



NOTICE D'UTILISATION

AMNISTRIP

RAPB0513 (10 test kit)

INSTRUCTIONS FOR USE

**DIAsource ImmunoAssays S.A.
8, rue de l'Industrie
1400 NIVELLES - BELGIQUE
Tél. : +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96**

Liste des Symboles					
	Attention, voir notice d'utilisation		Tests par coffret		Fabricant
	Pour diagnostic in vitro uniquement		Péremption		Usage unique
	Conserver entre 2-30°C		Numéro de lot	REF	Code produit

Index of Symbols					
	Attention, see instructions for use		Tests per kit		Manufacturer
	For <i>in vitro</i> diagnostic use only		Use by		Do not re-use
	Store between 2-30°C		Lot Number	REF	Catalog #



DIAsource ImmunoAssays S.A.
8, rue de l'industrie
B/ 1400 NIVELLES
Tel.: +32 67 88 99 99 - Fax: +32 67 88 99 96

Date de révision : 2010-02-26
Revision date : 2010-02-26

AMNISTRIP

Test rapide de détection de l'IGFBP-1 (Insulin Growth Factor Binding Protein 1)

Catalogue N° : RAPB0513 : 10 tests par kit

Pour usage *in vitro* uniquement

1- OBJECTIF

AMNISTRIP est un test simple et rapide permettant de détecter la présence *in vitro* d'IGFBP-1 (Insulin Growth Factor Binding Protein 1) à partir d'un prélèvement vaginal. Le test AMNISTRIP est destiné à une utilisation sur écouvillonnage vaginal pour mettre en évidence une rupture des membranes fœtales chez la femme enceinte.

2- INTRODUCTION

La rupture prématurée des membranes (RPM) est relativement fréquente et concerne 5 à 10% des grossesses. Elle peut entraîner des accouchements prématurés et des infections fœtales. La fuite de liquide amniotique n'est pas toujours détectable par l'examen clinique et les tests de confirmation biologique sont souvent utiles. Les tests biologiques consistent à mettre en évidence au niveau vaginal, soit une alcalinisation du pH (simple, peu couteuse mais insuffisamment sensible et spécifique), soit la présence anormale de protéines ovulaires (diamine oxydase, alpha-foetoprotéine, fibronectine foetale, IGFBP-1)

3- PRINCIPE

Un anticorps monoclonal de capture est immobilisé sur la membrane de nitrocellulose. Après prélèvement vaginal, l'écouvillon est déchargé dans la solution d'extraction. L'IGFBP-1 présente dans l'échantillon va se fixer à l'anticorps de capture durant la migration du fluide de migration le long de la membrane de nitrocellulose. Le signal coloré est généré par des particules d'or colloïdal sur lesquelles est immobilisé un anticorps monoclonal spécifique de l'IGFBP-1 qui va se lier au complexe anticorps-antigène entraînant ainsi l'apparition d'une bande mauve. La présence d'une bande de contrôle interne mauve dans la partie supérieure du test permet de valider le fonctionnement correct du test.

4- MATERIEL FOURNI

Le coffret AMNISTRIP contient les composants suivants nécessaires à la réalisation du test.

- Notice d'utilisation
-  Bandelettes tests conditionnées en pochettes individuelles avec sachets dessiccants.
- Sachets regroupant les deux composants ci-dessous :
 - Ecouvillon stérile en Dacron.
 - Tampon d'extraction conditionné en flacons unidoses. 

5- MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Chronomètre avec alarme.

6- LIMITES DU TEST

- 1) La procédure d'utilisation, les précautions et l'interprétation du résultat doivent être suivies conformément aux indications de la notice.
- 2) Comme pour tout test diagnostique, le résultat doit être confronté aux données cliniques.
- 3) Des résultats faussement positifs peuvent être liés à la présence d'IGFBP-1 dans les sécrétions vaginales provenant d'un saignement important ou des cellules déciduales du col lorsque celui-ci est suffisamment mature.
- 4) Des résultats faussement négatifs peuvent apparaître lorsque le test est réalisé plus de 12 heures après l'arrêt d'une fuite de liquide amniotique consécutive à une rupture des membranes.
- 5) Les résultats doivent être interprétés en fonction du contexte clinique et thérapeutique.
- 6) L'écouvillon doit être dilué dans le tampon d'extraction immédiatement après le recueil. Le tube peut alors être conservé 6 heures maximum à 4°C ou à température ambiante avant la réalisation du test car les protéases contenues dans les sécrétions vaginales peuvent détériorer l'IGFBP1 au-delà de 6 heures.

7- CONSERVATION ET STABILITE

AMNISTRIP est conditionné dans une pochette aluminium étanche contenant un sachet dessicant. Le test doit être conservé dans un endroit tempéré et sec à une température comprise entre 2-30°C. Le coffret a une durée de vie de 18 mois à partir de la fabrication. Les bandelettes ne doivent pas être congelées et doivent être conservées à l'abri de l'humidité. Une fois le sachet ouvert, le test doit être réalisé dans un délai d'une heure maximum.

8- PRECAUTIONS

- 1) Utiliser des gants jetables lors de la manipulation du test et d'échantillons potentiellement infectieux.
- 2) Ne pas manger, fumer ou boire lors de la manipulation des échantillons.
- 3) Nettoyer abondamment les éclaboussures en utilisant un désinfectant approprié.
- 4) Ne pas utiliser le test au-delà de la date de péremption.
- 5) Ne pas ouvrir le sachet aluminium avant qu'il soit revenu à température pour éviter une condensation.
- 6) Pour des résultats optimaux, suivre scrupuleusement la procédure et les conditions de conservation.
- 7) Ne pas réutiliser les bandelettes, les écouvillons et les tubes de dilution.

9- RECUEIL ET CONSERVATION DE L'ECHANTILLON

Utiliser l'écouvillon stérile en Dacron pour collecter les sécrétions à la surface du vagin. Retirer l'écouvillon de son sachet. Insérer l'écouvillon dans le vagin (5 cm de profondeur) pendant 1 minute.

Alternativement, un speculum peut aussi être utilisé. Les sécrétions vaginales sont recueillies après un contact de 15 secondes avec les parois vaginales à 5 cm de profondeur environ. Le recueil de l'échantillon au niveau du col ou au niveau du fornix postérieur doit être évité. En effet, les cellules épithéliales situées au niveau de ces zones peuvent contenir un niveau élevé d'IGFBP-1 phosphorylé qui peut entraîner des réactions croisées.

10- CONTROLE QUALITE

Un contrôle de procédure interne est intégré au test (bande de contrôle (C)). Cela permet de contrôler que la procédure a été suivie correctement.

11- PROCEDURE

- 1) Ramener le test et l'échantillon à température ambiante avant la réalisation du test.
- 2) Une fois le sachet aluminium ouvert, le test doit être réalisé dans un délai maximum d'une heure.
- 3) Ouvrir le flacon unidose et le déposer en position verticale sur une surface horizontale et plane.
- 4) Plonger l'écouvillon dans le flacon et décharger l'écouvillon en effectuant des rotations pendant une dizaine de secondes. Puis éliminer l'écouvillon.
- 5) Immerger la bandelette dans le flacon en orientant les flèches vers le bas. Tapoter la bandelette au fond des parois du tube pour amorcer la migration, conserver la bandelette en position verticale dans le tube pendant 10 minutes.
- 6) Lire le résultat à la dixième minute suivant l'immersion de la bandelette dans le flacon. **Ne pas interpréter une bande test qui apparaîtrait plus de 15 minutes après l'immersion de la bandelette.**

12- LECTURE DU RESULTAT

POSITIF :

Présence d'une bande Test mauve (même de faible intensité) et d'une bande contrôle mauve.

Présence de liquide amniotique dans l'échantillon testé

NEGATIF :

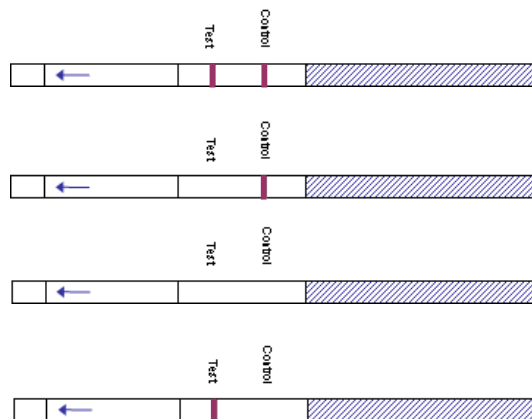
Absence de bande Test mauve et présence d'une bande contrôle mauve.

Absence de liquide amniotique dans l'échantillon testé

NON SIGNIFICATIF :

Absence de bande contrôle mauve.

Une mauvaise réalisation du test ou une viscosité importante des sécrétions vaginales sont les deux causes les plus fréquentes de résultat non significatif. Répéter le test avec une nouvelle bandelette.



13- PERFORMANCES

Limite de détection :

Un panel de liquides amniotique de 2nd et 3^{ème} trimestres a été évalué en chargeant le tampon. Dans tous les cas, AMNISTRIP a pu détecter un volume minimum d'1 µL de liquide amniotique.

Evaluation clinique :

Au cours d'une évaluation clinique en milieu hospitalier, AMNISTRIP a été comparé à un autre test de format bandelette destiné au diagnostic de PROM. En l'absence de méthode de confirmation du diagnostic de rupture mineure pour pouvoir valider les résultats biologiques, la confirmation de rupture a été basé sur la survenue de l'accouchement dans les 48 heures suivants le test. Il s'agit d'un critère subjectif qui est usuellement admis par les gynécologues.

Sur 94 patientes incluses :

- Les 2 tests sont négatifs dans 31 cas pour lesquels l'accouchement a toujours eu lieu plus de 48 heures après le test.
- Les deux tests ont été positifs dans 38 cas seulement. Dans 37 cas, l'accouchement a eu lieu dans les 48 heures suivant le test.
- Dans les 25 cas restants, la discordance était toujours dans le même sens : AMNISTRIP est positif tandis que le second test est négatif; dans deux cas seulement, l'accouchement a eu lieu plus de 48 heures après la réalisation du test. Dans tous les autres cas, l'accouchement a eu lieu dans les 48 heures suivant le test.

Ces résultats montrent une meilleure sensibilité du test AMNISTRIP, sans perte significative de spécificité comparativement à l'autre test.

Nombre d'échantillons	Date de l'accouchement	AMNISTRIP	Autre test
31	Plus de 48 heures après le test	-	-
2	Plus de 48 heures après le test	+	-
1	Plus de 48 heures après le test	+	+
37	Moins de 48 heures	+	+
23	Moins de 48 heures	+	-

AMNISTRIP

	RUPTURE (Accouchement dans les 48 heures)	ABSENCE DE RUPTURE (Accouchement au delà de 48 heures)
AMNISTRIP POSITIF	60	3
AMNISTRIP NEGATIF	0	31

Sensibilité = $60/60 = 100\%$

Spécificité = $31/34 = 91\%$

AUTRE TEST

	RUPTURE (Accouchement dans les 48 heures)	ABSENCE DE RUPTURE (Accouchement au delà de 48 heures)
TEST POSITIF	37	1
TEST NEGATIF	23	33

Sensibilité = $37/60 = 62\%$

Spécificité = $33/34 = 97\%$

14- BIBLIOGRAPHIE

1. Friedman ML, McElin TW. Diagnosis of ruptured fetal membranes. Am J Obstet Gynecol 1969;104:544-550
2. Steinman G, Kleiner GJ, Greston WM. Spontaneous rupture of membranes. NY St. J Med 1979;1849-1851
3. Koninckx PR, Trappeniers H, van Assche FA. Prolactin concentration in vaginal fluid: a new method for diagnosing ruptured membranes. Br J Obstet Gynaecol 1981;88:607-610
4. 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

5. Bell SC, Hales MW, Patel SR, Kirwan PH, Drife JO, Milford-Ward A. Amniotic fluid concentrations of secreted pregnancy-associated endometrial alpha1 and alpha2 globulins (alpha1 and alpha2 PEG). *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93:909-915
6. Suikkari AM, Rutanen EM, Seppälä M. Circulating levels of immunoreactive insulin-like growth factor-binding protein in non-pregnant women. *Hum Reprod* 1987;2:297-300
7. Bell SC, Keyte JW; N-terminalo amnio acid sequence of human pregnancy-associated endometrial alpha1-globulin, an endometrial insulin-like growth factor (IGF) binding protein – Evidence for two small molecular weight IGF binding proteins. *The Endoc Soc* 1988:1202-1204
8. 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
9. Medina TM, Hill DA. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management. *Am Fam Physic* 2006;73: 659-664
10. Lockwood CJ, Wein R, Chien D, Ghidini A, Alvarez M, Berkowitz RL. Fetal membrane rupture is associated with the presence of insulin-like growth factor-binding protein-1 in vaginal secretions. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:146–150
11. 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
12. Sucak A, Moroy P, Cakmak P, Mungan T, Mollamahmutoglu L, Danisman N. Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-I; a rapid detection of amniotic fluid leakage after amniocentesis. *Turk J Med Sci* 2005;35:157-161
13. Talabani H, Recoules A, Grenier S, Luton D, Paper T, Porquet D, Oury JF, Guibourdenche J. L'alpha1-microglobuline placentaire dans les sécrétions vaginales : un nouveau marqueur de la rupture prématurée des membranes. *Act Pharm Biol Clin* 2005 :12 :233-240
14. Akercan F, Cirpan T, Kazandi M, Terek MC, Mgoyi I, Ozkinay E. The value of insulin-like growth factor binding protein-1 in the cervical-vaginal secretion detected by immunochromatographic dipstick test in the prediction of delivery in women with clinically unconfirmed preterm premature rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol* 2005;121:159-163

Date de révision: 2010-02-26

AMNISTRIP

Rapid test for detection of IGFBP-1 (Insulin Growth Factor Binding Protein 1)

Catalogue Nr : RAPB0513 : 10 tests per kit
For *in vitro* use only

1- INTENDED USE

AMNISTRIP is a simple and rapid test that allows *in vitro* detection of IGFBP-1 (Insulin Growth Factor Binding Protein 1) from a vaginal swab sample. AMNISTRIP test is intended to detect rupture of fetal membranes in pregnant woman from a vaginal swab sample.

2- INTRODUCTION

The premature rupture of membranes or PROM is relatively frequent and concerns 5 to 10 % of pregnancy cases. It might lead to preterm delivery and fetal infection. The leakage of amniotic liquid is not always detectable by conventional clinical examination and confirmatory biological test is sometimes useful. Biological tests are based on vaginal detection of alkalization (easy to proceed, sensitive, inexpensive but poorly specific) or presence of a molecule which is physiologically present in high concentration in amniotic fluid (diamine oxidase, alpha feto protein, fibronectin, IGFBP-1).

3- PRINCIPLE

A monoclonal antibody is immobilized on a nitrocellulose membrane. After collection of vaginal sample, the swab is dipped into an extraction solution. IGFBP-1 from the sample will flow along the membrane and will be captured at the level of the capture antibody. The color signal is generated by gold colloidal particles on which is immobilized a specific IGFBP-1 antibody that will bind to the antigen-antibody complex, thus creating a purple colored line. Presence of purple internal control band in the upper part of the membrane allows validation of a correct procedure.

4- LIMITS OF THE TEST

- 1) The test procedure, precautions and interpretation of results for the test must be strictly followed.
- 2) As with all diagnostic tests, the test result must be consistent with clinical findings.
- 3) False positive results might be linked to presence of IGFBP-1 coming from important bleeding or from decidual cells of the cervix when cervix is mature enough.
- 4) False negative results might appear when test is performed more than 12 hours after the leakage of amniotic fluid has stopped.
- 5) The swab has to be diluted in extraction tube immediately after collection of sample. Then the tube can be kept for 6 hours maximum at RT or 4°C before running the test as proteases in vaginal secretions may alter IGFBP1 if stored longer than 6 hours.

5- PROVIDED MATERIAL

AMNISTRIP contains following items to perform the assay.

- Instructions for use
-  Dipstick packed in individual pouch with desiccant bag
- Plastic pouches containing following items :
 - Sterile Dacron vaginal swab
 - Unit dose vial of extraction buffer 

6- NECESSARY MATERIAL BUT NOT PROVIDED

- Stop watch with alarm

7- COLLECTION AND CONSERVATION OF THE SAMPLE

Use the sterile Dacron swab to collect secretions on the vaginal wall. Open the swab bag and place the swab into the vagina (5 cm depth) for 1 minute.

Alternatively, speculum may be used and vaginal secretion may be collected by leaving the swab into the vagina (5cm depth) for 15 seconds. Collection of sample from the cervix or from the posterior fornix should be avoided. The epithelial cells located in those zones may contain elevated levels of phosphorylated IGFBP-1 that may cross react with the test.

8- PRECAUTIONS

- 1) Use disposable gloves while handling potentially infectious material and performing the assay.
- 2) Do not eat, smoke, or drink while handling specimens.
- 3) Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
- 4) Do not use the kit beyond the expiration date.
- 5) Do not open the foil pouch until it attains room temperature to prevent formation of condensation.
- 6) For best results, follow the test procedure and storage instructions strictly.
- 7) Do not reuse the test strips, swabs, or dilution tubes

9- QUALITY CONTROL

An internal control procedure is incorporated in the test (control band). This allows to control that the procedure has been correctly performed.

10- STORAGE AND STABILITY

AMNISTRIP test is packed in aluminium pouch with dessicant bag. Test has to be stored in a dry and cool area at 2-30°C. Kit has a shelf life of 18 months from the date of manufacturing. The strips should not be frozen and must be protected from humidity. Once the pouch is open, the test should be performed within 1 hour maximum.

11- PROCEDURE

- 1) Bring the complete kit and samples to be tested to room temperature prior to testing.
- 2) Once the strip pouch is opened, it must be used within one hour.
- 3) Open the unit dose vial and lay it vertically on a flat and horizontal surface.
- 4) Dip the swab into the unit dose vial and rotate for 10 seconds. Then discard the swab.
- 5) Dip the strip into the vial with arrows pointing downwards. Gently hit the dipstick on the bottom of the tube to enhance migration. Keep the strip in the tube in vertical position for 10 minutes.
- 6) Read the result after 10 minutes from the time the strip is dipped in the tube. **Do not interpret any Test band appearing 15 minutes after the strip is dipped in the vial.**

12- INTERPRETATION OF THE RESULT

POSITIVE :

Presence of a purple test line (even if intensity is weak) and a purple control line.

Presence of amniotic fluid in sample

NEGATIVE :

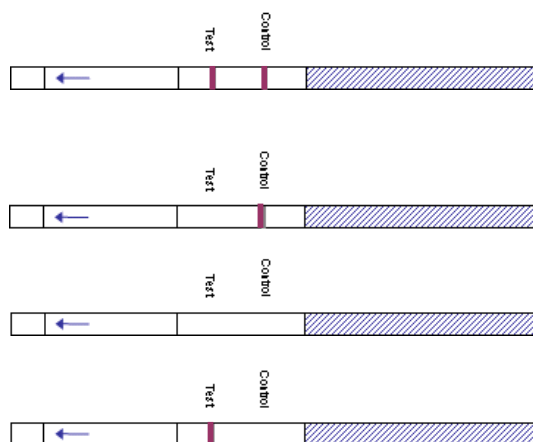
Absence of purple test line and presence of a purple control line

Amniotic fluid is not present in sample

INVALID :

Absence of purple control band

A wrong procedure and high viscosity of sample are the two most frequent causes of invalid results. The test has to be run again with a new strip



13- PERFORMANCES CHARACTERISTICS

Detection limit:

A panel of amniotic fluids from 2nd trimester to 3rd trimester have been evaluated in a spiking assay. In all cases, AMNISTRIP was able to detect at least 1 µL of amniotic fluid.

Clinical evaluation:

In a hospital clinical study, AMNISTRIP test was compared to another lateral flow dipstick PROM test. As there is no real means to confirm the diagnostic of minor PROM for validating the biological tests, PROM was considered as confirmed if delivery occurs within 48 hours after testing. This is a subjective criteria which is usually admitted by gynecologists.

On 94 complete cases:

- The 2 tests were negative in 31 cases for whom delivery always occur more than 48 hours after testing;
- The two tests were positive in only 38 cases. In 37 cases, delivery occurred within 48 hours after testing;
- In the remaining 25 cases, there was always the same discrepancy : AMNISTRIP test was positive whereas the other PROM test was negative ; in only 2 cases, the delivery occurs more than 48 hours after testing and for all the others : 48 hours before testing ;

Those results show a better sensitivity for the AMNISTRIP test, without significant loss of specificity compare to the other test.

Number of samples	Occurrence of delivery	AMNISTRIP	Other test
31	More than 48 hours after testing	-	-
2	More than 48 hours after testing	+	-
1	More than 48 hours after testing	+	+
37	Within 48 hours	+	+
23	Within 48 hours	+	-

AMNISTRIP

	RUPTURE (Delivery within 48 hours)	NO RUPTURE (Delivery occurs more than 48 hours after testing)
AMNISTRIP POSITIVE	60	3
AMNISTRIP NEGATIVE	0	31

Sensitivity = $60/60 = 100\%$

Specificity = $31/34 = 91\%$

OTHER TEST

	RUPTURE (Delivery within 48 hours)	NO RUPTURE (Delivery occurs more than 48 hours after testing)
TEST POSITIVE	37	1
TEST NEGATIVE	23	33

Sensitivity = $37/60 = 62\%$

Specificity = $33/34 = 97\%$

14- BIBLIOGRAPHY

1. Friedman ML, McElin TW. Diagnosis of ruptured fetal membranes. Am J Obstet Gynecol 1969;104:544-550
2. Steinman G, Kleiner GJ, Greston WM. Spontaneous rupture of membranes. NY St. J Med 1979;1849-1851
3. Koninckx PR, Trappeniers H, van Assche FA. Prolactin concentration in vaginal fluid: a new method for diagnosing ruptured membranes. Br J Obstet Gynaecol 1981;88:607-610
4. 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
5. Bell SC, Hales MW, Patel SR, Kirwan PH, Drife JO, Milford-Ward A. Amniotic fluid concentrations of secreted pregnancy-associated endometrial alpha1 and alpha2 globulins (alpha1 and alpha2 PEG). Br J Obstet Gynaecol 1986;93:909-915
6. Suikkari AM, Rutanen EM, Seppälä M. Circulating levels of immunoreactive insulin-like growth factor-binding protein in non-pregnant women. Hum Reprod 1987;2:297-300

7. Bell SC, Keyte JW; N-terminalo amnio acid sequence of human pregnancy-associated endometrial alpha1-globulin, an endometrial insulin-like growth factor (IGF) binding protein – Evidence for two small molecular weight IGF binding proteins. *The Endoc Soc* 1988:1202-1204
8. 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
9. Medina TM, Hill DA. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management. *Am Fam Physic* 2006;73: 659-664
10. Lockwood CJ, Wein R, Chien D, Ghidini A, Alvarez M, Berkowitz RL. Fetal membrane rupture is associated with the presence of insulin-like growth factor-binding protein-1 in vaginal secretions. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:146–150
11. 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 foetale dans les sécrétions cervico-vaginales pour le diagnostic de la rupture prématurée des membranes. *Ann Clin Biochem* 1999 :36 :388-390
12. Sucak A, Moroy P, Cakmak P, Mungan T, Mollamahmutoglu L, Danisman N. Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-I; a rapid detection of amniotic fluid leakage after amniocentesis. *Turk J Med Sci* 2005;35:157-161
13. Talabani H, Recoules A, Grenier S, Luton D, Paper T, Porquet D, Oury JF, Guibourdenche J. L'alpha1-microglobuline placentaire dans les sécrétions vaginales : un nouveau marqueur de la rupture prématurée des membranes. *Act Pharm Biol Clin* 2005 :12 :233-240
14. Akercan F, Cirpan T, Kazandi M, Terek MC, Mgoyi I, Ozkinay E. The value of insulin-like growth factor binding protein-1 in the cervical-vaginal secretion detected by immunochromatographic dipstick test in the prediction of delivery in women with clinically unconfirmed preterm premature rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol* 2005;121:159-163

Revision date: 2010-02-26