

UTILISATION

PRO-Mcomplete™ est un test immunochromatographique simple et rapide destiné à la détection qualitative *in vitro* des IGFBP-1 (Insulin-like Growth Factor-Binding Protein-1, protéines de liaison du facteur de croissance insulinique 1) et des AFP (Alpha-FetoProtein, alphafoetoprotéines) dans le fluide amniotique prélevé avec un écouvillon vaginal.

PRO-Mcomplete™ est un test au chevet de la patiente conçu pour faciliter la détection d'une rupture des membranes fœtales chez les femmes enceintes montrant des signes et/ou des symptômes d'une éventuelle rupture des membranes. Le produit est disponible en trois tailles permettant de réaliser un, cinq ou dix tests.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La rupture prématurée des membranes (RPM) complique environ 8 % des grossesses et est généralement suivie de la survenue rapide du travail spontané et de l'accouchement. La RPM avant terme présente des complications pour seulement 2 % des grossesses, mais elle est associée à 40% des accouchements avant terme et peut entraîner une morbidité et une mortalité néonatale significative¹. Il a été montré que l'infection intra-amniotique est souvent associée à une RPM avant terme, en particulier au début de la gestation². Actuellement, le diagnostic de RPM se base principalement sur les antécédents et sur un examen physique de la patiente. Le diagnostic de rupture de membrane est habituellement confirmé par la visualisation du liquide amniotique s'écoulant du canal cervical et s'accumulant dans le vagin, par une analyse du pH du fluide vaginal ou par l'arborisation (aspect en fougère) du fluide vaginal sec, qui est identifiée par examen au microscope².

PRO-Mcomplete™ propose un outil alternatif afin de faciliter le diagnostic de RPM en identifiant les protéines de liaison du facteur de croissance insulinique 1 (IGFBP-1) et les alphafoetoprotéines (AFP). L'ajout des AFP augmente la sensibilité PRO-Mcomplete™ par rapport à l'analyse des IGFBP-1 seules.

PRINCIPE DU TEST

Un échantillon de fluide vaginal est prélevé avec un écouvillon stérile. Après le prélèvement, l'écouvillon est placé dans le flacon de tampon d'extraction, le liquide de l'échantillon est exprimé de l'écouvillon et l'échantillon est alors ajouté au dispositif à écoulement latéral contenant des anticorps monoclonaux appariés anti-IGFBP-1 et anti-AFP. Chaque paire est immobilisée sur de la nitrocellulose au niveau d'une ligne de test marquée. Le deuxième anticorps de chaque paire est marqué avec de l'or colloïdal. L'échantillon extrait migre à travers le dispositif à écoulement latéral et les anticorps marqués à l'or colloïdal se lient aux IGFBP-1 et aux AFP éventuellement présentes dans l'échantillon. Lorsque l'échantillon migre sur les anticorps monoclonaux immobilisés, les IGFBP-1 ou les AFP, désormais marqués avec de l'or colloïdal, se lient aux anticorps monoclonaux immobilisés sur une ligne, ce

qui génère une ligne visible pour chaque marqueur. Une immunoglobuline de lapin dirigée contre les immunoglobulines de souris est également liée à la nitrocellulose en aval des lignes d'IGFBP-1 et d'AFP et capture les anticorps monoclonaux marqués à l'or, que des IGFBP-1 ou des AFP soient présentes ou non, ce qui entraîne une ligne de contrôle (C) visible permettant de confirmer que les réactifs du test fonctionnent correctement et que l'échantillon a été ajouté de la manière adéquate.

MATÉRIEL/RÉACTIFS FOURNIS

Référence	Description	PL.950-1 (1 test)	PL.950-5 (5 tests)	PL.950-10 (10 tests)
PL.951	Cassette AFP/IGFBP-1 emballée individuellement dans une poche en aluminium contenant un produit déshydratant : chaque cassette contient des anticorps monoclonaux de souris spécifiques dirigés contre les AFP et les IGFBP-1 ainsi que des anticorps polyclonaux de lapin spécifiques dirigés contre les immunoglobulines de souris.	1 cassette	5 cassettes	10 cassettes
PL.952	Tampon d'extraction : chaque flacon contient 1 ml de tampon avec un conservateur.	1 flacon	5 flacons	10 flacons
520CS01	Écouvillons stériles emballés individuellement.	1 écouvillon	5 écouvillons	10 écouvillons

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un chronomètre de laboratoire standard.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Le kit doit être conservé dans un environnement sec, réfrigéré ou à température ambiante (2-30°C). Dans ces conditions, le kit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée. Une fois que la poche en aluminium contenant la cassette de test est ouverte, le test doit être réalisé **dans l'heure suivante**.

PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- **Pour usage diagnostique *in vitro*.**
- Ne pas ouvrir la poche en aluminium avant que sa température ne s'équilibre à température ambiante pour éviter la condensation.
- Ne pas utiliser le kit après la date de péremption.
- Tous les échantillons des patientes doivent être manipulés comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Après utilisation, éliminer l'écouvillon de la patiente et la cassette de test de manière appropriée.
- Les composants du kit sont conçus pour un usage unique.
- Ne pas échanger ou mélanger les réactifs de différents kits et lots.

- Ne pas utiliser la cassette si la poche en aluminium est endommagée ou déjà ouverte.
- Le dispositif contient des produits d'origine animale et doit être manipulé comme s'il s'agissait d'un vecteur potentiel de maladies.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Utiliser l'écouvillon stérile pour prélever des sécrétions vaginales. Ouvrir l'emballage de l'écouvillon et placer l'écouvillon dans le vagin (sur une profondeur d'environ 5 cm) pendant au moins 15 secondes. Cette procédure ne nécessite pas de spéculum.

PROCÉDURE DU TEST

1. Les composants du kit de test et les échantillons doivent être utilisés à température ambiante.
2. Ouvrir le flacon de tampon d'extraction en dévissant le capuchon noir et le tenir à la verticale.
3. Plonger l'écouvillon contenant les sécrétions vaginales dans le tampon d'extraction et tourner pendant 10 secondes. Faire pression sur l'écouvillon contre les parois du flacon afin d'expulser autant de liquide que possible de l'écouvillon, puis éliminer l'écouvillon. Fermer le tube en vissant le capuchon noir. **Remarque : il est possible de conserver l'échantillon jusqu'à 6 heures à température ambiante avant de passer à l'étape suivante.**
4. Agiter le tampon d'extraction pour mélanger le contenu et taper sur le fond pour s'assurer que le liquide est au fond du flacon.
5. Ouvrir la poche en aluminium contenant la cassette de test la placer sur une surface plane.
6. Dévisser le capuchon transparent du compte-gouttes du flacon d'extraction, le tenir à la verticale au-dessus du puits de l'échantillon (5) de la cassette et déposer 3 gouttes d'échantillon extrait en appliquant une légère pression sur les parois du flacon. Éviter les bulles d'air dans le puits de l'échantillon ou les éclaboussures de liquide sur la fenêtre des résultats.
7. Démarrer le chronomètre. Au fur et à mesure du déroulement du test, il est possible de voir un liquide de couleur rougeâtre migrer à travers la membrane.
8. Lire le résultat après 10 minutes. Il est possible que certains échantillons soient clairement positifs avant 10 minutes. **Remarque : ne pas interpréter le résultat du test après que 15 minutes se soient écoulées.**
9. Éliminer les composants du test et l'échantillon conformément aux procédures pour les déchets potentiellement infectieux.

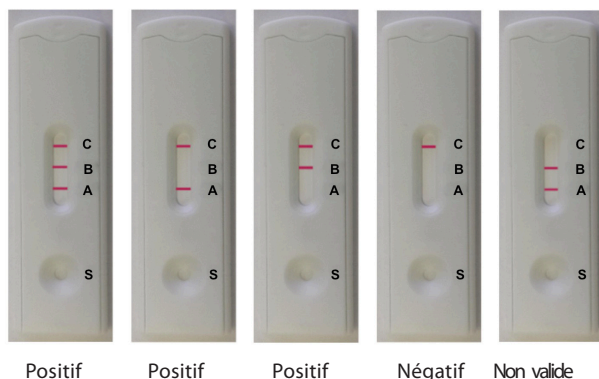
PROCÉDURES DE CONTRÔLE QUALITÉ

- Des contrôles internes de la procédure sont inclus dans le test. Une ligne de couleur apparaissant dans la zone de contrôle (C) signifie qu'un volume suffisant d'échantillon a été déposé et que l'opérateur a suivi correctement la procédure.
- Un contrôle positif externe contenant des IGFBP-1 et des AFP (vendu séparément) est disponible (PL.953).



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Le résultat du test est considéré comme positif si la bande IGFBP-1 (B) ou la bande AFP (A) est présente ou si les deux bandes sont présentes. Même une bande à peine visible doit être considérée comme un résultat positif. Si aucune de ces bandes n'est présente, le résultat du test est considéré comme négatif.
- La bande de contrôle, la ligne C, doit être présente afin que le test soit valide. En l'absence de bande de contrôle, réviser la procédure et la répéter avec un nouveau dispositif.
- Des exemples de résultat de test positif, négatif et non valide sont illustrés ci-dessous. Remarque: la couleur de la ligne va du rouge au violet en fonction de l'échantillon



LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Les résultats du test doivent être utilisés en conjonction avec des signes cliniques de rupture de membrane.
- La présence d'une quantité significative de sang dans l'échantillon peut entraîner des résultats faussement positifs.
- Il est possible d'obtenir des résultats faussement négatifs quand le test est réalisé plus de 12 heures après l'apparition des symptômes.
- L'écouvillon contenant l'échantillon de sécrétions vaginales doit être placé dans le flacon d'extraction immédiatement après le prélèvement de l'échantillon pour éviter la dégradation protéolytique des marqueurs analysés.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Des études de laboratoire ont déterminé la limite de détection et la reproductibilité du PRO-Mcomplete™. Des études supplémentaires ont déterminé la spécificité du test et l'effet de substances potentiellement interférentes.

- La limite de détection des IGFBP-1 était de 20 ng/ml et la limite de détection des AFP était de 5,0 ng/ml. La plage de dosage était de 20-200 000 ng/ml pour les IGFBP-1 et de 5 -200 000 ng/ml pour les AFP.
- La reproductibilité a été déterminée avec un personnel clinique sur trois sites différents. Trois personnes de chaque site ont testé des échantillons masqués qui étaient négatifs, négatifs à la limite, positifs à la limite et positifs, en triple. Tous les résultats du test, sur les trois sites cliniques, étaient cohérents avec les résultats attendus, ce qui démontre la reproductibilité du test.
- Des substances potentiellement interférentes, notamment

des fluides corporels (urine des femmes enceintes durant le troisième trimestre et liquide séminal, les deux à une concentration finale de 10 % ; sang de femmes enceintes durant le troisième trimestre à une concentration finale de 2 %), des médicaments (hydrocortisone, aspirine et paracétamol à une concentration finale de 0,1 %) et des produits d'hygiène (savon liquide, shampoing, crème hydratante à une concentration finale de 0,1 %) ont été évaluées pour déterminer leurs effets sur les performances du PRO-Mcomplete™. Parmi les substances testées, seul le sang à des concentrations élevées a présenté des interférences car il a entraîné des résultats faussement positifs.

- Des études de spécificité ont montré que le PRO-Mcomplete™ n'a pas réagit avec des protéines apparentées aux molécules cibles (IGFBP-2, 3, 4, 5, 6 à 5 µg/ml) ou abondantes dans les sécrétions vaginales (antitrypsine, albumine, glycoprotéine de type alpha, HCG, gammaglobuline, transferrine, haptoglobine, macroglobuline, lactogène à 5 µg/ml).

Une étude prospective multicentrique a évalué la sensibilité et la spécificité du PRO-Mcomplete™ dans des établissements cliniques. L'étude a testé 324 femmes enceintes présentant des signes et/ou des symptômes de rupture prématurée des membranes. Nous avons déterminé la sensibilité et la spécificité du PRO-Mcomplete™ par rapport au diagnostic clinique. Les résultats de test discordants (résultats de test faussement positifs ou faussement négatifs) ont été résolus par un examen du dossier après l'accouchement chez les patientes qui ont accouché dans les 24 heures et se sont avérés être des vrais positifs. La population de l'étude a compris des femmes enceintes à 15-42 semaines de gestation et présentant des signes et/ou des symptômes de rupture prématurée des membranes.

Un clinicien a prélevé l'échantillon de sécrétions vaginales en utilisant l'écouvillon stérile fourni et a placé l'échantillon dans le flacon de tampon d'extraction fourni. L'échantillon a été transféré à un autre clinicien, ne connaissant pas le diagnostic de la patiente, qui a réalisé et interprété le test. Ceci a été effectué pour éviter les biais possibles pouvant affecter l'interprétation du test.

Les résultats combinés de l'étude sur les 324 patientes sont présentés dans le tableau ci-dessous. Initialement, 28 patientes étaient positives avec le PRO-Mcomplete™ mais négatives selon le diagnostic clinique. Un examen ultérieur du dossier a indiqué que 15 de ces patientes ont accouché dans les 24 heures suivantes et ont donc été classées comme étant des résultats vraiment positifs.

Résultat du PRO-Mcomplete™	Diagnostic clinique		Résultat du PRO-Mcomplete™	Diagnostic clinique/accouchement dans les 24 heures	
	Positif	Négatif		Positif	Négatif
Positif	192	28	Positif	207	13
Négatif	7	97	Négatif	7	97
Sensibilité : 96,5 % (92,6-98,4 %)* Spécificité : 77,6 % (69,1-84,4 %) VPP : 87,3 % (82,0-91,2 %) VPN : 93,3 % (86,1-97,0 %)			Sensibilité : 96,7 % (93,1-98,6 %) Spécificité : 88,2 % (80,3-93,3 %) VPP : 94,1 % (89,9-96,7 %) VPN : 93,3 % (86,1-97,0 %)		

*Intervalles de confiance à 95 %.

Les résultats de l'étude clinique combinée se sont basés sur le diagnostic clinique/accouchement dans les 24 heures et ont été classés selon la durée de gestation sont indiqués dans le tableau suivant.

Plage de durée de gestation*	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
<34 semaines	100 % (73,2-100 %)** (14/14)	90,6 % (73,8-97,5 %) (29/32)	82,4 % (55,8-95,3 %)	100 % (85,4-100 %)
34-36 semaines	96,7 % (80,9-99,8 %) (29/30)	100 % (83,4-100 %) (25/25)	100 % (85,4-100 %)	96,1 % (78,4-99,8 %)
≥37 semaines	96,4 % (92,0-98,5 %) (161/167)	80 % (64,9-89,9 %) (36/45)	94,7 % (89,9-97,4 %)	85,7 % (70,8-94,1 %)

*La durée de gestation n'était pas disponible pour 11 patientes

**Intervalles de confiance à 95 %.

BIBLIOGRAPHIE

- Alexander JM et al.** Clinical course of premature rupture of the membranes. *Semin Perinatol.* 1996; 20:369-374.
- Medina TM et al** Preterm premature rupture of membranes: diagnosis and management. *Am Fam. Physician* 2006; 73:659-664.

	= Fabricant
	= Contenu suffisant pour (n) tests
	= Dispositif médical de diagnostic in vitro
	= Limite de température
	= Consulter la notice d'utilisation