

AMNIOQUICK® DUO +



Test rapido per la determinazione della proteina IGFBP-1 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein 1) e AFP (Alfa-FetoProteina)

DESTINAZIONE D'USO

AMNIOQUICK® DUO + è un test immunocromatografico semplice e rapido che permette la determinazione, in vitro, della proteina IGFBP-1 (Insulin-like Growth Factor Binding Protein 1) e AFP (Alfa-FetoProteina) in campioni prelevati da tampone vaginale. AMNIOQUICK® DUO + è destinato a rilevare eventuali rotture delle membrane fetali, nelle gestanti, a partire da secrezioni vaginali. Ogni test è utilizzato per ottenere un risultato qualitativo.

Il test AMNIOQUICK® DUO + può essere utilizzato dai medici come supporto per avviare trattamenti terapeutici. Ogni dispositivo è destinato all'uso professionale e alla diagnostica in vitro.

INTRODUZIONE

La rottura prematura delle membrane (RPM) o PROM, dall'inglese "Premature Rupture of Membranes", è relativamente frequente e riguarda dal 5 al 10% delle gravidanze. Può provocare parti prematuri e infezioni fetali. La perdita di liquido amniotico non è sempre rilevabile con gli esami clinici convenzionali e, a questo scopo, sono talvolta utili dei test di conferma biologica. I test biologici si basano sull'alcalinizzazione delle secrezioni vaginali (metodo di facile esecuzione, economico ma molto poco specifico) o sulla presenza di un marcatore molecolare presente in concentrazione elevata nel liquido amniotico (DAO, alfa-fetoproteina, fibronectina, IGFBP-1).

PRINCIPIO DEL TEST

Una coppia di anticorpi monoclonali anti-IGFBP-1 è impiegata per la determinazione della proteina IGFBP-1. Uno è immobilizzato sulla membrana di nitrocellulosa a livello della linea B del test: corrisponde all'anticorpo di cattura. L'altro è marcato con oro colloidale per la successiva rilevazione. Lo stesso principio è adottato per la rilevazione della AFP, mediante una coppia di anticorpi monoclonali anti-AFP con l'anticorpo di cattura immobilizzato a livello della linea A del test, e l'altro marcato con oro colloidale per la successiva rilevazione. Durante la migrazione del campione, la proteina AFP e la proteina IGFBP-1, se presenti, formeranno complessi antigene-anticorpo con gli anticorpi marcati. Questi complessi saranno immobilizzati dall'anticorpo di cattura a livello delle linee A e B del test, creando una o due bande di colore viola, generate dalle nanoparticelle colloidali d'oro. La presenza di una banda color viola di controllo interno, nella parte superiore della membrana, indica che il risultato è valido e che la procedura seguita è corretta.

MATERIALI FORNITI

- Dispositivi in cassetta, confezionati singolarmente, con bustina di essiccante.
- Tamponi vaginali con il fiocco in Nylon Sterile CE 0123.
- Flaconi contagocce, con tampone di estrazione.
- Istruzioni per l'uso.
- Card paziente.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Cronometro con allarme.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

AMNIOQUICK® DUO + è confezionato in una busta ermetica di alluminio con essiccante. Il test deve essere conservato in ambiente asciutto, a una temperatura compresa fra 2° e 30°C. In queste condizioni il test è stabile fino alla data di scadenza indicata. Le cassette devono essere protette dall'umidità. Una volta aperta la busta, il test deve essere eseguito entro un'ora al massimo.

PRECAUZIONI

- Per esclusivo uso diagnostico in vitro.
- Per ottenere risultati ottimali, seguire scrupolosamente la procedura e le condizioni di conservazione.
- Non aprire la busta di alluminio prima che abbia raggiunto la temperatura

ambiente al fine di evitare la formazione di condensa. L'umidità e le alte temperature possono alterare i risultati.

- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, fumare o bere durante la manipolazione dei campioni.
- Indossare camici bianchi, guanti monouso e occhiali protettivi, quando si maneggiano materiali potenzialmente infettivi e si esegue il test.
- Tutti i campioni devono essere trattati come potenzialmente infetti. Durante l'esecuzione del test, tutti i materiali utilizzati devono essere considerati potenzialmente infetti. Eliminare, quindi, i componenti del test e i campioni secondo la procedura di smaltimento di rifiuti infetti.
- Evitare gli schizzi e la formazione di aerosol. Pulire accuratamente gli schizzi utilizzando un disinfettante idoneo.
- Le cassette e le provette fornite nel kit sono monouso. Non riutilizzare test, tamponi o provette di diluizione.
- Non scambiare o mescolare i reagenti di kit e lotti differenti.
- Non utilizzare i dispositivi se la busta di alluminio è aperta o danneggiata.
- L'uso di 2 o 4 gocce, invece di 3 non determina differenze significative nel risultato.

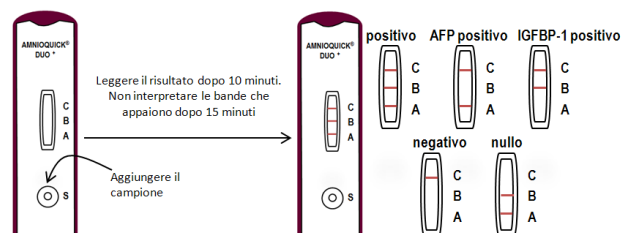
RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Utilizzare il tampone sterile di Nylon, fornito nel kit, per la raccolta delle secrezioni dalle pareti vaginali. Estrarre il tampone dalla busta e inserirlo delicatamente in vagina (5 cm di profondità) per 1 minuto.

In alternativa è possibile usare uno speculum e le secrezioni vaginali possono essere raccolte lasciando il tampone in contatto con le pareti vaginali a livello del fornice posteriore per 15 secondi.

PROCEDIMENTO

1. Portare il test completo e i campioni a temperatura ambiente prima dell'esecuzione.
2. Aprire il flacone monodose e poggiarlo verticalmente su una superficie orizzontale piatta.
3. Immergere il tampone nel flacone eseguendo delle rotazioni per circa 10 secondi. Premere le pareti della provetta in modo da estrarre quanto più campione possibile dal tampone, quindi smaltirlo o spezzarne la punta nel flacone.
4. Chiudere con il tappo e agitare la provetta di raccolta. Con un pezzo di tessuto, spezzare la parte superiore della provetta con un movimento rotatorio. Mantenere la provetta verticalmente e, premendo delicatamente sulle pareti del flacone, dispensare 3 gocce di soluzione nel pozzetto circolare di campionamento del dispositivo. Evitare la formazione di bolle nel campione o schizzi di liquido nella finestra del risultato.
5. Avviare il timer. Appena il test comincia a funzionare, si rende visibile il fronte di liquido rossastro, che si muove lungo la membrana.
6. Leggere il risultato dopo 10 minuti. Risultati forti positivi si possono osservare prima. **Non tenere in considerazione alcuna banda che compaia 15 minuti dopo che il campione è stato distribuito nella cassetta.**
7. Eliminare, quindi, i componenti del test e i campioni secondo la procedura di smaltimento di rifiuti infetti.



Il test può essere letto visivamente o con l'aiuto del lettore BIOSYNEX Reader.

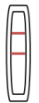
➤ Lettura visiva

IGFBP-1 E AFP POSITIVO:



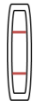
C Presenza di 3 distinte bande viola: Una banda di controllo appare a livello della zona C e due bande (anche di debole intensità) appaiono a livello della zona A e B.

IGFBP-1 POSITIVO E AFP NEGATIVO:



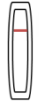
C Presenza di 2 distinte bande viola: Una banda di controllo appare a livello della zona C e una banda (anche di debole intensità) appare a livello della zona B.

AFP POSITIVO E IGFBP-1 NEGATIVO:



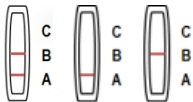
C Presenza di 2 distinte bande viola: Una banda di controllo appare a livello della zona C e una banda (anche di debole intensità) appare a livello della zona A.

NEGATIVO:



Appare una sola banda viola a livello del controllo (C): non appaiono le bande a livello delle aree A e B.

NULLO:



Non appare alcuna banda visibile a livello del controllo C (anche se appaiono le bande A e B).

I risultati ottenuti da test privi di banda di controllo devono essere eliminati. Rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo dispositivo.

Se il problema persiste contattare il vostro distributore locale. Se il fronte del liquido non raggiunge l'area della linea di controllo, ripetere la procedura aggiungendo una goccia di campione diluito e 3 gocce di diluente del campione nel pozzetto di campionamento di un nuovo dispositivo.

➤ lettura con il lettore automatico

- AMNIOQUICK® DUO + è compatibile con il lettore BIOSYNEX Reader, in combinazione con la SD Card AMNIOQUICK DUO + .
- Per leggere i risultati con il lettore, fare riferimento alle istruzioni dello strumento. Il codice a barre stampato sulla Card paziente deve essere scansionata per identificare il numero di lotto del test e per verificare la compatibilità della SD Card.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

AMNIOQUICK® DUO + consente la rilevazione del liquido amniotico nel campione di secrezione vaginale, mediante l'identificazione di due marcatori complementari la cui concentrazione nel liquido amniotico è molto alta: IGFBP-1 e AFP.

Sensibilità e specificità della sola IGFBP-1, per la diagnosi della rottura prematura delle membrane fetali, sono state indicate rispettivamente tra 95-100% e 93-98%. Sensibilità e specificità dell'AFP sono state indicate rispettivamente tra 96,9-100% e 85,7-92,9%.

AMNIOQUICK DUO® + è stato impostato con una soglia elevata di IGFBP-1 (10ng/ml), in modo da ridurre il rischio dei risultati falsi positivi, causati dalla presenza nella vagina di IGFBP-1 fosforilata, che si origina dalle cellule decidue della cervice matura. Il valore predittivo del risultato positivo (VPP) della IGFBP-1 di AMNIOQUICK® DUO + è quindi molto alto.

La concentrazione di AFP è variabile durante la gravidanza e diminuisce significativamente nel 3° trimestre. Al limite di rilevazione del test (5 ng/ml) il valore predittivo del risultato positivo (VPP) è molto alto oltre la 39a settimana di gestazione. Inoltre, anche il valore predittivo del risultato negativo (VPN) della AFP oltre la 39a settimana di gestazione è molto alto.

Considerando le caratteristiche di questi due marcatori e il limite di rilevazione, i risultati del test devono essere interpretati in accordo all'algoritmo mostrato nella seguente tabella:

AFP	RISULTATI				
	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
IGFBP-1	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Conclusione	ROTTURA		EG* ≥ 39 settimane	EG* < 39 settimane	NO ROTTURA
			ROTTURA	DUBBIO	

* Età Gestazionale

CONTROLLO QUALITÀ

- Procedure di controllo interne sono incluse nel test. Una banda colorata che compare nella zona di controllo (C) assicura che è stato caricato un volume sufficiente di campione e che la procedura è stata eseguita in maniera corretta.
- Le buone pratiche di laboratorio raccomandano l'uso di materiale di controllo per garantire le performance del kit. I campioni di controllo, specifici per questo prodotto sono disponibili separatamente.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Come per tutti i test diagnostici, il risultato deve essere coerente con i dati clinici.
- Nel caso di significative quantità di sangue nel campione di secreto vaginale, il risultato deve essere interpretato con cautela.
- La presenza di sangue nel campione può portare a risultati falsi positivi di AFP, specialmente oltre le 39 settimane di gestazione.
- Oltre le 39 settimane di gestazione, la diminuzione della concentrazione di AFP nel liquido amniotico può portare a risultati falsi negativi.
- Risultati falsi negativi possono verificarsi quando il test è eseguito oltre le 12 ore dall'arresto della perdita di liquido amniotico.
- Il tampone deve essere diluito in un flacone di estrazione immediatamente dopo il prelievo. Il flacone, quindi, può essere conservato per massimo 6 ore a temperatura ambiente o a 4 °C prima di eseguire il test poiché gli enzimi proteasi, presenti nelle secrezioni vaginali, possono alterare la proteina IGFBP-1, nel caso in cui il tempo di conservazione sia superiore a 6 ore.

PRESTAZIONI

Limite di rilevazione:

Il limite di rilevazione del test AMNIOQUICK® DUO+è **10 ng/mL** per IGFBP-1 e di **5 ng/ml** per AFP. Le prestazioni cliniche del test, dipendono dal metodo di riferimento scelto e dal livello di sospetto di rottura nella popolazione selezionata. L'interpretazione dei risultati in accordo con l'algoritmo indicato in tabella consente di ottimizzare la specificità della diagnosi di rottura prematura delle membrane. Consente anche di identificare una popolazione con un profilo indefinito per la quale la diagnosi si deve basare sui sintomi clinici.

BIBLIOGRAFIA

1. Seppala M., Ruoslahti E. Alpha fetoprotein in Amniotic fluid: An index of gestational age. Am. J. Obstet. Gynecol. 1972, November, 595-598
2. Rochelson BL, Richardson DA, Macri JN. Rapid assay: possible application in the diagnosis of premature rupture of the membranes. Obstet Gynecol 1983;62:414-418
3. Rutanen EM, Pekonen F, Kärkkäinen T. Measurement of insulin-like growth factor binding protein-1 in cervical/vaginal secretions: comparison with the ROM-check membrane immunoassay in the diagnosis of ruptured fetal membranes. Clin Chim Acta 1993;214:73-81
4. Kishida et al. Diagnosis of premature rupture of the membranes in parturient patients, using an improved AFP kit: comparison with ROM-Check and/or nitrazine test. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 1996, 69, 77-82
5. Rutanen et al. Evaluation of a rapid strip test for insulin-like growth binding protein-1 in the diagnosis of ruptured fetal membranes. Clinica Chimica Acta, 1996, 253, 91-101
6. Guibourdenche J, Luton D, André E, Noël M, Porquet D. Détection rapide de l'Insulin-like growth factor-binding protein-1 et de la fibronectine fœtale dans les sécrétions cervico-vaginales pour le diagnostic de la rupture prématurée des membranes. Ann Clin Biochem 1999 ;36 :388-390
7. Gallot D., Sapin V. Menace d'accouchement prématuré et marqueurs de rupture prématurée des membranes : de la physiopathologie au diagnostic. Spectra Biologie, 2007, 161, 59-63
8. Rutanen et al. Radioimmunoassay of placenta protein 12 : levels in amniotic fluid, cold blood and serum of healthy adults pregnant women and patients with trophoblastic disease. Am. J. Obstet. Gynecol. 1982
9. Rutanen et al. Decidual transformation of human extrauterine mesenchymal cells is associated with the appearance of insulin-like growth factor binding protein-1. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1992 72: 27-31

SIMBOLI

	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	LOT	Numero di lotto
IVD	Per esclusivo uso diagnostico <i>in vitro</i>		Fabbricante
	Conservare a una temperatura compresa tra 2°C e 30°C		Monouso
	Test per kit	REF	Numero di catalogo
	Scadenza	DIL	tampone di estrazione

In attesa di brevetto

Version 01 IT 01/2016