

Manuale d'istruzioni

Test rapido per la determinazione di IGFBP-1

(Insulin Growth Factor Binding Protein 1 - cut-off 25 ng/mL)

TR1001-10

(versione 1.9 - 09/2019)

Simboli e Istruzioni

Simbolo	Istruzione
	<i>Vedere il manuale d'uso</i>
	<i>Per uso diagnostic in vitro</i>
	<i>Conservare fra 2 e 30°C</i>
	<i>Test per kit</i>
	<i>Aperto da</i>
	<i>Numero di lotto</i>
	<i>Produttore</i>
	<i>Non riutilizzare</i>
	<i>Codice</i>
	<i>Marchio CE</i>

BSNScreen PROM Test IGFBP-1

Test rapido per la determinazione di IGFBP-1 (Insulin Growth Factor Binding Protein 1)

1.UTILIZZO PREVISTO

BSNScreen PROM è un test rapido che permette la determinazione *in vitro* di IGFBP-1 (Insulin Growth Factor Binding Protein 1) da campione di tampone vaginale. *BSNScreen PROM* test determina la rottura delle membrane fetali in donne in gravidanza da campione di tampone vaginale.

2.INTRODUZIONE

La rottura prematura delle membrane (PROM) è relativamente frequente: coinvolge il 10% delle gravidanze. Può causare parti pre-termine e gravi infezioni nel feto. La perdita di liquido amniotico non sempre è evidenziabile con gli esami clinici convenzionali. Per questo motivo sono fondamentali i test biologici.

Questi test confermativi sono basati:

- su determinazione vaginale o alcalinizzazione (metodo semplice ed economico, ma poco sensibile e poco specifico)
- su presenza anormale di elevate concentrazioni di proteine ovariali (IGFBP-1, diamina ossidasi, fibronectina fetale, fetoproteina alfa) nel fluido amniotico.

3.PRINCIPIO DEL TEST

Il *BSNScreen PROM Test Card* è un test immunocromatografico a sandwich e per cattura. Esso combina un anticorpo monoclonale legato a particelle d'oro colloidali e anticorpi monoclonali fissati sulla membrana.

Durante la migrazione del fluido l'anticorpo monoclonale legato alle particelle d'oro colloidali fissa l'IGFBP-1 presente nel campione. Il secondo anticorpo monoclonale, che è specifico per l'anticorpo dell'IGFBP-1, cattura il complesso antigene-anticorpo generando una colorazione porpora della banda del test: il test sarà positivo. La comparsa della banda porpora del controllo C consente la validazione della corretta procedura di analisi.

4.CONSERVAZIONE E STABILITA'

Conservare il kit in un luogo asciutto a una temperatura compresa fra 2 e 30 °C. Il kit è stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Non congelare il kit.

5. PRECAUZIONI

- *BSNScreen PROM Test Card* è per uso professionale diagnostico *in vitro*.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- Non utilizzare il test se l'involucro di alluminio risulta danneggiato.
- Tutti i campioni devono essere considerati come potenzialmente infettivi e manipolati come agenti infettivi. Per ciascun campione deve essere usato un nuovo tampone per evitare contaminazioni.
- Il test deve essere smaltito nell'apposito contenitore per i rifiuti dopo l'utilizzo.
- Il buffer potrebbe avere una precipitazione e una variazione di colore (giallo-ocra) senza influire sul risultato

6. RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

Tampone per il campione:

Utilizzare un tampone sterile Dacron per raccogliere le secrezioni vaginali sulla parete della vagina. Aprire l'involucro del tampone e infilare con precauzione il tampone nella vagina per una profondità di 5 cm per 1 minuto.

Utilizzando uno speculum il tempo di raccolta del campione si riduce a 15 secondi. Evitare di prelevare il campione dalla fornice posteriore o dalla cervice: le cellule epiteliali di queste zone possono contenere un livello elevato di IGFBP-1 fosforilata che può crossreagire con il test. Infilare il tampone nella provetta con il diluente per il campione e seguire la procedura del test come sotto.

I campioni devono essere processati appena possibile dopo la raccolta. Possono comunque essere conservati in frigorifero (2-4°C) per 8 ore prima di essere testate.

7.MATERIALE FORNITO

BSNScreen PROM contiene I seguenti componenti.

- Nr. 1 Istruzioni per l'uso.
- Nr. 10 Tampone vaginale Dacron sterile
- Nr. 10 Buffer 0,1 PBS (diluente del campione)
- Nr. 10 Card IGFBP-1 impacchettate singolarmente con sacchetto dessiccante

8.MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

Guanti monouso

Timer

9.PROCEDURA DEL TEST

Consentire al test e ai tamponi di raggiungere la temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'utilizzo. Non aprire la confezione fino a quando il test non sia pronto. Portare a temperatura solo i test necessari.

- 1) Infilare il tampone nella vagina a una profondità di 5~7cm per 15~20s.
- (2) Aprire il tappo del buffer e infilare immediatamente il tampone nella provetta.
- (3) Mescolare la soluzione ruotando il tampone contro le pareti della provetta per almeno 10s. I migliori risultati si ottengono quando il campione viene estratto con vigore nella soluzione. Estrarre quanto più campione possibile dal tampone. Eliminare il tampone e rimettere il tappo gocciolatore.
- (4) Disporre la card IGFBP-1 su una superficie piatta. Aprire la punta del tappo della provetta del buffer e dispensare 3 gocce o 150µl nella finestra quadrata dalla parte della coda della freccia rosa.
- (5) Leggere I risultati dopo 5 minuti ed entro i 10 minuti.

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI (RIFERIRSI ALLE IMMAGINI SOTTOSTANTI)



NEGATIVO	Appare solo una banda nella finestra centrale nella posizione marcata con la lettera C (banda di controllo).
POSITIVO	In aggiunta alla banda del controllo (C) appare anche una banda nella posizione marcata con la lettera T (banda del test).
INVALIDO	Assenza totale della banda del controllo (C), indipendentemente dalla comparsa della banda del test: insufficiente volume di campione, procedura non corretta o deterioramento dei reattivi. Rivedere la procedura e ripetere il test con una nuova card. Se il problema persiste, contattare il distributore.

11.NOTE SULL'INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'intensità della banda del test varia a seconda della concentrazione di antigene nel campione. Comunque il risultato del test è qualitativo.

12.CONTROLLO DI QUALITA'

Nel test è incluso un controllo interno procedurale (banda di controllo C). La presenza conferma il sufficiente volume del campione e la corretta procedura utilizzata.

13.LIMITAZIONI

- (1) Per l'affidabilità dei risultati, rispettare le precauzioni e seguire la procedura del test. Per l'interpretazione dei risultati riferirsi alle istruzioni per l'uso.
- (2) Come per ogni test diagnostico, confrontare i risultati con le evidenze cliniche.
- (3) Considerare che la presenza di IGFBP-1 nelle secrezioni vaginali, derivante da un sanguinamento importante o da cellule deciduali quando la cervice è matura, può dare risultati falsi positivi. I falsi negativi possono comparire quando il test è stato effettuato dopo oltre 12 ore dall'interruzione della perdita di liquido amniotico.
- (4) Il tampone deve essere diluito nel tubo di estrazione immediatamente dopo la raccolta del campione. Poi il tubo può essere conservato fino a 6 ore a temperatura ambiente o a 4°C prima di effettuare il test: per tempi più lunghi, le protease nelle secrezioni vaginali possono alterare IGFBP-1.

14.PRESTAZIONI

1) Limite di determinazione:

Sono stati valutati fluidi amniotici dal secondo al terzo trimestre in un saggio per aggiunta. In tutti i casi, *BSNScreen PROM* Test ha determinato almeno 1 µL di fluido amniotico.

2) Valutazione clinica:

BSNScreen PROM test è stato confrontato, in uno studio clinico ospedaliero, con un altro test rapido PROM. Si è considerata rottura prematura delle acque (PROM) se il parto è avvenuto entro 48 ore dal test: questo è un criterio soggettivo adottato dai ginecologi.

Su 94 casi complessivi:

- I due test sono risultati negativi in 31 casi per i quali il parto è avvenuto dopo oltre 48 ore dal test.
- I due test sono risultati positivi in 38 casi. In 37 casi, il parto è avvenuto entro 48 ore dal test.
- Nei rimanenti 25 casi c'è stata la medesima discrepanza: *BSNScreen PROM* test era positivo mentre l'altro PROM test era negativo; solo in 2 casi il parto è avvenuto dopo oltre 48 ore dal test, per tutti gli altri entro le 48 ore.

I risultati seguenti mostrano una migliore sensibilità del *BSNScreen PROM* test senza significativa perdita di specificità rispetto all'altro test.

N° di campioni	Avvento del parto	<i>BSNScreen PROM</i>	Altro test
31	Oltre 48 ore dal test	-	-
2	Oltre 48 ore dal test	+	-
1	Oltre 48 ore dal test	+	+
37	Entro 48 ore dal test	+	+
23	Entro 48 ore dal test	+	-

BSNScreen PROM	ROTTURA (Parto entro 48 ore)	NON ROTTURA (Parto dopo oltre 48 ore)
Positivo	60	3
Negativo	0	31

Sensibilità = 60/60 = 100%

Specificità = 31/34 = 91%

ALTRO TEST

Prom Test commerciale	ROTTURA (Parto entro 48 ore)	NON ROTTURA (Parto dopo oltre 48 ore)
Test Positivo	58	1
Test Negativo	2	33

Sensibilità = 58/60 = 96.6%

Specificità = 33/34 = 97%

Sensibilità

La determinazione di Prom con *BSNScreen PROM* Test ha mostrato il 98% di sensibilità in comparazione alla diagnosi clinica.

Specificità

La determinazione di Prom con *BSNScreen PROM* Test ha mostrato il 94% di specificità in comparazione alla diagnosi clinica.

Riproducibilità

La precisione inter e intra lotto del test è stata determinata utilizzando campioni in replicato a 3 diverse concentrazioni del controllo positivo e un controllo negativo analizzati con kit di tre lotti diversi. Ciascun campione è stato analizzato 11 volte in parallelo. I dati hanno dimostrato il 100% di precisione per il duplicato del campione e il 100% di precisione usando i diversi lotti

15. BIBLIOGRAFIA

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



B.S.N. S.r.l.
 Via del Lavoro 18/20, 26012 Castelleone - Italy
 Telefono: +39-0374/351005
 Fax: +39-0374/57965
 e-mail: info@bsn-srl.it
 website: www.bsn-srl.it

