikörper: Schaf Anti-Human IGFBP-1, Ziege Anti-Human AFP, Konjugat aus Maus-Antikörpern und kolloidalem Gold Anti-Human IGFBP-1 & AFP.

TESTÜBERSICHT

ROM Plus ES ist ein eigenständiger Prüfsatz, der qualitative Ergebnisse für einen Blasensprung liefert und in Point-of-Care-Einrichtungen verwendet wird. Für die ROM Plus ES-Ergebnisse ist kein Spekulum erforderlich. Der Test ist nicht invasiv und es wird nur ein einfacher Vaginaltupfer benötigt. Die Probe wird entnommen, indem der Tupfer 15 Sekunden lang in die Vagina geführt wird. Der Tupfer wird dann 15 Sekunden lang in ein Gefäß mit 600 µL Pufferlösung gemischt und der ROM Plus ES-Teststreifen wird in die Pufferlösung gelegt. Die Flüssigkeit bewegt sich chromatographisch und unidirektional auf das Saugkissen zu.

TESTPRINZIP

Während der Migration reagiert die Probe mit den mono-/polyklonalen Antikörpern, die an die Teststreifenmembran gebunden sind. Diese Antikörper sind auf eine Proteinkombination, IGFBP-1 und AFP, immunreaktiv, die als Marker für Amnionflüssigkeit dienen. Da die Membran die Flüssigkeitsprobe absorbiert, erscheint eine Kontrolllinie, durch die angezeigt wird, dass das Gerät ordnungsgemäß funktioniert. Falls die Probe IGFBP-1- und/oder AFP-Proteine enthält, bindet sie an den Antikörper der Testlinie, woraufhin die Testlinie sichtbar wird, was ein positives Ergebnis anzeigt. Falls die Probe

kein IGFBP-1 und/oder AFP enthält, ist nur die Kontrolllinie sichtbar, was ein negatives Ergebnis bedeutet.

LAGERUNG UND STABILITÄT

- Lagern Sie das Set trocken bei 4° bis 37°C (40° bis 99°F). Nicht einfrieren.
- Bei Lagerung im Folienbeutel bei der empfohlenen Temperatur ist der Test bis zum „Verfalls“-Datum auf dem Beutel stabil.
- Verwenden Sie ROM Plus ES innerhalb von sechs (6) Stunden nach Öffnen des Folienbeutels.
- Verwenden Sie ROM Plus ES innerhalb von sechs (6) Stunden nach Entnahme der Vaginaltupferprobe und dem Einsetzen in das Pufferfläschchen.

VORSICHTSMASSNAHMEN, BESCHRÄNKUNGEN UND WARNHINWEISE

- Blasensprung-Diagnosen sollen nicht auf einem einzigen Test beruhen.
- ROM Plus ES eignet sich nur für die In-vitro-Diagnose.
- ROM Plus ES darf nur von medizinischem Fachpersonal verwendet werden.
- Lassen Sie den Beutel mit ROM Plus ES vor der Verwendung des Tests auf Raumtemperatur erwärmen.
- Für genaue Ergebnisse müssen alle Anweisungen sorgfältig befolgt werden.
- Jeder ROM Plus ES Prüfsatz ist für den Einmalgebrauch vorgesehen und darf nicht wiederverwendet werden.
- ROM Plus ES Ergebnisse sind qualitativ. Es dürfen keine quantitativen Interpretationen erfolgen.
- Der ROM Plus ES-Prüfsatz funktioniert auch mit Spuren Mengen an Blut in der Probe korrekt. Erhebliche Blutmengen können zu einer Fehlfunktion des Tests führen und werden nicht empfohlen.
- Bei der Entnahme, dem Umgang und der Entsorgung der Testproben sollten die Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden.
- Benutzte Prüfsätze sind biogefährlich.
- In der Literatur wurden bei verschiedenen Entwicklungsstörungen, wie zum Beispiel Neuralrohrdefekten, Hypothyreose, Autoimmunkrankheiten, angeborenen Herzfehlern, Mukoviszidose etc. über erhöhte Spiegel an fetalem Serum, Urin, Nabelschnurblut und Amnionflüssigkeit sowie dem maternalen Serum AFP berichtet. ROM Plus ES wurde nicht auf mögliche Interferenzen unter diesen Umständen untersucht.

Die Ergebnisse sollten in Verbindung mit anderen verfügbaren klinischen Informationen verwendet werden.

METHODE ODER DURCHFÜHRUNG

Der ROM Plus ES-Test wurde für die Parameter der Linearität, Nachweisgrenze, Genauigkeit/Reproduzierbarkeit, Sensitivität, Spezifität und Wechselwirkungen validiert:

Es wurden für ROM Plus hohe Konzentrationen („High Dose Hook“-Effekt) im oberen Erfassungsbereich der IGFBP-1 und AFP getestet. IGFBP-1 Konzentrationen wurden bis zu 400.000 ng/ml und AFP-Konzentrationen bis zu 200.000 ng/ml mit positiven sichtbaren Ergebnissen getestet. (Auch wenn bei sehr hohen AFP- und IGFBP-1-Konzentrationen die Linien schwächer sein können, wird jede Linie als ein positives Ergebnis betrachtet.)

Die niedrigste Nachweisgrenze (LOD) ist 5 ng/ml für IGFBP-1 und 150 ng/ml für AFP. (Diese LOD-Konzentrationen gelten für diejenigen in den Vaginalsekretproben, bevor sie mit Puffer verdünnt wurden.)

Die Reproduzierbarkeit wurde an verschiedenen Tagen bei sechs Konzentrationen der Amnionflüssigkeit, die in eine negative Kontrolle hinzugegeben wurde, geprüft. Der Test wurde mit drei ROM Plus-Chargen durchgeführt, um die sichtbaren positiven oder negativen Ergebnisse zu bestimmen. An vier verschiedenen Tagen wurden mit drei ROM Plus-Chargen zwei schwach positive, zwei mäßig positive und zwei stark positive Tests durchgeführt. Es wurde kein Unterschied in der Aktivität beobachtet.

Zur Bestimmung von Interferenzen und Wechselwirkungen des Tests wurden zur schwach positiven Kontrolle mit einer finalen Konzentration von 0,1% Tylenol, Aspirin und fünf verschiedene Pflegeprodukte (KY Gel, Surgilube, Lever Seife, Noxema Creme, Pert Shampoo) hinzugegeben, was zu keinem sichtbaren Verlust der Aktivität führte. Die gleichen Pflegeprodukte wurden der negativen Kontrolle hinzugegeben, wobei das Ergebnis als negativ angezeigt wurde. Zusätzlich wurden der schwach positiven Probe bei einer finalen Konzentration von 10% menschliche Samenzellen, Urin und Blut hinzugegeben, was zu keinem Verlust der Aktivität führte. Es wurden der negativen Kontrolle ebenfalls menschliche Samenzellen, Urin und Blut hinzugegeben, wobei das Ergebnis als negativ angezeigt wurde. Der IGFBP-1-Test geht, basierend auf den Western-Blot-Ergebnissen, mit IGFBP-2, IGFBP-3 und IGFBP-4 keine Kreuzreaktion ein. Der ROM Plus Test zeigt bei positiv auf bakterielle Vaginosen und Geschlechtskrankheiten getesteten Proben ein negatives Ergebnis. Der pH-Wert aller Proben betrug $>4,5$.

In einer multizentrischen, prospektiven Beobachtungsstudie übertraf ROM Plus die klinische Standardbewertung. An der Studie nahmen gesunde schwangere Frauen über 18 Jahren zwischen der 15. und 42. Schwangerschaftswoche teil, die über Anzeichen und Symptome eines Blasensprungs berichteten. Patientinnen mit bekannter Placenta praevia und/oder bestehenden vaginalen Blutungen waren von der Studie ausgeschlossen. Die erste Evaluierung umfasste sowohl die klinische Standardbewertung für Blasensprung (SSE: Spekulumuntersuchung auf Flüssigkeits-Pooling, Ferning und Nitrazin) als auch ROM Plus. Ein Blasensprung wurde diagnostiziert, wenn Flüssigkeit sichtbar aus dem Muttermund austrat, oder vermutet, falls zwei der drei folgenden Faktoren vorlagen: Pooling von

Flüssigkeit, positiver Nitrazin-Test oder Ferning. Die Diagnose eines Blasensturzes wurde nach Beobachtung des klinischen Verlaufs der Patientin nach der Entbindung bestätigt.

Kliniker, die die SSE durchführten, waren verblindet von den ROM Plus Ergebnissen und umgekehrt. Die Literatur zeigt, dass der klinische Standard für Pooling/Ferning/Nitrazin Sensitivitäten zwischen 16 und 51% sowie Spezifitäten um 70%^{1,2,3} aufweist (bei einzelner Verwendung dieser Tests) und somit kein idealer Referenzstandard ist. Aufgrund dessen stützte sich die endgültige Diagnose des Blasensturzes auf die folgende Durchsicht der Patientenakte und den klinischen Verlauf der Patientin, eine übliche Methodik, die in der Literatur zur Erkennung von Blasenstürzen beschrieben wird.^{4,5}

Tabelle 1: Klinische Studie⁶ - ROM Plus vs. klinische Beurteilung (Pooling/Ferning/Nitrazin)

Bei den 285 Patientinnen (15.-42. Schwangerschaftswoche) betrug die falsch-positive Rate für ROM Plus 9% und die falsch-negative Rate 0,5%, die Sensitivität 99%, die Spezifität 91% und die positiven und negativen vorhersagbaren Werte 95% und 99%. Die Sensitivität der konventionellen klinischen Evaluierung betrug 85%, die Spezifität 98% und die positiven und negativen vorhersagbaren Werte 99% und 77%. Die Ergebnisse dieser Studie für ROM Plus bei Frühgeburten waren 100% für die Sensitivität und 94% für die Spezifität. Tabelle 1 zeigt die ROM Plus Testergebnisse (nach Schwangerschaftsalter), die in der klinischen Studie erhalten wurden. Sechs der neun falsch-positiven Ergebnisse waren zum normalen Termin und nur drei der neun vor dem Termin. Die Daten werden präsentiert als Sensitivität und Spezifität mit Konfidenzintervallen für alle Schwangerschaftsaltersgruppen, die Gruppen mit Geburt zum normalen Termin und vor dem Termin, unter der 24. Schwangerschaftswoche, zwischen 24 und 34 Wochen, und nach der 34. Schwangerschaftswoche.

GA (Wochen)	N	Sensitivität (95% Konfidenzintervall)	Spezifität (95% Konfidenzintervall)
ALLE	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

QUALITÄTSKONTROLLE

Jeder ROM Plus ES Test enthält eine interne Qualitätskontrolle, die die Integrität des Testverfahrens (Bediener), die ordnungsgemäße Anordnung des Teststreifens (Integrität der Vorrichtung) und die ordnungsgemäße Lagerung des Tests (keinen extremen Temperaturen

ausgesetzt) (Umgebung) überprüft.

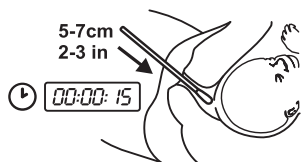
Die positive Kontrolle, die durch das Erscheinen der Kontrolllinie (C) angezeigt wird, stellt sicher, dass das Reagenz ordnungsgemäß funktioniert (Integrität der Vorrichtung), dass eine angemessene Probenmenge in die Kassette gegeben wurde (Bediener) und dass eine angemessene kapillare Migration (lateral Fluss) erfolgte (Integrität der Vorrichtung). Die negative Kontrolle wird durch die Abwesenheit von Farbe entlang des gesamten Streifens angezeigt, was sicherstellt, dass keine unpassende Bindung erfolgt ist (Integrität der Vorrichtung). Falls die Kontrolllinie erscheint und der Streifen in seiner ganzen Länge farbig ist, funktioniert der Test ordnungsgemäß und muss nicht wiederholt werden.

Da dieser Test zwei Konzentrationen (positiv und negativ) einer internen Qualitätskontrolle enthält und ein qualitativer, mäßig komplexer Test ist, empfiehlt das Unternehmen die Durchführung einer externen QC für jede neue Chargennummer oder bei jedem Versand von Testmaterial und wenn ein Verdacht auf beeinträchtigte Proben oder unsachgemäße Lagerung vorliegt sowie gemäß Anforderungen durch die Aufsichtsbehörden oder Akkreditierungsinstitute.

Das ROM Plus Blasensprungtest-Qualitätskontrollset für externe Kontrollen ist bei Clinical Innovations, LLC erhältlich und ist für die Überprüfung der Leistung der ROM Plus Blasensprung-Teststreifen von Clinical Innovations bestimmt. Die Kontrollprüfsätze beinhalten die menschlichen IGFBP-1 und menschlichen AFP Amnionflüssigkeit-Proteine mit Konzentrationen von je 20 ng/ml und 600 ng/ml. Die externen negativen Kontrollen, die diese Proteine nicht beinhalten, sind im Qualitätskontrollset ebenfalls enthalten. Beachten Sie immer die zutreffenden bundesweiten, staatlichen und örtlichen Richtlinien, die die Dokumentation von Qualitätskontrollen regeln.

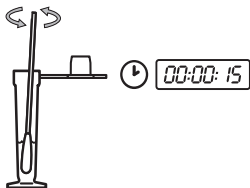
Testdurchführung

1- Die Probe entnehmen



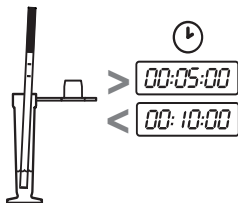
Nehmen Sie die Bestandteile des ROM Plus ES aus der Verpackung. Halten Sie das Gefäß für die Pufferlösung in einer aufrechten Position, nehmen Sie den Deckel ab und stellen Sie das Gefäß beiseite. Entnehmen Sie den sterilen Tupfer aus der Verpackung und entnehmen Sie der Vaginaloberfläche eine Probe. Die Spitze des

Tupfers sollte vor der Einführung keine anderen Gegenstände berühren. Führen Sie die Tupferspitze 5-7 cm (2-3 Zoll) in die Vagina ein. Ziehen Sie den Tupfer nach mindestens 15 Sekunden wieder heraus.



2- Die Probe mischen und den Test durchführen

Platzieren Sie die Tupferspitze im Gefäß. Mischen Sie den Tupfer mindestens 15 Sekunden lang in der Pufferlösung und entnehmen und entsorgen Sie den Tupfer dann.

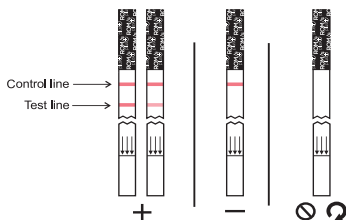


3- In Teststreifen Fläschchen und aktivieren des Schaltuhr

Öffnen Sie den Folienbeutel und nehmen Sie den ROM Plus Teststreifen heraus. Legen Sie das weiße Ende des Teststreifens (mit Pfeilen markiert) in das Gefäß mit der Pufferlösung.

4- Das Testergebnis ablesen

Nehmen Sie den Teststreifen heraus, wenn zwei Linien deutlich sichtbar sind, oder nach 10 Minuten. Die Intensität der Streifen kann variieren. Der Test ist auch dann gültig, wenn die Linien schwach ausgeprägt sind. Interpretieren Sie die Testergebnisse nicht aufgrund der Intensität der Linien. Ist nur die Kontrolllinie (obere Linie) zu sehen, ist das Testergebnis negativ. Sind sowohl die Kontrolllinie als auch die Testlinie (untere



Linie) zu sehen, ist das Testergebnis positiv. Wenn keine Linien sichtbar sind, ist das Testergebnis ungültig und der Test sollte wiederholt werden. Eine schwach sichtbare Linie im Testlinienbereich sollte als positiv betrachtet werden; auch können sehr hohe Proteinkonzentrationen zu einer schwachen Testlinie führen. Es wird empfohlen, den Streifen nach 10 Minuten abzulesen, nachdem er in das Gefäß gelegt wurde.

ERWARTETE BEREICHE

Die IGFBP-1-Konzentration in der Amnionflüssigkeit, wie in Literaturstudien bestimmt wurde, liegt zwischen 10.500 und 350.000 ng/ml, in AFP zwischen 2.800 und 26.000 ng/ml und im Serum zwischen 55 und 242 U/ml (entspricht 33 bis 290 ng/ml). Die Konzentrationen von IGFBP-1 in Amnionflüssigkeit stellten sich als 100 bis 1000 Mal höher als in maternalem Serum heraus. Diese Studien zeigten auch, dass Konzentrationen dieser Proteine in Urin zu vernachlässigen sind.⁷⁻⁹

Gebruiksaanwijzing ROM Plus ES

BEOOGD GEBRUIK

De ROM Plus ES-test voor gebroken vliezen van Clinical Innovations is een snelle, kwalitatieve immunochromatografische test voor in-vitro detectie van vruchtwater in vaginale afscheiding van zwangere vrouwen met verschijnselen en symptomen van ROM. De test detecteert AFP (alfa-foetoproteïne) en IGFBP-1 (insuline-achtige groeifactor-bindende proteïne-1 ook aangeduid als PP12 (placentaproteïne 12)) afkomstig van vruchtwater in vaginale afscheiding. De test is bestemd voor gebruik op voorschrift van professionele zorgverleners als hulpmiddel voor detectie van gebroken vliezen (ROM) bij zwangere vrouwen in combinatie met andere verschijnselen en symptomen.

REAGENTIA EN BESTANDDELEN

Elke ROM Plus ES-kit bevat:

- Eén ROM Plus ES-teststrip
- Eén steriel polyester vaginaal wattenstaafje
- Eén flacon met bufferoplossing (fosfaatgebufferde zoutoplossing)
- Gebruiksaanwijzing (op elke zak)
- De teststrip bevat de volgende antilichamen: schaap anti-humaan IGFBP-1, geit anti-humaan AFP, muis geconjugeerd met colloïdaal goud anti-humaan IGFBP-1 & AFP.

SAMENVATTING VAN DE TEST

ROM Plus ES is een onafhankelijk inzetbare testkit die kwalitatieve resultaten levert voor gebroken vliezen en is verkrijgbaar bij zorglocaties. Er is geen speculum nodig om met de ROM Plus ES resultaten te verkrijgen. De test is niet-invasief, er hoeft alleen een eenvoudig monster te worden genomen met een vaginaal wattenstaafje. Het monster wordt genomen door het wattenstaafje gedurende 15 seconden in de vagina te houden. Dan wordt het wattenstaafje gemixt in een flacon met 600 µL bufferoplossing gedurende 15 seconden en dan wordt de ROM Plus ES-teststrip in de buffervloeistof geplaatst. De vloeistof beweegt chromatografisch en unidirectioneel naar de absorberende spons.

TESTPRINCIPE

Tijdens de migratie reageert het monster op mono-/polyclonale antilichamen die aan het membraan van de teststrip zijn gebonden. Deze antilichamen zijn immunoreactief voor een combinatie van proteïnes, IGFBP-1 en AFP, die duiden op vruchtwater. Zodra de membraan het vloeistofmonster absorbeert verschijnt er een controlelijn om aan te geven dat het instrument goed werkt. Als het monster IGFBP-1- en/of AFP-proteïne bevat, wordt dit gebonden aan het antilichaam in de testlijn, wordt de testlijn zichtbaar en geeft een positief resultaat aan. Als het monster geen

IGFBP-1- en/of AFP-proteïne bevat, wordt alleen de controlelijn zichtbaar; dit geeft een

negatief resultaat aan.

OPSLAG EN STABILITEIT

- Bewaar de kit op een droge plaats bij 4 tot 37 °C (40 tot 99 °F). Niet invriezen.
- Bij opslag in de foliezak bij de aanbevolen temperatuur is de test stabiel tot de op de zak vermelde vervaldatum ("Expiration").
- Gebruik ROM Plus ES binnen zes (6) uur na het openen van de foliezak.
- Gebruik ROM Plus ES binnen zes (6) uur nadat het vaginale monster is genomen en in de flacon met bufferoplossing is geplaatst.

VOORZORGSMAATREGELEN, BEPERKINGEN EN WAARSCHUWINGEN

- ROM-diagnosen mogen niet worden gebaseerd op een enkele test.
- ROM Plus ES is uitsluitend bestemd voor in-vitrodiagnostisch gebruik.
- ROM Plus ES is uitsluitend bestemd voor gebruik door professionele zorgverleners.
- Laat ROM Plus ES op kamertemperatuur komen voordat de test wordt gebruikt.
- Volg alle instructies zorgvuldig op voor nauwkeurige resultaten.
- Elke ROM Plus ES-testkit is voor eenmalig gebruik, moet daarna worden afgevoerd en mag niet worden hergebruikt.
- ROM Plus ES-resultaten zijn kwalitatief. Kwantitatieve interpretatie is niet toegestaan.
- ROM Plus ES-testkits functioneren goed als het monster sporen van bloed bevat. Significante hoeveelheden afgescheiden bloed kunnen ertoe leiden dat de test niet goed werkt en dan wordt gebruik van de test afgeraden.
- De voorzorgsmaatregelen op het gebied van veiligheid moeten in acht worden genomen bij het nemen, hanteren en afvoeren van testmonsters.
- Gebruikte testkits zijn biologisch gevaarlijk afval.
- Verhoogde AFP-niveaus van zowel foetaal serum, urine, navelstrengbloed en vruchtwater als maternaal serum zijn in de literatuur gemeld bij verschillende ontwikkelingsstoornissen, zoals neuraalbuisdefecten, hypothyroidisme, auto-immuunaandoeningen, aangeboren hartafwijkingen, cystische fibrose enzovoort. ROM Plus ES is niet onderzocht op mogelijke interferentie bij deze aandoeningen.

De resultaten moeten worden gebruikt in combinatie met andere beschikbare klinische informatie.

METHODE OF PRESTATIE

De ROM Plus ES-test is gevalideerd voor de parameters van lineariteit, detectiegrens, nauwkeurigheid/

reproduceerbaarheid, gevoeligheid, specificiteit en kruisreactiviteit:

Hoge concentratie ("High Dose Hook"-effect) – voor het hoge detectiebereik van de ROM Plus zijn IGFBP-1 en AFP getest. Er zijn concentraties IGFBP-1 tot 400.000 ng/ml en AFP tot 200.000 ng/ml getest met een positief visueel resultaat. (Hoewel lijnen in aanwezigheid van zeer hoge concentraties AFP en IGFBP-1 lichter van kleur zijn, wordt iedere lijn beschouwd als positief resultaat.)

De onderste detectiegrens LOD (limit of detection) is 5 ng/ml voor IGFBP-1 en 150 ng/ml voor AFP. (Deze LOD-concentraties verwijzen naar concentraties in monsters van vaginale afscheiding voor verdunning met bufferoplossing.)

De reproduceerbaarheid is getest op verschillende dagen bij zes gehalten aan vruchtwater bij een negatieve controle. De test werd uitgevoerd met drie partijen ROM Plus om de visuele positieve of negatieve resultaten te kunnen beoordelen. Op vier verschillende dagen werden twee laag positieve, twee gemiddeld positieve en twee hoog positieve tests uitgevoerd met drie partijen ROM Plus. Er is geen verschil in activiteit waargenomen.

Voor het bepalen van interferentie en kruisreactiviteit van de test werden Tylenol, aspirine en vijf verschillende badproducten (KY-gel, Surgilube, Lever-zeep, Noxema-crème en Pert-shampoo) toegevoegd aan de laag positieve controle bij een eindconcentratie van 0,1% zonder visueel verlies van activiteit. Dezelfde badproducten werden toegevoegd aan de negatieve controle en gaven een negatief resultaat. Daarnaast werden er humaan sperma, urine en bloed toegevoegd aan de laag positieve controle bij een eindconcentratie van 10% zonder verlies aan activiteit. Humaan sperma, urine en bloed werden ook toegevoegd aan de negatieve controle en gaven een negatief resultaat. De IGFBP-1-test vertoont geen kruisreactiviteit met IGFBP-2, IGFBP-3 en IGFBP-4 op basis van resultaten met western blot. ROM Plus bleek negatief bij testen met specimen die positief waren voor bacteriële vaginose en seksueel overdraagbare aandoeningen. Alle monsters hadden een pH > 4,5.

In een multicenter, observatieel onderzoek is aangetoond dat ROM Plus beter presteert dan de standaard klinische beoordeling. Dit onderzoek werd uitgevoerd bij gezonde zwangere vrouwen van 18 jaar en ouder, met verschijnselen of symptomen van gebroken vliezen tussen week 15 en 42 van de zwangerschap. Patiënten met bekende placenta previa en/of actieve vaginale bloeding waren uitgesloten van deelname aan het onderzoek. De initiële evaluatie betrof zowel de standaard klinische beoordeling van gebroken vliezen (SSE: onderzoek met speculum naar verzamelde vloeistof, varenpatronen en nitrazinetest) als de ROM Plus. De diagnose van gebroken vliezen werd gesteld wanneer werd waargenomen dat er vloeistof uit de baarmoedermond lekt of bij een vermoeden van aanwezigheid van twee van deze drie: verzamelde vloeistof, positieve nitrazinetest en varenpatronen. De diagnose van gebroken vliezen werd bevestigd na beoordeling van het klinisch verloop van de patiënt na de bevalling.

De artsen die de SSE uitvoerden hadden geen inzage in de resultaten met ROM Plus en andersom. De klinische standaard van vloeistofverzameling/varenpatronen/nitrazine heeft volgens de literatuur een waargenomen gevoeligheid van 16-51% en specificiteit

van ongeveer 70%^{1,2,3} (bij individueel gebruik van deze testen) en vormt dus geen ideale standaard voor referentie. Als gevolg daarvan werd de uiteindelijke diagnose van ROM gebaseerd op latere beoordeling van patiëntgegevens en het klinisch verloop — een algemene methodiek die wordt beschreven in de literatuur voor detectie van gebroken vliezen.^{4,5}

Tabel 1: Klinisch onderzoek studie6 - ROM Plus vs. klinische beoordeling (vloestofverzameling/varenpatronen/nitrazine)

Van de 285 patiënten (15-42 weken zwanger) in de ROM Plus-groep was 9% van de resultaten vals-positief en 0,5% vals-negatief, de gevoeligheid van 99%, de specificiteit 91% en de positieve en negatieve voorspellende waarden waren resp. 95% en 99%. Van de conventionele klinische evaluatie was de gevoeligheid 85%, de specificiteit 98%, en de positieve en negatieve voorspellende waarden waren resp. 99% en 77%. De resultaten in dit onderzoek met ROM Plus bij vroeggeboorte waren: gevoeligheid 100% en specificiteit 94%. Tabel 1 geeft de resultaten van de ROM Plus-test (naars zwangerschapsduur) die zijn verkregen in het klinische onderzoek. Zes van de negen vals-positieven waren op tijd en slechts drie van de negen waren te vroeg. De gegevens worden gepresenteerd als gevoeligheid en specificiteit met betrouwbaarheidsintervallen voor alle groepen zwangerschapsduur, op tijd en vroeggeboorte, zwangerschapsduur van minder dan 24 weken resp. tussen 24 en 34 weken en meer dan 34 weken.

Zwangerschapsduur (weken)	N	Gevoeligheid (95% betrouwbaarheidsinterval)	Specificiteit (95% betrouwbaarheidsinterval)
ALL	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

KWALITEITSCONTROLE

Elke ROM Plus ES-test is voorzien van interne kwaliteitscontrole die de integriteit van de testprocedure (operator) controleert, of de teststrip goed is gemonteerd (integriteit instrument) en of de test op de juiste wijze is bewaard (niet blootgesteld aan extremen temperaturen) (integriteit omgeving).

De positieve controle, aangetoond door het verschijnen van de controlelijn (C) garandeert dat het reagens goed werkt (integriteit instrument), het monster in het juiste volume in

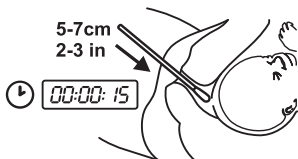
de cassette is ingebracht (operator) en dat de capillariteit volstaat (laterale stroming) (integriteit instrument). De negatieve controle wordt weergegeven door gebrek aan kleur over de gehele lengte van de teststrip, wat aangeeft dat er onvoldoende binding heeft plaatsgevonden (integriteit instrument). Als de controlelijn verschijnt en er is kleur op de teststrip, dan werkt de test goed en hoeft deze niet te worden herhaald.

Omdat deze test twee niveaus van interne kwaliteitscontrole heeft (positief en negatief) en een kwalitatieve, matig complexe test is, raadt het bedrijf aan om een externe kwaliteitscontrole te doorlopen voor elke nieuwe partij of zending testmateriaal, bij een vermoeden van een aangetast specimen of onjuiste opslag, en zoals vereist door bevoegde en accreditatie-instanties.

De kwaliteitscontrolekit voor externe controle van de ROM Plus-test voor gebroken vliezen zijn verkrijgbaar via Clinical Innovations, LLC en bestemd voor het bewaken van de prestatie van de ROM Plus-teststrip voor gebroken vliezen van Clinical Innovations. Elke controletestkit bevat vruchtwaterproteïne van humaan IGFBP-1 en humaan AFP in concentraties van resp. 20 ng/ml en 600 ng/ml. De kwaliteitscontrolekit bevat ook externe negatieve controles zonder deze proteïnes. Volg altijd de nationale, regionale en lokale richtlijnen voor documentatie van kwaliteitscontrole.

Testprocedure

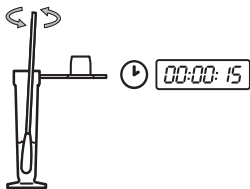
1- Monster nemen



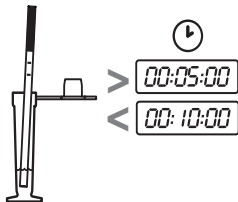
Haal de inhoud van ROM Plus ES uit de verpakking. Houd de bufferflacon rechtop, verwijder de verzendingsdop en leg deze weg. Verwijder het steriele wattenstaafje uit de verpakking om een monster te nemen van de oppervlakte van de vagina. De punt van het wattenstaafje mag niets aanraken voordat het wordt ingebracht. Breng de punt van het wattenstaafje 5-7 cm (2-3 inch) in de

vagina. Wacht minimaal 15 seconden en trek dan het wattenstaafje terug.

2- Monster mixen en test uitvoeren

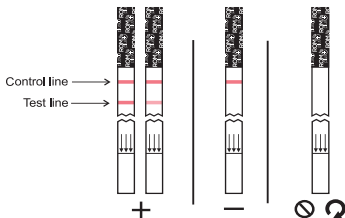


Plaats de punt van het wattenstaafje in de flacon. Mix het wattenstaafje ten minste 15 seconden in de bufferoplossing, haal het er dan uit en voer het af.



3- Voeg teststrip om flesje en de timer te activeren

Trek de foliezak open en haal de ROM Plus-teststrip eruit. Plaats het witte uiteinde van de teststrip (gemarkeerd met pijlen) in de flacon met bufferoplossing.



4- Testresultaat aflezen

Verwijder de teststrip zodra er twee lijnen duidelijk zichtbaar zijn of na 10 minuten. Hoe donker de lijnen zijn, kan variëren. Ook als de lijnen heel licht zijn, is de test toch geldig. Hoe donker de lijnen zijn is niet van belang voor de interpretatie. Als er alleen een controlelijn (bovenste lijn) zichtbaar is, dan is het resultaat negatief. Als zowel de controlelijn als de testlijn (onderste lijn) zichtbaar zijn, dan is het resultaat positief. Als er geen lijn zichtbaar is,

is het resultaat ongeldig en moet de test worden herhaald. Een lichte zichtbare lijn in de buurt van de testlijn moet worden beschouwd als positief, omdat zeer hoge concentraties proteïne kunnen leiden tot een licht testlijn. Het wordt aanbevolen om de teststrip 10 minuten na plaatsing in de flacon af te lezen.

VERWACHT BEREIK

De concentraties in vruchtwater liggen, zoals bepaald in literatuuronderzoek, voor IGFBP-1 tussen 10.500 en 350.000 ng/ml en voor AFP tussen 2.800 en 26.000 ng/ml, en in serum tussen 55 en 242 E/ml (overeenkomend met tussen 33 en 290 ng/ml). De waargenomen IGFBP-1-concentratie in vruchtwater was 100 tot 1000 maal hoger dan in maternaal serum. Deze onderzoeken hebben ook aangetoond dat de concentratie van deze proteïnes in urine verwaarloosbaar is.⁷⁻⁹

Istruzioni per l'uso di ROM Plus ES

USO PREVISTO

Il test di rottura delle membrane fetali ROM Plus ES di Clinical Innovations è un test immunocromatografico qualitativo rapido, per il rilevamento in vitro di liquido amniotico nelle secrezioni vaginali delle donne in gravidanza con segni e sintomi di ROM (rottura delle membrane). Il test rileva l'AFP (alfa-fetoproteina) e la IGFBP-1 (proteina-1 legante il fattore di crescita insulino-simile, anche nota come PP12 (proteina placentare 12)) nel liquido amniotico delle secrezioni vaginali. Il test deve essere prescritto da personale sanitario per aiutare nella rilevazione della rottura delle membrane (ROM) nelle donne in gravidanza, in combinazione con altri segni e sintomi.

REAGENTI E COMPONENTI

Ciascun kit ROM Plus ES contiene:

- Una striscia reattiva ROM Plus ES
- Un tampone vaginale in poliestere sterile
- Un flaconcino con soluzione buffer (tampone fosfato salino)
- Istruzioni per l'uso (su ciascun sacchetto)
- La striscia reattiva contiene i seguenti anticorpi: IGFBP-1 antiumana di pecora, AFP antiumana di capra, IGFBP-1 e AFP antiumane con oro colloidale e coniugato murino.

RIEPILOGO DEL TEST

ROM Plus ES è un kit di test autonomo che fornisce risultati qualitativi per la rilevazione della rottura delle membrane fetali e si esegue nei centri medico-sanitari. Per ottenere i risultati con ROM Plus ES, non è necessario uno speculum. Il test è non invasivo e richiede solo un semplice prelievo mediante tampone vaginale. Il campione viene prelevato inserendo il tampone nella vagina per 15 secondi. Il tampone viene quindi miscelato in un flaconcino contenente 600 µL di soluzione buffer per 15 secondi e la striscia reattiva ROM Plus ES viene inserita nella soluzione buffer. Il liquido si sposta cromatograficamente e in un'unica direzione verso il tampone assorbente.

PRINCIPIO DEL TEST

Durante la migrazione, il campione reagisce con gli anticorpi mono/policlonali legati alla membrana della striscia reattiva. Questi anticorpi sono immunoreattivi a una combinazione di proteine, IGFBP-1 e AFP, che sono marcatori di liquido amniotico. Mano a mano che la membrana assorbe il campione liquido, apparirà una linea di controllo, che indica il corretto funzionamento del presidio. Se il campione contiene le proteine IGFBP-1 e/o AFP, esso si legherà all'anticorpo della linea reattiva, determinando la comparsa della linea reattiva e indicando un risultato positivo. Se il campione non contiene le proteine IGFBP-1 e/o AFP, sarà visibile solo la linea di controllo, indicando un risultato negativo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit in un luogo asciutto a una temperatura compresa tra 4° e 37°C (tra 40° e 99°F). Non congelare.
- Se conservato nel sacchetto in alluminio alla temperatura consigliata, il test è stabile fino alla data di "scadenza" riportata sul sacchetto.
- Usare ROM Plus ES entro sei (6) ore dall'apertura del sacchetto in alluminio.
- Usare ROM Plus ES entro sei (6) ore dal prelievo del campione vaginale mediante tampone e dall'inserimento nel flaconcino di soluzione buffer.

PRECAUZIONI, LIMITI E AVVERTENZE

- Le diagnosi di ROM non devono basarsi su un singolo test.
- ROM Plus ES è solo per uso diagnostico in vitro.
- ROM Plus ES è solo per uso professionale in ambito medico-sanitario.
- Prima di utilizzare il test, attendere che il sacchetto contenente il ROM Plus ES raggiunga la temperatura ambiente.
- Per ottenere risultati accurati, occorre seguire scrupolosamente tutte le istruzioni.
- Tutti i kit di test ROM Plus ES sono monouso; dopo l'utilizzo, devono essere gettati e non devono essere riutilizzati.
- I risultati ROM Plus ES sono qualitativi. Astenersi dall'effettuare interpretazioni quantitative.
- I kit di test ROM Plus ES funzionano correttamente in presenza di tracce di sangue nel campione. Quantità significative di perdite ematiche possono compromettere l'efficacia del test, pertanto se ne sconsiglia l'esecuzione in tali condizioni.
- Osservare adeguate precauzioni di sicurezza durante il prelievo, il trattamento e lo smaltimento dei campioni di test.
- I kit di test usati sono a rischio biologico.
- Livelli elevati di AFP nel siero fetale, nell'urina, nel sangue del cordone ombelicale, nel liquido amniotico e nel siero materno sono stati segnalati nella letteratura in vari disturbi dello sviluppo, quali: difetti del tubo neurale, ipotiroidismo, stati autoimmuni, cardiopatie congenite, fibrosi cistica, ecc. ROM Plus ES non è stato valutato per verificare le potenziali interferenze in queste condizioni.

I risultati devono essere considerati in combinazione con le altre informazioni cliniche disponibili.

METODO O ESECUZIONE

Il saggio di ROM Plus ES è stato convalidato per i parametri di linearità, limite di rilevazione, accuratezza/riproducibilità, sensibilità, specificità e cross-reattività:

Concentrazione elevata (effetto gancio a dose elevata (effetto "High Dose Hook") – per l'intervallo di rilevazione superiore di ROM Plus, sono state analizzate IGFBP-1 e AFP. Le concentrazioni di IGFBP-1 sono state analizzate fino a 400.000 ng/ml e quelle di AFP fino a 200.000 ng/ml con risultati visivi positivi. (Sebbene le linee possano essere più leggere in presenza di concentrazioni molto elevate di AFP e IGFBP-1, qualsiasi linea è considerata positiva.)

Il limite minimo di rilevazione (LOD) è di 5 ng/ml per l'IGFBP-1 e di 150 ng/ml per l'AFP. (Queste concentrazioni del LOD si riferiscono a quelle nei campioni di secrezioni vaginali prima della diluizione con il buffer.)

La riproducibilità è stata testata in giorni diversi a sei livelli di liquido amniotico aggiunto in un controllo negativo. Il test è stato eseguito su tre lotti di ROM Plus per determinare i risultati visivi positivi o negativi. Due positivi bassi, due positivi moderati e due positivi alti sono stati eseguiti su tre lotti di ROM Plus in quattro giorni diversi. Non è stata osservata alcuna differenza di attività.

Per determinare l'interferenza e la cross-reattività del saggio, Tylenol, aspirina e cinque prodotti da bagno diversi (gel KY, Surgilube, sapone Lever, crema Noxema, shampoo Pert) sono stati aggiunti nel controllo positivo basso a una concentrazione finale di 0,1%, senza perdita visiva di attività. Gli stessi prodotti da bagno sono stati aggiunti nel controllo a matrice negativa e sono risultati negativi. Inoltre, seme umano, urina e sangue sono stati aggiunti nel positivo basso a una concentrazione finale del 10% senza perdita di attività. Seme umano, urina e sangue sono stati aggiunti anche nella matrice a controllo negativo e sono risultati negativi. Il saggio delle IGFBP-1 non evidenzia cross-reattività con le IGFBP-2, IGFBP-3, e IGFBP-4 in base ai risultati ottenuti con Western Blot. ROM Plus è risultato negativo quando testato con campioni che erano positivi per la vaginosi batterica e le malattie sessualmente trasmissibili. Tutti i campioni presentavano pH>4.5.

In uno studio multicentrico, prospettico e osservazionale, è stato dimostrato che ROM Plus supera la valutazione clinica standard. Hanno partecipato allo studio donne in gravidanza sane, di 18 anni di età o superiore, tra le 15 e le 42 settimane di gestazione, che riportavano segni o sintomi di rottura delle membrane. Sono state escluse dallo studio le pazienti con placenta previa nota e/o sanguinamento vaginale attivo. La valutazione iniziale includeva sia la valutazione clinica standard per la rottura delle membrane (SSE: esame con speculum per la verifica della raccolta di fluidi, ferning e test alla nitrazina) sia il ROM Plus. È stata diagnosticata la rottura delle membrane se si è osservata una perdita di liquido dall'apertura della cervice o la stessa è stata sospettata in presenza di due delle tre condizioni seguenti: raccolta di liquido, test alla nitrazina positivo o ferning. La diagnosi di rottura delle membrane è stata confermata dopo l'esame del decorso clinico della paziente successivo al parto.

I medici che hanno eseguito l'esame SSE non erano a conoscenza dei risultati relativi a ROM Plus e viceversa. È stato dimostrato nella letteratura che lo standard clinico di raccolta liquidi/ferning/nitrazina ha sensibilità comprese tra il 16 e il 51% e specificità

pari circa al 70%^{1,2,3} (quando questi test sono utilizzati singolarmente) e non rappresenta, quindi, uno standard di riferimento ideale. Pertanto, la diagnosi finale di ROM è stata basata sul successivo esame della cartella medica e sul decorso clinico della paziente: una metodologia comune descritta nella letteratura per la rilevazione della rottura delle membrane.^{4,5}

Tabella 1: Studio clinico⁶ - ROM Plus vs. Valutazione clinica (raccolta di liquido/ferning/nitrazina)

Delle 285 pazienti (15-42 settimane di gestazione), la percentuale di falsi positivi per ROM Plus è stata del 9% e la percentuale di falsi negativi è stata dello 0,5%, la sensibilità del 99%, la specificità del 91%, i valori predittivi positivi e negativi del 95% e del 99%, rispettivamente. La sensibilità della valutazione clinica convenzionale è stata l'85%, la specificità il 98%, i valori predittivi positivi e negativi del 99% e 77%. I risultati in questo studio per ROM Plus nel pretermine sono stati: sensibilità del 100% e specificità del 94%. La Tabella 1 mostra i risultati del test ROM Plus (per età gestazionale, GA) ottenuti nello studio clinico. Sei dei nove falsi positivi erano al termine e solo tre di nove erano al pretermine. I dati sono presentati come sensibilità e specificità con intervalli di confidenza per il gruppo di tutte le età gestazionali, il gruppo di termine e pretermine, età gestazionale inferiore a 24 settimane, tra 24 e 34 settimane ed età gestazionale superiore a 34 settimane.

GA (settimane)	N	Sensibilità (intervallo di confidenza del 95%)	Specificità (intervallo di confidenza del 95%)
TUTTE	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

CONTROLLO DI QUALITÀ

Tutti i test ROM Plus ES contengono il controllo di qualità interno, il quale verifica l'integrità della procedura del test (operatore), l'assemblaggio corretto della striscia reattiva (integrità dispositivo) e che il test sia stato conservato correttamente (non esposto a temperature estreme) (ambiente).

Il controllo positivo, dimostrato dall'aspetto della linea di controllo (C), assicura che il reagente stia funzionando in maniera corretta (integrità dispositivo), che un volume

adeguato del campione sia stato applicato alla cassetta (operatore) e che si sia verificata una migrazione capillare (flusso laterale) adeguata (integrità dispositivo). Il controllo negativo è rappresentato dalla mancanza di colore lungo l'intera lunghezza della striscia, assicurando che non si sia verificato alcun legame inappropriato (integrità dispositivo). Se appare la linea di controllo ed è presente del colore lungo la striscia, il test sta funzionando in maniera corretta e non ha bisogno di essere ripetuto.

Poiché il test contiene due livelli (positivo e negativo) di controllo di qualità interna ed è un test qualitativo moderatamente complesso, l'azienda consiglia di completare dei controlli di qualità (QC) esterni per ogni nuovo numero di lotto o spedizione di materiale del test e quando si sospetta che un campione sia stato compromesso oppure non sia stato conservato in maniera corretta, così come richiesto dalle agenzie regolatorie e di accreditamento.

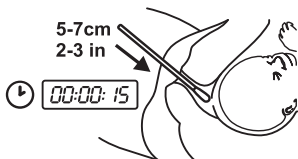
Il kit di controllo di qualità del test di rottura delle membrane fetali ROM Plus per controlli esterni è prodotto da Clinical Innovations, LLC ed è indicato per monitorare il funzionamento della striscia reattiva del test di rottura delle membrane fetali ROM Plus di Clinical Innovations. I kit per il test di controllo contengono le proteine di liquido amniotico IGFBP-1 umane e AFP umane a concentrazioni di 20 ng/ml e 600 ng/ml. Nel kit di controllo di qualità sono disponibili anche controlli negativi esterni che non contengono queste proteine. Seguire sempre le linee guida federali, nazionali e locali per la documentazione del controllo qualità.

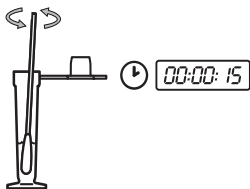
Procedura del test

1- Prelevare il campione

Rimuovere il contenuto di ROM Plus ES dalla confezione. Tenendo il flaconcino del buffer in posizione verticale, rimuovere il tappo di spedizione e metterlo da parte. Rimuovere il tampone sterile dalla sua confezione per prelevare un campione dalla superficie della vagina. La punta del tampone non deve toccare

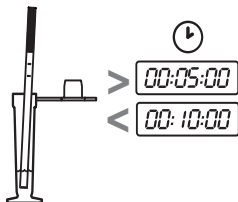
nulla prima dell'inserimento. Inserire la punta del tampone in vagina a 5-7 cm (2-3 pollici) di profondità. Estrarre il tampone dopo un minimo di 15 secondi.





2- Miscelare il campione ed eseguire il test

Posizionare la punta del tampone nel flaconcino. Miscelare il tampone nel buffer per almeno 15 secondi, quindi rimuovere e smaltire il tampone.

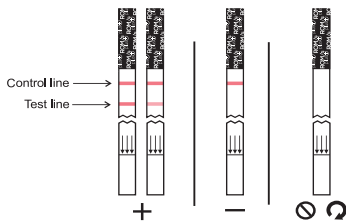


3- Aggiungere striscia reattiva alla fiala e attivare il timer

Strappare il sacchetto in alluminio per aprirlo e rimuovere la striscia reattiva del test ROM Plus. Posizionare l'estremità bianca della striscia reattiva (contrassegnata dalle frecce) all'interno del flaconcino con la soluzione buffer.

4- Leggere il risultato del test

Se sono chiaramente visibili due linee oppure dopo 10 minuti, rimuovere la striscia reattiva. Il livello di visibilità delle strisce può variare. Il test è sempre valido anche se le linee sono deboli. Non interpretare i risultati del test in base al livello di visibilità delle linee. Se è visibile solo una linea di controllo (linea superiore), il risultato del test è negativo. Se sono visibili sia la linea di controllo che quella di test (linea inferiore),



il risultato del test è positivo. Se non è visibile alcuna linea, il risultato del test non è valido e deve essere ripetuto. Una linea leggera visibile situata nella zona della linea reattiva deve essere considerata positiva; inoltre, concentrazioni molto elevate di proteine possono causare una linea reattiva leggera. Si raccomanda di leggere la striscia reattiva entro 10 minuti dopo averla collocata nel flaconcino.

INTERVALLI PREVISTI

La concentrazione di IGFBP-1 nel liquido amniotico determinata negli studi citati nella letteratura sul liquido amniotico è compresa tra 10.500 e 350.000 ng/ml, quella di AFP va da 2.800 a 26.000 ng/ml e nel siero da 55 a 242 U/ml (equivalenti a 33-290 ng/ml). Le concentrazioni di IGFBP-1 osservate nel liquido amniotico erano da 100 a 1000 volte maggiori delle concentrazioni presenti nel siero materno. Questi studi hanno dimostrato, inoltre, che le concentrazioni di queste proteine nell'urina è trascurabile.⁷⁻⁹

ROM Plus ES Kullanım Talimatları

KULLANIM AMACI

Clinical Innovations ROM Plus ES fetal membran rüptür testi, ROM semptomları ve emareleri taşıyan hamile kadınların vajinal salgılarında amniyotik sıvının in vitro tespiti için kullanılan hızlı, kalitatif, immünokromatografik bir testtir. Test, vajinal salgılardaki amniyotik sıvıdan AFP (alfa-fetoprotein) ve IGFBP-1 (PP12 (plasental protein 12) olarak da bilinen insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 1) tespit eder. Test, hamile kadınlarda diğer emare ve semptomlarla beraber membran rüptürünün (ROM) tespitine yardım için sağlık uzmanları tarafından, reçeteli şekilde kullanım içindir.

BELİRTEÇLER VE BİLEŞENLER

Tüm ROM Plus ES kitleri aşağıdakileri içerir:

- Bir adet ROM Plus ES test şeridi
- Bir adet steril polyester vajinal swab
- Bir adet tampon solüsyonlu viyal (fosfat tamponlu salin)
- Kullanım yönergeleri (her poşette)
- Test şeridi aşağıdaki antikorları içerir: koyun antihümen IGFBP-1, keçi antihümen AFP, fare konjuge kolloid altın antihümen IGFBP-1 & AFP.

TEST ÖZETİ

ROM Plus ES fetal membranların rüptürü için kalitatif sonuçlar sağlayan bir test setidir ve bakım noktalarından temin edilir. ROM Plus ES sonuçları elde etmek için spekülüm gerekmez. Sadece basit bir vajinal swab örneği gerektiren invazif olmayan bir testtir. Örnek, swabı vajinaya 15 saniye süreyle yerleştirerek alınır. Daha sonra swab 15 saniye boyunca 600 µL tampon solüsyonu içeren bir viyale karıştırılır ve ROM Plus ES test şeridi tampon solüsyonuna yerleştirilir. Sıvı kromatografik ve tek yönlü olarak emici pede doğru hareket eder.

TEST PRENSİBİ

Migrasyon sırasında, örnek test şeridi membranına bağlı mono/poliklonal antikorlarla tepkimeye girer. Bu antikorlar amniyotik sıvının markörleri olan bir protein kombinasyonuna, IGFBP-1 ve AFP, immünoreaktiftir. Membran sıvı örneğini emdikçe, cihazın doğru çalıştığını belirten bir kontrol hattı belirir. Örnek, IGFBP-1 ve/veya AFP proteinlerini içerirse, test hattının antikoruna bağlanır ve test hattının belirmesine neden olur ve pozitif sonuç anlamına gelir. Örnek, IGFBP-1 ve/veya AFP içermezse, sadece kontrol hattı görünür ve negatif sonuç anlamına gelir.

DEPOLAMA VE STABİLİTE

- Seti kuru bir yerde, 4° ila 37°C (40° ila 99°F) arasında saklayın. Dondurmayın.

- Folyo poşet içinde tavsiye edilen sıcaklıkta saklandığında, poşet üzerindeki “Son Kullanma” tarihine dek test stabildir.
- ROM Plus ES’i folyo poşeti açtıktan sonra altı (6) saat içinde kullanın.
- ROM Plus ES’i, vajinal swab örneğinin alınmasını ve tampon vialine yerleştirilmesini takip eden altı (6) saat içinde kullanın.

ÖNLEMLER, SINIRLAR VE UYARILAR

- ROM tanıları tek bir testi baz almamalıdır.
- ROM Plus ES sadece in vitro tanısal kullanım içindir.
- ROM Plus ES sadece sağlık uzmanlarının kullanımını içindir.
- Testi kullanmadan önce içinde ROM Plus ES bulunan poşetin oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.
- Doğru sonuçlar için tüm talimatlar dikkatli şekilde izlenmelidir.
- Tüm ROM Plus ES test setleri tek kullanımlıktır ve tekrar kullanılmamalıdır.
- ROM Plus ES sonuçları kalitatiftir. Kantitatif yorumlama yapılmamalıdır.
- ROM Plus ES test setleri örnekteki eser miktarlarda kanla doğru şekilde çalışır. Belirgin ölçüde kan deşarjı testin yanlış olmasına neden olabilir ve tavsiye edilmez.
- Test örnekleri alırken, işlem ve imha sırasında güvenlik önlemleri alınmalıdır.
- Kullanılmış test setleri biyolojik olarak tehlikelidir.
- Literatürde nöral tüp defektleri, hipotiroidizm, otoimmün durumlar, konjenital kalp defektleri, sistik fibroz, vb. gibi çeşitli gelişim bozukluklarında yükselmiş fetal serum, idrar, kordon kanı ve amniyotik sıvı, aynı zamanda da AFP maternal serum seviyeleri bildirilmiştir. ROM Plus ES bu durumlarla olası interferans açısından değerlendirilmemiştir.

Sonuçlar mevcut diğer klinik bilgilerle beraber kullanılmalıdır.

YÖNTEM VEYA PERFORMANS

ROM Plus ES deneyi doğrusalılık, tespit sınırı, doğruluk/tekrarlanabilirlik, sensitivite, spesifisite ve çapraz reaktivite parametreleri için onaylanmıştır:

Yüksek Konsantrasyon (“Yüksek Doz Kanca” efekti) – ROM Plus üst tespit aralığı için, IGFBP-1 ve AFP test edilmiştir. IGFBP-1 konsantrasyonları 400,000 ng/ml ve AFP konsantrasyonları 200,000 ng/ml’ye dek test edilmiştir ve pozitif görsel sonuçlar elde edilmiştir. (Çok yüksek AFP ve IGFBP-1 konsantrasyonları mevcut olduğunda çizgiler daha hafif olsa da, tüm çizgiler pozitif kabul edilir.)

Tespit için en düşük limit (LOD) IGFBP-1 için 5 ng/ml ve AFP için 150 ng/ml’dir. (Bu LOD konsantrasyonları vajinal salgı örneklerinde tamponla seyreltilmeden önce bulunan değerlerdir.)

Tekrarlanabilirlik negatif bir kontrole batırılmış amniyotik sıvının altı düzeyinde farklı günlerde test edilmiştir. Deney, görsel pozitif veya negatif sonuçları belirlemek için

üç grup ROM Plus üzerinde yapılmıştır. İki düşük pozitif, iki orta pozitif ve iki yüksek pozitif dört farklı günde üç grup ROM Plus üzerinde denenmiştir. Aktivitede farklılık gözlenmemiştir.

Deneyin çapraz reaktivitesini ve interferansı belirlemek için, Tylenol, aspirin ve beş farklı banyo ürünü (KY Jel, Surgilube, Lever Sabun, Noxema krem, Pert Şampuan), görsel aktivite kaybı olmadan 0,1%'lik bir nihai konsantrasyona sahip düşük pozitif kontrole batırılmıştır. Aynı banyo ürünleri negatif matris kontrolüne batırılmış ve negatif olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, insan semeni, idrar ve kan aktivite kaybı olmadan, 10%'lik bir nihai konsantrasyona sahip düşük pozitif kontrole batırılmıştır. İnsan semeni, idrar ve kan da negatif kontrol matrisine batırılmış ve negatif olduğu gösterilmiştir. IGFBP-1 deneyi, Western Blot sonuçlarına göre IGFBP-2, IGFBP-3 ve IGFBP-4 ile çapraz reaksiyona girmez. Bakteriyel vajinozis ve cinsel olarak bulaşan hastalıklar açısından pozitif örneklerle test edildiğinde ROM Plus'ın negatif olduğu gösterilmiştir. Tüm örnekler pH>4,5 idi.

Çok merkezli prospektif, gözlemsel bir çalışmada, ROM Plus'ın standart klinik değerlendirmeden üstün olduğu gösterilmiştir. Çalışmaya membran rüptürü emareleri veya semptomları bildiren, gebeliğin 15-42 haftaları arasında, 18 veya üzeri yaşta sağlıklı hamile kadınlar dahil edilmiştir. Bilinen plasenta previa durumu ve/veya aktif vajinal kanaması olan hastalar çalışmadan hariç tutulmuştur. İlk inceleme hem membran rüptürü için standart klinik değerlendirmeleri (SEE: sıvı birikimi için spekulum muayenesi, feringing ve nitrazin testi), hem de ROM Plus'ı içermiştir. Servikal ostan sıvı sızıntısı olduğu görülürse membran rüptürü tanısı konmuş veya üç durumdan ikisi mevcutsa membran rüptüründen şüphelenilmiştir: sıvı birikimi, pozitif nitrazin testi veya feringing. Doğumu takiben hastanın klinik durumu incelendikten sonra membran rüptürü tanısı doğrulanmıştır.

SSE uygulayan klinisyenlere ROM Plus sonuçları bildirilmemiştir ve tam tersi ROM Plus için de uygulanmıştır. Literatürde birikim/ferning/nitrazinin klinik standardının 16-51% sensitivite ve yaklaşık 70%^{1,2,3} spesifisiteye sahip oldukları (bu testler bireysel olarak kullanıldıklarında) ve bu nedenle ideal referans standartlar olmadıkları gösterilmiştir. Sonuç olarak, ROM'un nihai tanısı hastanın tablosunun ve klinik durumunun müteakip incelemesini - rüptüre membranların tespiti için literatürde tarif edilen yaygın bir metodolojiji temel almıştır.^{4,5}

Tablo 1: Klinik Çalışması6 - ROM Plus x Klinik değerlendirme (birikim/ferning/nitrazin)

285 hastada (gebeliğin 15-42 haftaları), ROM Plus için hatalı pozitif oran 9% ve hatalı negatif oran 0,5%, sensitivite 99%, spesifisite 91%, pozitif ve negatif prediktif değerler 95% ve 99% idi. Konvansiyonel klinik değerlendirmenin sensitivitesi 85%, spesifisitesi 98%, pozitif ve negatif prediktif değerleri 99% ve 77% idi. Bu çalışmada ROM Plus için preterm değerleri şöyledi: 100% sensitivite, 94% spesifisite. Tablo 1 klinik çalışmada elde edilen (gebelik yaşına göre) ROM Plus testi sonuçlarını gösterir. Dokuz hatalı pozitifin altı tanesi term, dokuzdan sadece üç tanesi preterm idi. Veriler tüm gebelik yaş grupları, term ve

preterm grupları, 24 haftadan az gebelik süresi, 24 ve 34 hafta arası ve 34 haftadan fazla gebelik süresi için güven aralıklı sensitivite ve spesifisite olarak sunulmuştur.

Gebeli süresi (hafta)	N	Sensitivite (95% güven aralığı)	Spesifisite (95% güven aralığı)
TÜMÜ	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

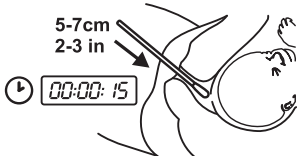
KALİTE KONTROL

Tüm ROM Plus ES testleri Dahili Kalite Kontrol içerir, bu kontrol test prosedürünün bütünlüğünü (operatör), test şeridinin doğru takıldığını (cihaz bütünlüğü) ve testin uygun şekilde depolandığını (aşırı sıcaklıklara maruz bırakılmadığını) (çevre) doğrular.

Kontrol çizgisinin (C) belirmesiyle gösterilen pozitif kontrol, belirtecin doğru şekilde çalıştığını (cihaz bütünlüğü), kasete yeterli örnek hacminin uygulandığını (operatör) ve yeterli kapiller migrasyon (lateral akış) oluştuğunu (cihaz bütünlüğü) gösterir. Negatif kontrol tüm şerit boyunca renk olmamasıyla gösterilir ve herhangi bir uygun olmayan bağlanmanın oluşmadığı (cihaz bütünlüğü) anlamına gelir. Kontrol çizgisi görünürse ve şerit boyunca renk mevcutsa test doğru şekilde çalışmaktadır ve tekrarlanmasına gerek yoktur.

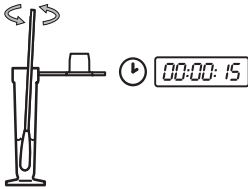
Bu test iki seviyeli (pozitif ve negatif) dahili kalite kontrol içerdiğinden ve kaliteli, orta derecede kompleks bir test olduğundan, her test malzemesi yeni grup numarası veya nakliyesi için ve örnekte bozulma olduğundan veya hatalı depolamadan şüphelenildiğinde ve düzenleyici veya akreditasyon veren kuruluşlar tarafından talep edilen şekilde harici KK yapılması firmanın tavsiyesidir.

Harici kontroller için ROM Plus Fetal Membran Rüptür Testi Kalite Kontrol seti Clinical Innovations, LLC'den temin edilebilir ve Clinical Innovation'ın ROM Plus fetal membran rüptür test şeridinin performansını izlemek için tasarlanmıştır. Kontrol testi seti 20 ng/ml ve 600 ng/ml'lik konsantrasyonlarda insan IGFBP-1 ve insan AFP amniyotik sıvı proteinleri içerir. Bu proteinleri içermeyen harici negatif kontroller de Kalite Kontrol Seti'nde mevcuttur. Kalite kontrol belgelendirmesi için daima federal, devletin bildirdiği ve yerel yönergeleri izleyin.



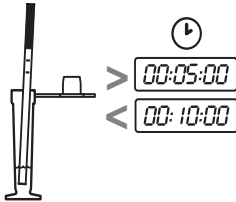
1- Örneği Alın

ROM Plus ES bileşenlerini ambalajdan çıkarın. Tampon viyalini dik bir konumda tutarak nakliye kapağını çıkarın. Vajinanın yüzeyinden örnek almak için steril swabı ambalajından çıkarın. Yerleştirilmeden önce swabın ucu hiçbir şeye dokunmamalıdır. Swabın ucunu vajinaya 5-7 cm (2-3 inç) kadar yerleştirin. Minimum 15 saniye sonra swabı çıkarın.



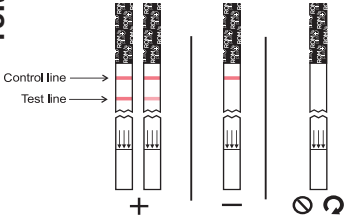
2- Örneği Karıştırın ve Testi Yapın

Swabın ucunu viyale yerleştirin. Swabı tamponun içinde en az 15 saniye karıştırın, daha sonra çıkarın ve swabı atın.



3- Şişe ve Sayacı etkinleştirmek için test şeridi ekle

Folyo poşeti yırtarak açın ve ROM Plus test şeridini çıkarın. Test şeridinin beyaz ucunu (ok ile işaretlenmiştir) tampon içeren viyale yerleştirin.



4- Test Sonuçlarını Okuyun

İki çizgi net bir şekilde görünüyorsa veya 10 dakika sonra test şeridini çıkarın. Şeritlerin koyuluğu değişiklik gösterebilir. Çizgiler soluk bile olsa test geçerlidir. Test sonuçlarını çizgilerin koyuluğuna göre yorumlamayın. Sadece kontrol çizgisi (üstteki çizgi) görünüyorsa, test sonucu negatiftir. Hem kontrol çizgisi hem de test çizgisi (alttaki çizgi) görünüyorsa, test sonucu pozitifdir. Hiçbir çizgi görünmüyorsa, test sonucu geçersizdir ve

tekrar edilmelidir. Test çizgisi bölgesindeki hafif görünür bir çizgi pozitif kabul edilmelidir, ek olarak, çok yüksek protein konsantrasyonları hafif test çizgisine neden olabilir. Şeridin viyale yerleştirildikten 10 dakika sonra okunması tavsiye edilir.

BEKLENEN ARALIKLAR

Literatür çalışmalarında belirlenen, amniyotik sıvıdaki IGFBP-1 konsantrasyonu 10.500 ve 350.000 ng/ml arasındadır, AFP için 2.800 ila 26.000 ng/ml ve serumda 55 ila 242 U/ml (33 ila 290 ng/ml'ye eşdeğer) arasındadır. Amniyotik sıvıdaki IGFBP-1 konsantrasyonlarının maternal serumdakinden 100 ila 1000 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmalar bu proteinlerin idrardaki konsantrasyonlarının yok sayılabileceğini de göstermiştir.⁷⁻⁹

Bibliography

1. Thomasino T, Levi C. Diagnosing PROM with Combination Monoclonal/Polyclonal Immunologic Protein Detection. ACOG 2011 Annual Clinical Meeting, Washington DC, Poster Session, May 2011.
2. Caughey AB, Robinson JN, and Norwitz, ER. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008;1(1):11-22.
3. Tagore S, Kwek K. Comparative analysis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), placental alpha-microglobulin-1 (PAMG-1) and nitrazine test to diagnose premature rupture of membranes in pregnancy. *J Perinat Med* 2010;38:609-12.
4. El-Messidi A, Cameron A. Diagnosis of Premature Rupture of Membranes: Inspiration From the Past and Insights for the Future. *J.Obstet Gynaecol Can* 2010;32(6):561-69.
5. Albayrak, M, Ozdemir A, Koc O, Ankarali H, Ozen O. "Comparison of the diagnostic efficacy of the two rapid bedside immunoassays and combined clinical conventional diagnosis in prelabour rupture of membranes," *Eur.J. of Obstet. & Gyn. and Reprod. Biology.* 158 (2011)179-182.
6. Cousins LM, Smok DP, Lovett SM, et al. AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. *Am J Perinatol.* 2005;22(6):317-320.
7. Lee SE, Park JS, Norwitz ER, et al. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2007;109(3):634-640.
8. Lee SM, Lee J, Seong HS, Lee SE, et al. The clinical significance of a false positive AmniSure test in women with term labor with intact membranes. *J. Matern Fetal Neonatal Med* 2009 Apr; 22(4): 305-310.
9. 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;25(4):243-246.



Clinical Innovations
747 West 4170 South
Murray, Utah USA 84123
P: 801-268-8200
Toll Free: 888-268-6222
clinicalinnovations.com



Clinical Innovations Europe, Ltd.
6-9 The Square | Stockley Park,
Heathrow UB11 1FW | United Kingdom
Tel +44 (0) 333 370 4408

LATEX FREE, DEHP FREE | Made in the USA.
Patents Pending | Copyright 05-2016, Clinical
Innovations, LLC. | All rights reserved.



**CLINICAL
INNOVATIONS**

for MOM. for BABY. for LIFE.

Copyright 2016, Clinical Innovations, LLC.
All rights reserved. P/N 050-0742 REV C