



Test immunoenzimatico
della fibronectina fetale
e Rapid fFN™ per il
sistema TLiQ®

INFORMAZIONI PER OPERATORI SANITARI UN TEST CHE AIUTA NELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI PARTO PRETERMINE

Questo opuscolo è stato preparato da Hologic, Inc. affinché possiate familiarizzare con l'interpretazione clinica del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o del Rapid fFN per il sistema TLiQ®. Assieme ad altre informazioni cliniche, l'esecuzione di un test per verificare la presenza di fibronectina fetale nelle secrezioni cervicovaginali di donne con sospetto travaglio pretermine e di donne che si sottopongono a terapie prenatali di routine aiuterà voi e i vostri pazienti a ottenere informazioni importanti sulle gravidanze, compresa la valutazione del rischio di parto pretermine. Altre copie di questo opuscolo sono disponibili chiamando il 1-888-PRETERM oppure il +1 (508) 263-2900.

USO PREVISTO

Il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il Rapid fFN per il sistema TLiQ sono dispositivi da utilizzare come aiuto nella valutazione del rischio di parto pretermine in ≤ 7 oppure ≤ 14 giorni dal raccoglimento del campione cervicovaginale in donne incinte con segni e sintomi di travaglio pretermine, membrane amniotiche intatte e dilatazione cervicale minima (< 3 cm), esaminate tra 24 settimane, 0 giorni e 34 settimane, 6 giorni di gestazione.

I valori negativi di previsione del test immunoenzimatico della fibronectina fetale di 99,5% e 99,2%, per parto in ≤ 7 e ≤ 14 giorni, rispettivamente, fanno sì che sia molto probabile che il parto non avvenga in questi periodi di tempo. Inoltre, sebbene i valori positivi di previsione rilevati siano 12,7% e 16,7% per parto in ≤ 7 e ≤ 14 giorni, rispettivamente, ciò rappresenta un aumento dell'affidabilità di previsione del parto di circa quattro volte rispetto all'affidabilità in assenza di informazioni ottenute dal test.

Questi dispositivi sono inoltre indicati per l'utilizzo con altre informazioni cliniche come aiuto nella valutazione del rischio di parto pretermine in ≤ 34 settimane, 6 giorni, quando è prelevato un campione cervicovaginale durante una visita prenatale di routine tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni di gestazione in donne con gestazione singola. Il valore negativo di previsione del test immunoenzimatico della fibronectina fetale va da 96,4% a 97,9%, facendo sì che sia molto probabile che il parto non avvenga in questi periodi di tempo. Il valore positivo di previsione va da 13,3% a 31,7% per parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni, e questo rappresenta un aumento di rischio relativo alla previsione del parto di circa 4-7 volte rispetto all'affidabilità in assenza di informazioni ottenute dal test.

L'utilità clinica di un risultato del test della fibronectina fetale in tempo reale che è rapidamente disponibile usando Rapid fFN rappresenta un miglioramento significativo e necessario nell'abilità di gestione di un travaglio pretermine che potrebbe risultare in un parto pretermine.

PARTO PRETERMINE: IL DILEMMA CLINICO

Dei circa 4.000.000 di parti che si verificano ogni anno negli Stati Uniti, circa 400.000 sono prematuri. Il parto pretermine, definito dall'American College of Obstetricians and Gynecologists come il parto precedente alla 37° settimana di gestazione, è responsabile della maggior parte della morbilità e della mortalità perinatale non cromosomica (1-4). I sintomi associabili a una minaccia di parto pretermine comprendono contrazioni uterine, cambiamenti nelle perdite vaginali, sanguinamento vaginale, mal di schiena, disturbi addominali, pressione pelvica e crampi. Le modalità diagnostiche per l'identificazione della minaccia di un parto prematuro comprendono il monitoraggio dell'attività uterina e l'esecuzione di un esame digitale del collo dell'utero, che consente di stimarne le dimensioni. Questi metodi si sono dimostrati limitati, poiché la dilatazione minima del collo dell'utero (< 3 centimetri) e l'attività uterina si verificano normalmente e non sono necessariamente sintomi di un imminente parto prematuro (5,12,14). Sebbene siano stati valutati diversi marcatori biochimici di siero, nessuno di essi è stato ampiamente accettato per l'uso clinico pratico (6,7). La fibronectina fetale cervicovaginale, misurata usando un test immunoassorbente legato all'enzima o il Rapid fFN, ha ottenuto un'accettazione sempre maggiore nell'ambito dell'uso clinico pratico.

FIBRONECTINA FETALE: PRESENZA NELL'INTERFACCIA MATERNO-FETALE

La fibronectina fetale, un'isoforma della fibronectina, è un componente principale della matrice extracellulare delle membrane del sacco amniotico. La fibronectina fetale può essere distinta da altri membri della famiglia della fibronectina per la presenza di una regione unica, nota come il dominio III-CS. Gli scienziati hanno sviluppato un anticorpo monoclonale, chiamato FDC-6, che riconosce specificatamente il dominio III-CS della fibronectina fetale (8-10). Gli studi immunoistochimici della placenta mostrano che la fibronectina fetale è confinata nella matrice extracellulare dell'interfaccia tra le unità materna e fetale nell'utero; questa interfaccia è nota anche come lo spazio corioidale (5,11). Questi studi suggeriscono che la fibronectina fetale è un prodotto di trofoblasti corionici extravillosi che coprono la periferia del sacco amniotico e si attaccano alla decidua materna dell'utero. A causa della localizzazione unica della fibronectina fetale adiacente alla placenta e al sacco amniotico, sono stati condotti alcuni studi clinici per studiare l'associazione dell'espressione della fibronectina fetale cervicovaginale con il rischio di parto pretermine.

La fibronectina fetale può essere rilevata nelle secrezioni cervicovaginali delle donne durante tutta la gravidanza attraverso l'utilizzo di un test immunologico basato su un anticorpo monoclonale. La fibronectina fetale è elevata nelle secrezioni cervicovaginali durante le prime 24 settimane di gravidanza, ma nelle gravidanze normali diminuisce tra le 24 e le 34 settimane. Non si comprende il significato della sua presenza nella vagina durante le prime 24 settimane di gravidanza. Tuttavia, potrebbe riflettere semplicemente la crescita normale della popolazione dei trofoblasti extravillosi e della placenta. Si ritiene che il rilevamento di fFN nelle secrezioni cervicovaginali tra 24 e 34 settimane complete di gestazione sia associato al parto pretermine in donne incinte sintomatiche (5, 12-16) e asintomatiche (17-20).

RIEPILOGO: LA FIBRONECTINA FETALE COME STRUMENTO CLINICO

Sono stati condotti due studi clinici prospettici per dimostrare la sicurezza e l'efficacia del test immunoenzimatico della fibronectina fetale come fattore di rischio per il parto pretermine.

Nel primo studio, è stato determinato che l'espressione della fibronectina fetale nelle secrezioni vaginali può essere utilizzata per valutare il rischio di parto pretermine in ≤ 7 oppure ≤ 14 giorni dalla raccolta dei campioni (come descritto in Uso previsto) in donne incinte sintomatiche con segni e sintomi di travaglio pretermine. In questo stesso studio, che comprendeva 763 donne valutate presso 10 siti clinici, è stato anche determinato che l'espressione della fibronectina fetale è collegata anche ad altre caratteristiche cliniche, compreso il parto in ≤ 36 settimane complete (parto pretermine) e il benessere neonatale. Un risultato del test positivo alla fibronectina fetale suggerisce un rischio elevato di parto pretermine, con le relative conseguenze neonatali. Al

contrario, un risultato del test negativo alla fibronectina fetale è fortemente associato a una gestazione prolungata e a un parto a termine. Le donne sintomatiche con un risultato del test negativo alla fibronectina fetale hanno meno dell'1% di possibilità di partorire in ≤ 7 oppure ≤ 14 giorni dal momento della raccolta dei campioni. Quindi, in assenza di altre prove cliniche, un risultato del test negativo alla fibronectina fetale indica un rischio ridotto di parto pretermine. Nel prendere decisioni sulla gestione delle pazienti, il risultato del test deve essere tenuto in considerazione anche alla luce di altre informazioni.

In uno studio clinico separato, è stato determinato che l'espressione della fibronectina fetale in un campione cervicale o vaginale prelevato da donne incinte asintomatiche a circa 24 settimane di gestazione identifica una porzione di donne incinte che partoriscono in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione. In questa popolazione di 2929 donne incinte asintomatiche, un risultato del test positivo alla fibronectina fetale a 24 settimane di gestazione è stato associato con un aumento di circa nove volte del rischio di parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione. La prevalenza di parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione era del 4,4%; quindi, il valore positivo di previsione del 31,7% per i campioni cervicali rappresenta un aumento di circa sette volte rispetto all'affidabilità di previsione del parto in assenza di informazioni sul test della fibronectina fetale. Ancora più importante, l'espressione cervicovaginale della fibronectina fetale a circa 24 settimane di gestazione è associata, all'incirca, con un aumento di 60 volte della probabilità di parto pretermine (per es., parto < 28 settimane di gestazione, quando l'esito neonatale può essere gravemente compromesso). Inoltre, l'espressione cervicovaginale della fibronectina fetale tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni è associata a un aumento da 4 a 10 volte del rischio di parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione. I risultati di questo studio dimostrano inoltre che il test immunoenzimatico della fibronectina fetale deve essere usato assieme ad altre informazioni cliniche disponibili per identificare più accuratamente il rischio di parto pretermine ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione in pazienti incinte asintomatiche esaminate tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni di gestazione.

Un terzo studio prospettico di 587 campioni cervicovaginali di donne incinte sia sintomatiche sia asintomatiche ha dimostrato l'equivalenza tra il Rapid fFN e il test immunoenzimatico fFN. Entrambi i test presentavano gli stessi risultati il 94,9% delle volte (coefficiente kappa = 0,81, intervallo di confidenza del 95% [0,75, 0,88] Tabella 1).

Tabella 1
Concordanza tra il test immunoenzimatico fFN e il Rapid fFN per il sistema TLI® (n=587) in donne sintomatiche e asintomatiche

	Enzima fFN Test immunologico (+)	Test immunologico dell'enzima fFN (-)	
Rapid fFN (+)	77	17	94
Rapid fFN (-)	13	480	493
	90	497	587

FIBRONECTINA FETALE: RISULTATI DELLO STUDIO CLINICO

Valutazione del rischio in pazienti sintomatiche

Uno studio prospettico di 763 gravidanze è stato condotto presso 10 siti clinici negli Stati Uniti per valutare l'associazione dell'espressione vaginale della fibronectina fetale con il parto pretermine. Il test immunoenzimatico della fibronectina fetale è stato utilizzato per valutare il rischio di parto pretermine in donne incinte sintomatiche che soddisfacevano i criteri clinici seguenti:

- Presenti per cure ostetriche non previste
- Presentano segni e sintomi di minaccia di parto pretermine limitati a:
 - Contrazioni uterine (con o senza dolore)
 - Dolore addominale intermittente, mal di schiena sordo, pressione pelvica
 - Sanguinamento vaginale durante il secondo o il terzo trimestre
 - Crampi intestinali simili a quelli del periodo mestruale (con o senza diarrea)
 - Cambiamenti nelle perdite vaginali (quantità, colore o consistenza)
 - Vago senso di fastidio caratterizzato come "non sentirsi bene"
- Periodo gestazionale tra 24 settimane, 0 giorni e 34 settimane, 6 giorni
- Membrane amniotiche intatte
- Dilatazione cervicale minima (< 3 centimetri)

Relazione tra la fibronectina fetale e la determinazione del momento del parto

La sicurezza e l'efficacia del test immunoenzimatico della fibronectina fetale sono state valutate in una popolazione di 763 pazienti incinte con segni e sintomi comunemente associati a una minaccia di parto pretermine. La relazione tra il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il momento del parto in ≤ 7 e ≤ 14 giorni è mostrata nella Tabella 2. Per parto ≤ 7 giorni, la sensibilità, la specificità e i valori di previsione positivo e negativo del test immunoenzimatico della fibronectina fetale sono stati, rispettivamente, 86,4%, 82,3%, 12,7% e 99,5%. Per parto ≤ 14 giorni, la sensibilità, la specificità e i valori di previsione positivo e negativo del test immunoenzimatico della fibronectina fetale sono stati, rispettivamente, 83,3%, 82,9%, 16,7% e 99,2%.

Tabella 2
Sensibilità, specificità e valori di previsione positivo e negativo
della fibronectina fetale per parto ≤ 7 e ≤ 14 giorni in donne sintomatiche (n=763)^a

Parto	n (%)	Sensibilità (95% CI)	Specificità (95% CI)	Valore di previsione + (95% CI)	Valore di previsione - (95% CI)
≤ 7 giorni	22 (2,9%)	86,4% (66,4, 95,3)	82,3% (79,4, 84,9)	12,7% (4,2, 33,7)	99,5% (98,7, 99,8)
≤ 14 giorni	30 (3,9%)	83,3% (66,3, 93,7)	82,9% (80,0, 85,4)	16,7% (7,3, 33,7)	99,2% (98,3, 99,6)

^aLa proporzione di parti per ogni termine è calcolata usando 763 come denominatore

Dati clinici aggiuntivi in pazienti sintomatiche

Il risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale è stato anche collegato ad altre caratteristiche cliniche, compreso il parto in ≤ 36 settimane complete di gestazione (parto pretermine) e il benessere neonatale. La sensibilità, la specificità e i valori di previsione positivo e negativo del test immunoenzimatico della fibronectina fetale sono stati, rispettivamente, 41,3%, 86,2%, 44,7% e 84,5%, per parto ≤ 36 settimane (162 o 21,2% dei 763 soggetti che hanno partorito ≤ 36 settimane).

La relazione tra il risultato del test della fibronectina fetale e il benessere neonatale è mostrato nella Tabella 3.

Tabella 3
Benessere neonatale in donne sintomatiche
stratificato dal risultato del test della fibronectina fetale^a

		fFN +	fFN -	valore P ^b
Totale soggetti	n (%)	150 (19,7%)	613 (80,3%)	—
Peso neonato (grammi)	Media	2804,0	3242,8	0,0001
	DS	776,2	582,7	
	n	154	636	
	Intervallo	625–4280	835–5800	
Peso neonato (grammi)	n (%)			
	<1500	11 (7,1%)	6 (0,9%)	0,00005
	<2500	57 (37,0%)	69 (10,8%)	<0,00001
Morbilità perinatale	n (%)	18 (11,7%)	22 (3,5%)	0,0001
Difficoltà respiratoria				
Ricovero nell'unità di cura intensiva neonatale	n (%)	44 (28,6%)	68 (10,7%)	<0,000001
Giorni di ospedale neonatale		5,9±11,1	2,9±7,1	0,01

^aInformazioni sul neonato disponibili solo per 753 su 763 soggetti

^bIl valore P non è calcolato sulla base della categoria "Sconosciuto"

Il numero di soggetti, la distribuzione dei risultati positivi del test della fibronectina fetale, la sensibilità e il valore di previsione di un test positivo per parto in ≤ 7 giorni dalla raccolta di campioni in donne incinte sintomatiche < 32 settimane e ≥ 32 settimane sono mostrati nella Tabella 4. La proporzione di test positivi e la sensibilità del test immunoenzimatico della fibronectina fetale sono gli stessi in donne prima e dopo le 32 settimane. Il numero di donne sintomatiche che si rivolgono a strutture sanitarie aumenta gradualmente all'aumentare dell'età gestazionale, così come il numero di parti.

Tabella 4
Distribuzione di soggetti sintomatici e risultati del test della fibronectina fetale
prima e dopo 32 settimane di gestazione^a

EGASa	Soggetti	fFN + ^b	Sensibilità (%)	Valore di previsione + (%)
(settimane)	N	n (%)	(fFN+/parto ≤ 7 giorni)	(parto ≤ 7 giorni/fFN+)
< 32 settimane	483	91 (18,8%)	8/9 (88,9%)	8/91 (8,8%)
≥ 32 settimane	280	59 (21,0%)	11/13 (84,6%)	11/59 (18,6%)
TOTALE	763	150 (19,7%)	19/22 (86,4%)	19/150 (12,7%)

^aEtà gestazionale stimata alla raccolta dei campioni

^bfFN + = risultato positivo del test immunoenzimatico della fibronectina fetale

L'abilità di altri fattori clinici di valutare il rischio di parto pretermine è stata valutata anche in questo studio prospettico e confrontata con il test immunoenzimatico della fibronectina fetale. La sensibilità, la specificità, i valori di previsione positivi e negativi e i loro intervalli di confidenza del 95% per parto in ≤ 7 giorni per il test immunoenzimatico della fibronectina fetale, la dilatazione cervicale, l'attività uterina, il sanguinamento vaginale e l'infezione del tratto genitale ascendente (vagini batterica) sono forniti nella Tabella 5.

Tabella 5
La sensibilità, la specificità e i valori di previsione positivo e negativo per i fattori di rischio in donne sintomatiche

Fattore di rischio	n	Test positivo definita ^a	Sensibilità (95% CI) ^b	Specificità (95% CI)	Valore di previsione + (95% CI)	Valore di previsione - (95% CI)
Enzima fFN	763	$\geq 0,05 \mu\text{g/mL}$	86,4% (66,4%, 95,3%)	82,3% (79,4%, 84,9%)	12,7% (4,2%, 33,7%)	99,5% (98,7%, 99,8%)
Test immunologico						
Attività uterina	750	≥ 4 contr/ora	54,5% (34,5%, 73,1%)	75,3% (72,0%, 78,3%)	6,3% (1,4%, 24,3%)	98,2% (96,9%, 98,9%)
Dilatazione cervicale	757	> 1 cm	38,1% (20,6%, 59,4%)	88,3% (85,8%, 90,4%)	8,5% (2,1%, 27,9%)	98,0% (96,7%, 98,8%)
Sanguinamento vaginale	759	Qualsiasi sanguinamento	40,9% (23,0%, 61,6%)	85,2% (82,4%, 87,6%)	7,6% (1,9%, 26,3%)	98,0% (96,7%, 98,7%)
Inf. del tratto gen. asc.	763	Vaginosi batterica	9,1% (2,5%, 27,8%)	84,1% (81,2%, 86,5%)	1,7% (0,1%, 17,6%)	97,3% (95,9%, 98,2%)

^aLimite usato per definire un risultato di test positivo per determinare la sensibilità, ecc.

^bIntervallo di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

Valutazione del rischio in pazienti asintomatiche

La sicurezza e l'efficacia del test immunoenzimatico della fibronectina fetale come fattore di rischio per il parto pretermine in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione sono state valutate in uno studio prospettico di 2929 gravidanze singole presso 10 siti clinici negli Stati Uniti. È stato prelevato un campione cervicale e vaginale da donne incinte asintomatiche sottoposte a cure prenatali di routine tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni di gestazione.

Relazione tra l'espressione della fibronectina fetale e la determinazione del momento del parto

Il termine principale di questo studio è stato il parto pretermine spontaneo ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione. Termini secondari comprendevano < 28 settimane, infezione del tratto genitale ascendente ed esito neonatale. Delle 2929 donne che hanno partecipato a questo studio, 127 (4,4%) hanno partorito ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione e 19 (0,7%) hanno partorito < 28 settimane di gestazione. Dei 2915 campioni cervicali e dei 2922 campioni vaginali prelevati tra 22 settimane, 0 giorni e 24 settimane, 6 giorni di gestazione, rispettivamente, 82 (2,8%) e 101 (3,5%) erano positivi alla fibronectina fetale. L'associazione tra il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il parto in < 28 e ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione per i campioni vaginali e cervicali raccolti alla visita della 24[°] settimana è mostrata nella Tabella 6a. Allo stesso modo, alla visita della 26[°] settimana, sono stati raccolti 2431 campioni cervicali e 2435 campioni vaginali e, rispettivamente, 82 (3,4%) e 84 (3,4%) erano positivi alla fibronectina fetale. L'associazione tra il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione è mostrata nella Tabella 6b. Alla visita della 28[°] settimana, sono stati raccolti 2308 campioni cervicali e 2312 campioni vaginali. Un totale di 60 (2,6%) e 72 (3,1%), rispettivamente, erano positivi alle regioni cervicali e vaginali. L'associazione tra il test immunoenzimatico della fibronectina fetale alla visita della 28[°] settimana e il parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione è mostrata nella Tabella 6c. I risultati del test

della fibronectina fetale alla visita della 30° settimana hanno mostrato che dei 2422 campioni cervicali e dei 2425 campioni vaginali ottenuti, rispettivamente, 79 (3,3%) e 82 (3,4%) erano positivi alla fibronectina fetale. L'associazione tra il test immunoenzimatico della fibronectina fetale alla visita della 30° settimana e il parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni è mostrata nella Tabella 6d. La presenza di fibronectina fetale in un campione cervicale o vaginale tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni di gestazione identifica una sotto-popolazione di donne a rischio altissimo di parto ≤ 34 settimane, comprese molte che partoriscono < 28 settimane di gestazione, quando l'esito neonatale può essere gravemente compromesso.

Tabella 6a

Associazione tra il risultato del test della fibronectina fetale vaginale e cervicale alla visita della 24° settimana^a e il parto < 28 e ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione (n=2929)

Esito	parto (n) ^b	Sensibilità % (95% CI) ^c	Specificità % (95% CI)	Valore di previsione + % (95% CI)	Valore di previsione - % (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
Cervicale (n=2915) ^d						
< 28 settimane	19	63,2% (41,0, 80,9)	97,6% (96,9, 98,1)	14,6% (4,9, 36,2)	99,8% (99,5, 99,9)	59,2 (23,9, 146,5)
≤ 34 settimane	127	20,5% (14,9, 28,3)	98,0% (97,4, 98,5)	31,7% (24,2, 40,2)	96,4% (95,6, 97,0)	8,9 (6,1, 12,9)
Vaginale (n=2922) ^e						
< 28 settimane	19	63,2% (41,0, 80,9)	96,9% (96,2, 97,5)	11,9% (3,5, 33,1)	99,7% (99,4, 99,8)	47,9 (19,2, 119,0)
≤ 34 settimane	127	18,9% (13,0, 26,5)	97,2% (96,6, 97,8)	23,8% (17,2, 31,9)	96,3% (95,5, 97,0)	6,5 (4,4, 9,7)

^aLa visita alla 24° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 22 settimane, 0 giorni – 24 settimane, 6 giorni in donne asintomatiche

^bParto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione

^cLivello di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

^dn= 82 Test immunoenzimatico fFN cervicale positivo alla visita della 24° settimana

^en= 101 Test immunoenzimatico fFN vaginale positivo alla visita della 24° settimana

Tabella 6b

Associazione tra il risultato del test della fibronectina fetale vaginale e cervicale alla visita della 26° settimana^a e il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione (n=2435)

Esito	parto (n) ^b	Sensibilità % (95% CI) ^c	Specificità % (95% CI)	Valore di previsione + % (95% CI)	Valore di previsione - % (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
Cervicale (n=2431) ^d						
≤ 34 settimane	90	20,0% (13,5, 29,9)	97,3% (96,5, 97,8)	22,0% (14,6, 31,6)	96,9% (95,6, 97,1)	7,2 (4,5, 11,4)
Vaginale (n=2435) ^e						
≤ 34 settimane	91	18,7% (11,9, 27,9)	97,1% (96,3, 97,7)	20,2% (13,2, 29,6)	96,9% (96,1, 97,5)	6,4 (4,0, 10,4)

^aLa visita alla 26° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 25 settimane, 0 giorni – 26 settimane, 6 giorni in donne asintomatiche

^bParto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione

^cLivello di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

^dn= 82 Test immunoenzimatico fFN cervicale positivo alla visita della 26° settimana

^en= 84 Test immunoenzimatico fFN vaginale positivo alla visita della 26° settimana

Tabella 6c**Associazione tra il risultato del test della fibronectina fetale vaginale e cervicale alla visita della 28° settimana^a e il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione (n=2312)**

Esito	parto (n) ^b	Sensibilità % (95% CI) ^c	Specificità % (95% CI)	Valore di previsione + % (95% CI)	Valore di previsione - % (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
Cervicale (n=2308) ^d						
≤34 settimane	76	10,5% (5,4, 19,4)	97,7% (96,9, 98,2)	13,3% (7,4, 22,7)	97,0% (92,3, 97,6)	4,4 (2,2, 8,8)
Vaginale (n=2312) ^e						
≤34 settimane	75	17,3% (10,4, 27,4)	97,4% (96,6, 97,9)	18,1% (13,3, 32,8)	97,2% (97,2, 98,4)	6,5 (3,8, 11,3)

^aLa visita alla 28° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 27 settimane, 0 giorni – 28 settimane, 6 giorni in donne asintomatiche

^bParto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione

^cLivello di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

^dn= 60 Test immunoenzimatico fFN cervicale positivo alla visita della 28° settimana

^en= 72 Test immunoenzimatico fFN vaginale positivo alla visita della 28° settimana

Tabella 6d**Associazione tra il risultato del test della fibronectina fetale vaginale e cervicale alla visita della 30° settimana^a e il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione (n=2425)**

Esito	parto (n) ^b	Sensibilità % (95% CI) ^c	Specificità % (95% CI)	Valore di previsione + % (95% CI)	Valore di previsione - % (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
Cervicale (n=2422) ^d						
≤34 settimane	66	25,8% (16,8, 37,5)	97,4% (96,6, 97,9)	21,5% (13,3, 32,8)	97,9% (97,2, 98,4)	10,3 (6,2, 17,0)
Vaginale (n=2425) ^e						
≤34 settimane	66	16,7% (10,1, 26,2)	97,0% (96,2, 97,6)	13,4% (7,4, 22,4)	97,7% (97,0, 98,2)	5,7 (3,1, 10,5)

^aLa visita alla 30° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 29 settimane, 0 giorni – 30 settimane, 6 giorni in donne asintomatiche

^bParto < 34 settimane, 6 giorni di gestazione

^cLivello di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

^dn= 79 Test immunoenzimatico fFN cervicale positivo alla visita della 30° settimana

^en= 82 Test immunoenzimatico fFN vaginale positivo alla visita della 30° settimana

Dati clinici aggiuntivi in pazienti asintomatiche

L'associazione tra il test immunoenzimatico della fibronectina fetale cervicale e il parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione è stata confrontata con altri fattori di rischio valutati alla visita della 24° settimana. Altri fattori di rischio valutati comprendevano l'auto-percezione del paziente dell'attività uterina nelle due settimane precedenti, la dilatazione del collo dell'utero ≥ 1 centimetro, l'anamnesi del sanguinamento vaginale del secondo trimestre, la vaginosi batterica e almeno un parto pretermine precedente avvenuto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione. L'associazione di questi fattori di rischio con il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione è mostrata nella Tabella 7. Ad eccezione della vaginosi batterica, ognuno dei fattori di rischio è significativamente associato con il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione.

Tabella 7
Associazione invariabile di tutti i fattori di rischio rilevati o ottenuti alla visita della
24° settimana^a con il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione in donne asintomatiche
(n=2929)

Fattore di rischio	Test pos. definita ^b	Sensibilità (95% CI) ^c	Specificità (95% CI)	Valore di previsione + (95% CI)	Valore di previsione - (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
Test immunologico fFN (Cervicale) n=2915	≥ 0,05 µg/mL a 24 settimane	20,5% (14,9, 28,3)	98,0% (97,4, 98,4)	31,7% (24,2, 40,2)	96,4% (95,6, 97,0)	8,9 (6,1, 12,9)
Test immunologico fFN (Vaginale) n=2922	≥ 0,05 µg/mL a 24 settimane	18,9% (13,0, 26,5)	97,2% (96,6, 97,8)	23,8% (17,2, 31,9)	96,3% (95,5, 97,0)	6,5 (4,4, 9,7)
Attività uterina n=2929	2 settimane prima di 24 settimane	31,5% (23,4, 39,6)	83,1% (81,7, 84,5)	7,8% (5,5, 10,1)	96,4% (95,7, 97,1)	2,2 (1,5, 3,1)
Dilatazione cervicale n=2929	≥ 1 cm a 24 settimane	45,7% (37,0, 54,3)	81,3% (79,8, 82,7)	9,9% (7,5, 12,4)	97,1% (96,4, 97,7)	3,4 (2,4, 4,7)
Prec. parto pretermine ^d n=1704	≤34 settimane	27,6% (19,3, 37,8)	88,4% (86,7, 89,8)	11,3% (6,2, 19,6)	95,8% (94,7, 96,7)	2,7 (1,7, 4,2)
Sanguinamento vaginale n=2929	Sanguinamento 2° trimestre	16,5% (10,1, 23,0)	90,9% (89,9, 92,0)	7,6% (4,5, 10,0)	96,0% (95,3, 96,8)	1,9 (1,2, 3,0)
Vag. batt. ^e n=2900	PH, cellule indizio a 24 settimane	29,4% (21,2, 37,0)	76,9% (75,6, 78,7)	5,5% (3,8, 7,2)	96,0% (95,2, 96,8)	1,4 (0,9, 2,0)

^aLa visita alla 24° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 22 settimane, 0 giorni – 24 settimane, 6 giorni in donne asintomatiche

^bLimite usato per definire un risultato di test positivo per determinare la sensibilità, ecc.

^cLivello di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

^dPrec. parto pretermine: precedente parto pretermine ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione

^eVag. batt.: vaginosi batterica alla visita della 24° settimana

In generale, questi fattori di rischio hanno una sensibilità uguale o maggiore e sono meno specifici del risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale. L'uso del test immunoenzimatico della fibronectina fetale assieme ad altri fattori di rischio a circa 24 settimane di gestazione identifica le donne a più alto rischio di parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione e diminuisce il numero di osservazioni false positive attribuibili ad altri fattori di rischio. Per esempio, i risultati mostrati nella Tabella 8 dimostrano che il valore di previsione positivo della dilatazione cervicale ≥ 1 centimetro (9,9%) è aumentato con l'aggiunta del risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale cervicale (40,0%). (I risultati dei campioni vaginali sono simili e non sono mostrati).

Tabella 8
Valore di previsione della combinazione del risultato del test della fibronectina fetale cervicale con la dilatazione cervicale ≥ 1 centimetro in donne asintomatiche

Risultati alla visita della 24° settimana ^a	n	Parto ≤ 34 sett. (n)	Parto ≤ 34 sett. (%)
Tutti i soggetti	2915	127	—
fFN ^b	82	26	31,7%
Dil. cerv. ≥ 1 cm ^c	583	58	9,9%
fFN-, dil. cerv. < 1 cm	2280	55	2,4%
fFN+, dil. cerv. < 1 cm	52	14	26,9%
fFN-, dil. cerv. ≥ 1 cm	553	46	8,3%
fFN+, dil. cerv. ≥ 1 cm	30	12	40,0%

^aLa visita alla 24° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 22 settimane, 0 giorni – 24 settimane,

6 giorni in donne asintomatiche

^bfFN+: risultato del test immunoenzimatico dell'fFN cervicale positivo (+)

^cDil. cerv.: dilatazione cervicale

Un parto pretermine precedente è uno dei fattori di rischio maggiori per un parto pretermine, sebbene le donne incinte nullipare rappresentino circa il 50% dei parti pretermine negli Stati Uniti. La Tabella 9 mostra l'associazione del risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale con il parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione per donne nullipare e donne pare stratificata sulla base di parti pretermine precedenti. (I risultati dei campioni vaginali sono simili e non sono mostrati).

Tabella 9
Associazione del risultato del test della fibronectina fetale cervicale alla visita della 24° settimana^a con il parto ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione in donne asintomatiche nullipare e pare stratificata sulla base di parti pretermine precedenti (n=2929)

	fFN ^b n (%)	Parto pretermine ^c n (%)	Sensibilità (95% CI) ^d	Specificità (95% CI)	Valore di previsione + (95% CI)	Valore di previsione - (95% CI)	Rischio relativo (95% CI)
Nullipara n=1211	29 (2,4%)	40 (3,3%)	25,0% (11,6, 38,4)	98,4% (97,7, 99,1)	34,5% (17,2, 51,8)	97,5% (96,6, 98,4)	13,6 (7,4, 25,1)
Para n=1704	53 (3,1%)	87 (5,1%)	18,4% (10,3, 26,5)	97,7% (97,0, 98,4)	30,2% (17,8, 42,5)	95,7% (94,7, 96,7)	7,1 (4,4, 11,2)
Parto pretermine ^e n=212	8 (3,8%)	24 (11,3%)	20,8% (4,6, 37,1)	98,4% (96,6, 99,9)	62,5% (29,0, 96,0)	90,7% (86,7, 94,7)	6,7 (3,4, 13,3)
No parto pretermine n=1492	45 (3,0%)	63 (4,2%)	17,5% (8,1, 26,8)	97,6% (96,8, 98,4)	24,4% (11,9, 37,0)	96,4% (95,4, 97,4)	6,8 (3,8, 12,1)

^aLa visita alla 24° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 22 settimane, 0 giorni – 24 settimane,

6 giorni in donne asintomatiche

^bTest immunoenzimatico fFN cervicale positivo alla visita della 24° settimana

^cParto pretermine ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione

^dIntervallo di confidenza del 95% (limite inferiore, limite superiore)

^eParto pretermine: Storico di parti pretermine ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione

La relazione tra il risultato del test della fibronectina fetale cervicale e il benessere neonatale è mostrato nella Tabella 10. (I risultati dei campioni vaginali sono simili e non sono mostrati).

Tabella 10
Benessere neonatale stratificato dal risultato del test della fibronectina fetale cervicale
alla visita della 24° settimana^a in donne asintomatiche

		fFN +	fFN -	valore P
Totale neonati ^b	n (%)	81 (2,8%)	2829 (97,2%)	—
Peso neonato (grammi)	Media	2587	3175	0,0001
	DS	1127	617	
	n	81	2829	
	Intervallo	220-4895	195-6390	
Peso neonato (grammi)				
n (%)				
	<1500	18 (22,2%)	52 (1,8%)	0,001
	<2500	31 (38,3%)	314 (11,1%)	0,001
Morbilità perinatale	n (%)			
Difficoltà respiratoria		17 (21,0%)	68 (2,4%)	0,001
Sepsi neonatale		4 (4,9%)	13 (0,5%)	0,040
Enterocolite necrotizzante		6 (7,4%)	7 (0,2%)	0,001
Ricovero nell'unità di terapia intensiva neonatale	n (%)	24 (29,6%)	156 (5,5%)	0,001
Mortalità perinatale	n (%)	6 (7,4%)	15 (0,5%)	0,001

^aLa visita alla 24° settimana si riferisce all'intervallo dell'età gestazionale di 22 settimane, 0 giorni – 24 settimane, 6 giorni in donne asintomatiche

^bInformazioni sul neonato disponibili solo per 2913 soggetti con campioni cervicali alla visita della 24° settimana

IMPORTANZA CLINICA DELLA FIBRONECTINA FETALE

L'esperienza clinica con il test immunoenzimatico della fibronectina fetale è stata limitata a studi osservazionali che hanno stabilito l'associazione tra il risultato del test e la probabilità che avvenga il parto. L'esperienza clinica con Rapid fFN è stata limitata a studi osservazionali di concordanza in laboratorio. Non sono ancora stati completati studi controllati randomizzati per determinare l'efficacia terapeutica dell'utilizzo del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o del Rapid fFN assieme ad altre informazioni cliniche per minacce di parto pretermine. In assenza di tali studi, non è possibile consigliare opzioni di trattamento specifiche.

Gestione di donne con un risultato positivo al test della fibronectina fetale

Donne incinte sintomatiche con un test della fibronectina fetale positivo sono a rischio di parto in ≤ 7 giorni, ≤ 14 giorni dalla raccolta del campioni e di parto pretermine in ≤ 36 settimane complete. Donne incinte asintomatiche con un test della fibronectina fetale positivo sono a rischio di parto in ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione. Quindi, un test della fibronectina fetale positivo aumenta l'abilità del medico di prevedere un parto pretermine sia in una popolazione incinta asintomatica sia in una popolazione di donne incinte che presentano sintomi equivoci. In entrambe le popolazioni, l'identificazione del rischio consentirebbe un maggiore controllo e una migliore gestione di pazienti che sarebbero altrimenti clinicamente irrilevanti. Una sorveglianza aumentata e una conseguente pronta identificazione di sintomi clinici aggiuntivi consentirebbero probabilmente una gestione efficace e per tempo di sintomi curabili. Infine, e forse più importante, un test della fibronectina fetale positivo è associato a un esito neonatale avverso, in particolare alla sindrome da difficoltà respiratoria. Quindi, un'identificazione per tempo del rischio, particolarmente in donne incinte sintomatiche, migliorerebbe probabilmente la somministrazione di corticosteroidi prima della rapida progressione del travaglio e del parto.

Gestione di donne con un risultato negativo al test della fibronectina fetale

L'assenza di fibronectina fetale nelle secrezioni cervicovaginali dopo 24 settimane di gestazione è associata con la continuazione della gravidanza. Le donne incinte sintomatiche con un risultato negativo al test alla fibronectina fetale tra la 24° e la 34° settimana hanno meno dell'1% di possibilità di partorire in ≤ 7 o ≤ 14 giorni dal momento della raccolta dei campioni e all'incirca il 15% di possibilità di partorire in ≤ 36 settimane complete. Nelle donne incinte sintomatiche, un test negativo porterebbe probabilmente a un uso più giudizioso dei farmaci tocolitici, diminuendo la probabilità di tossicità materna e fetale associata a questi medicinali e consentendo il loro utilizzo in un momento in cui potrebbero essere più necessari. Le donne incinte asintomatiche con un risultato di test negativo tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni di gestazione hanno all'incirca il 2-4% di possibilità di partorire ≤ 34 settimane, 6 giorni e meno dello 0,5% di possibilità di partorire prima delle 28 settimane, quando il test è effettuato tra 22 settimane, 0 giorni e 24 settimane, 6 giorni di gestazione. Chiaramente, la maggior parte delle donne con un test della fibronectina fetale negativo che partoriscono prematuramente, partoriscono dopo 34 settimane complete, quando la morbilità perinatale seria è, sebbene possibile, improbabile. Inoltre, le donne, specialmente le pazienti sintomatiche, con un risultato del test negativo, possono non aver bisogno di cambiamenti radicali nel loro stile di vita, per es. rimanere a letto o avere restrizioni dal punto di vista lavorativo, che possono avere effetti emotivi, economici e sociali significativi. È fondamentale riconoscere che un risultato negativo al test della fibronectina fetale non elimina la possibilità di parto pretermine. Le pazienti sintomatiche con un test della fibronectina fetale negativo sono ancora ad alto rischio di parto pretermine, per il semplice fatto di sottoporsi a terapie non previste e le pazienti asintomatiche possono sviluppare un rischio rilevabile in un momento successivo della gravidanza, anche se il risultato del test è negativo alla 24° settimana di gestazione. Quindi, una migliore istruzione delle pazienti e un controllo continuo devono continuare a essere componenti fondamentali della gestione delle pazienti.

MECCANISMI DI RILASCIO DELLA FIBRONECTINA FETALE

I meccanismi esatti che sono alla base dell'inizio del travaglio e del parto negli esseri umani sono sconosciuti; quindi, è impossibile descrivere in maniera definitiva il meccanismo attraverso il quale la fibronectina fetale appare nelle secrezioni cervicovaginali. Studi immunoistochimici hanno mostrato che la fibronectina fetale è localizzata nella matrice extracellulare dell'interfaccia materno-fetale, nota anche come spazio coriodecduale. L'immunolocalizzazione della fibronectina fetale nella placenta e nel sacco amniotico, particolarmente nel segmento uterino inferiore, suggerisce che la fibronectina fetale possa essere travasata o possa "infiltrarsi" nella vagina. Due percorsi possibili possono portare all'apparizione della fibronectina fetale nelle secrezioni cervicovaginali. Nel primo percorso, lo stress meccanico causato dalle contrazioni uterine e dal cambiamento cervicale porta alla separazione coriodecduale che, a sua volta, provoca la perdita di fibronectina fetale dall'interfaccia. Prove cliniche in fase di raccolta suggeriscono l'esistenza di un secondo percorso, nel quale l'infiammazione localizzata dell'interfaccia coriodecduale, che potrebbe provocare un'infiltrazione batterica ascendente occulta, promuove la difesa materna dell'ospite. Se lo stimolo infettivo e la risposta materna sono sufficientemente potenti, l'infiammazione risultante potrebbe promuovere la degradazione della matrice extracellulare coriodecduale e l'indebolimento delle membrane amniotiche. Un tale processo è stato discusso nella letteratura e può essere riassunto come segue: 1) un'infiltrazione batterica ascendente dal tratto genitale inferiore provoca il reclutamento dei leucociti nella decidua e nelle membrane; 2) le proteasi batteriche e derivate dai leucociti degradano la matrice extracellulare deciduale e corionica; 3) la degradazione delle proteine della matrice extracellulare provoca il travaso della fibronectina fetale nella vagina e, se la degradazione è grave, avviene la rottura premature delle membrane amniotiche; 4) lo stesso processo infiammatorio in corso promuove il rilascio localizzato di prostaglandine e citochine, provocando la maturazione cervicale e le contrazioni²¹⁻²⁶. Quindi, l'apparizione della fibronectina fetale nelle secrezioni cervicovaginali è attribuibile probabilmente a vari processi associati alla separazione coriodecduale e all'inizio del travaglio, indipendentemente dal fatto che lo stimolo sia di origine infettiva o meccanica.

PERCHÉ LE POPOLAZIONI DELLE PAZIENTI SONO LIMITATE

Il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il Rapid fFN hanno due applicazioni cliniche. Nella prima applicazione, si prevede che il test venga utilizzato come aiuto nella valutazione del rischio di parto in donne con sintomi di travaglio pretermine che hanno membrane amniotiche intatte e dilatazione cervicale minima (< 3 centimetri). Non si prevede di usare il test in donne sintomatiche che hanno una dilatazione cervicale avanzata (≥ 3 centimetri), la rottura delle membrane amniotiche, il cerchiaggio cervicale o una prova visiva di sanguinamento vaginale consistente o moderato. Il parto avviene solitamente subito dopo che la dilatazione cervicale supera i 3 centimetri o se le membrane amniotiche sono rotte. Quindi, non sono solitamente necessari test diagnostici aggiuntivi per confermare il rischio in donne con dilatazione cervicale avanzata o rottura delle membrane amniotiche. Il sanguinamento vaginale consistente o moderato è un fattore di rischio indipendente per il parto pretermine e può essere associato ad altri gravi problemi medici o ostetrici. L'attenzione clinica dovrebbe essere rivolta all'identificazione dell'origine del sanguinamento, piuttosto che alla valutazione immediata del rischio di parto. Attualmente, non ci sono informazioni sufficienti che caratterizzino l'associazione dell'espressione della fibronectina fetale vaginale con il parto in donne con cerchiaggio cervicale.

Nella seconda applicazione, il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il Rapid fFN sono indicati per essere utilizzati, assieme ad altre informazioni cliniche, come aiuto nella valutazione del rischio di parto pretermine ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione, quando è prelevato un campione cervicovaginale da donne incinte asintomatiche durante una visita prenatale di routine tra 22 settimane, 0 giorni e 30 settimane, 6 giorni di gestazione. Il test è idoneo per essere utilizzato solamente in donne incinte con gestazioni singole, indipendentemente dalla parità e da parti pretermine precedenti ≤ 34 settimane, 6 giorni. La sicurezza e l'efficacia del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o del Rapid fFN non sono state dimostrate per donne incinte asintomatiche che presentano un fattore di rischio noto per parto pretermine (ad es., gestazioni multiple, cerchiaggio cervicale o placenta previa).

Sia per le popolazioni di pazienti sintomatiche, sia per quelle asintomatiche, il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il Rapid fFN devono essere usati assieme ad altre informazioni cliniche per valutare il rischio di parto (ad es. contrazioni uterine, dilatazione cervicale, infezione del tratto genitale ascendente, sanguinamento vaginale, anamnesi ostetrica, ecc).

LA FIBRONECTINA FETALE PUÒ ESSERE USATA DA SOLA PER IDENTIFICARE IL RISCHIO DI PARTO?

Il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il Rapid fFN sono test oggettivi che possono essere utilizzati come aiuto nella valutazione del rischio di parto pretermine in donne incinte sintomatiche e asintomatiche. Il rilevamento della fibronectina fetale nelle secrezioni vaginali non deve essere interpretato da solo nella valutazione del rischio di parto imminente. Il test immunoenzimatico della fibronectina fetale e il Rapid fFN devono essere usati assieme ad altri esami ed informazioni cliniche per valutare il rischio complessivo di parto pretermine e assicurare l'appropriata gestione delle pazienti.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Il campione deve essere prelevato dalla fornice posteriore della vagina durante un'esame con lo speculum. *Il kit di raccolta dei campioni Hologic è l'unico sistema di raccolta dei campioni accettabile che può essere utilizzato per raccogliere campioni per questo test.* Il tampone in poliestere fornito nel kit di raccolta dei campioni deve essere inserito nella vagina e ruotato leggermente attraverso il fornice posteriore per circa 10 secondi, affinché assorba le secrezioni cervicovaginali. Una volta prelevato il campione, rimuovere con attenzione il tampone dalla vagina e posizionarlo nella provetta del tampone fornita con il kit. Utilizzare solo un dispositivo di raccolta di campioni per paziente. Etichettare la provetta di trasporto del campione con il nome della paziente e con altre informazioni di identificazione necessarie.

Per interpretare con sicurezza il risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o del Rapid fFN, il campione deve essere prelevato prima dell'esecuzione di attività o procedure che potrebbero danneggiare la cervice (per es. coito, esame digitale della cervice, ecografia transvaginale, coltura microbiologica delle secrezioni cervicali o striscio). Infine, il risultato del test non è valido se il tampone è contaminato da lubrificanti, saponi o disinfettanti (per es. lubrificante K-Y® Jelly, disinfettante Betadine®, esaclorofene, crema Monistat®). I saponi o i disinfettanti possono interferire con la reazione dell'anticorpo-antigene. Il metodo di raccolta è descritto anche nell'inserito con le istruzioni del kit di raccolta dei campioni.

PRINCIPIO DEL TEST IMMUNOENZIMATICO DELLA FIBRONECTINA FETALE

Il test immunoenzimatico della fibronectina fetale è un test di immunoassorbimento enzimatico su fase solida (ELISA). Durante il test, i campioni cervicovaginali sono incubati in pozzetti per microtitolo ricoperti di FDC-6, un anticorpo monoclonale specifico per la fibronectina fetale (5). Il complesso anticorpo-antigene risultante è sciacquato per rimuovere materiale non specificatamente legato e viene fatto poi reagire con un anticorpo marcato con enzimi diretto contro la fibronectina umana. A seguito della formazione del "sandwich" antigene-anticorpo, il pozzetto per microtitolo è prima sciacquato per rimuovere l'anticorpo marcato non legato e poi incubato con un substrato di enzimi. La presenza o l'assenza della fibronectina fetale nel campione è determinata spettrofotometricamente a una lunghezza d'onda di 550 nanometri.

PRINCIPIO DEL RAPID fFN PER IL SISTEMA TLi_{IQ}®

La cassetta Rapid fFN è un test immunocromatografico su fase solida a flusso laterale. Durante il test, i campioni cervicovaginali scorrono da un cuscinetto assorbente su una membrana in nitrocellulosa grazie all'azione capillare attraverso una zona di reazione che contiene l'anticorpo della anti-fibronectina fetale monoclonale murino coniugato con microsferi blu (coniugato). Il coniugato, integrato nella membrana, è messo in movimento dal flusso del campione. Il campione scorre poi attraverso una zona contenente anticorpo anti-fibronectina umana policlonale di capra, che cattura i complessi fibronectina-coniugato. Il campione rimanente scorre attraverso una zona contenente anticorpo IgG anti-topo policlonale di capra, che cattura i complessi non legati e crea una linea di controllo. Dopo 20 minuti di tempo di reazione, le intensità della linea del test e della linea di controllo sono interpretate con l'analizzatore TLi_{IQ}.

L'analizzatore TLi_{IQ} utilizza la tecnologia della riflessione ottica per creare un formato digitalizzato di una cassetta Rapid fFN in cui è avvenuta una reazione. I dati sono analizzati usando parametri multipli, compreso un confronto dei dati del campione con i dati di calibrazione. L'analizzatore TLi_{IQ} fornisce tre possibili risultati: positivo, negativo o non valido.

Il metodo di funzionamento dell'analizzatore TLi_{IQ} comprende: 1) inserimento della cassetta Rapid fFN nell'analizzatore TLi_{IQ}; 2) inizializzazione dell'analizzatore TLi_{IQ} usando la tastiera dello strumento; 3) raccolta dei dati della riflessione usando il software dell'analizzatore TLi_{IQ}; 4) conversione dei dati non elaborati in un risultato riferibile usando il software dell'analizzatore TLi_{IQ}.

Ogni confezione di cassette Rapid fFN è etichettata con un "codice di calibrazione" unico per ogni lotto di cassette. Il codice di calibrazione è stabilito dal produttore e specifica il valore di riferimento della calibrazione. Il valore di riferimento della calibrazione rappresenta l'intensità del segnale associata a 0,050 µg/mL fFN.

Il software di analisi converte i dati non elaborati dell'analizzatore TLi_{IQ} in tre possibili risultati del test: positivo, negativo o non valido. I dati non elaborati sono convertiti in un risultato del test attraverso la determinazione dell'intensità del segnale derivato da un campione, verificando poi se l'intensità del segnale del campione del paziente è maggiore, minore o uguale all'intensità del segnale specificata dal valore di riferimento della calibrazione.

Il risultato è positivo se l'intensità del segnale derivata dal campione del paziente è maggiore di o uguale a quella specificata dal valore di riferimento della calibrazione. Il risultato è negativo se l'intensità del segnale derivata dal campione del paziente è minore di quella specificata dal valore di riferimento della calibrazione. Il risultato non è valido se il test non supera i controlli di qualità interni.

I controlli interni sono parte del sistema TLi_{IQ} e sono eseguiti automaticamente a ogni test. Tali controlli interni verificano 1) un livello di soglia del segnale alla posizione di controllo procedurale, 2) che il campione scorra adeguatamente nella cassetta Rapid fFN, 3) l'assenza di aggregazione del coniugato (Cassetta: Superato/Non superato) e 4) il corretto funzionamento dell'hardware dell'analizzatore (Analizzatore: Superato/Non superato).

DEFINIZIONE DI UN TEST POSITIVO O NEGATIVO

Test immunoenzimatico della fibronectina fetale

I campioni dei pazienti del test immunoenzimatico della fibronectina fetale che presentano un assorbimento maggiore o uguale a quello del calibratore di riferimento positivo (contenente 0,050 µg/mL fFN) sono positivi alla presenza della fibronectina fetale. I campioni dei pazienti che presentano un assorbimento minore a quello del calibratore di riferimento positivo sono negativi alla presenza della fibronectina fetale.

Rapid fFN del sistema TLi_{IQ}

I campioni dei pazienti del Rapid fFN del sistema TLi_{IQ} che presentano un'intensità di segnale superiore o uguale all'intensità del segnale specificata dal valore di riferimento della calibrazione (0,050 µg/mL fFN) saranno visualizzati come positivi sull'analizzatore TLi_{IQ}. I campioni dei pazienti che presentano un'intensità di segnale inferiore all'intensità del segnale specificata dal valore di riferimento della calibrazione (0,050 µg/mL fFN) saranno visualizzati come negativi sull'analizzatore TLi_{IQ}.

LIMITAZIONI

Il risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o il Rapid fFN non devono essere interpretati come prove assolute della presenza o dell'assenza di un processo che provocherà un parto in ≤ 7 giorni dalla raccolta del campione in donne sintomatiche o ≤ 34 settimane, 6 giorni di gestazione in donne asintomatiche. Un risultato positivo del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o del Rapid fFN potrebbe essere osservato in pazienti che hanno subito un danno cervicale causato da, ma non limitato a, eventi come rapporti sessuali, esame digitale della cervice o sonda vaginale a ultrasuoni. Il risultato del test immunoenzimatico della fibronectina fetale o del Rapid fFN deve essere sempre utilizzato assieme a informazioni disponibili derivanti dalla valutazione clinica del paziente e ad altre procedure diagnostiche come l'esame della cervice, la coltura microbiologica cervicale, la valutazione dell'attività uterina e la valutazione di altri fattori di rischio.

- La modifica del protocollo del test qui descritto potrebbe portare a risultati non corretti.
- Il test è stato ottimizzato con campioni prelevati dal fornice posteriore della vagina o dalla regione ectocervicale dell'orifizio cervicale esterno. I campioni prelevati da altri siti non devono essere utilizzati.
- La sicurezza e l'efficacia dell'utilizzo di un limite diverso da 0,050 µg/mL fFN non sono state stabilite.
- Non è stata scartata la possibilità di interferenza del test con i componenti seguenti: irrigazioni, globuli bianchi, globuli rossi, batteri e bilirubina.
- Non è stata scartata la possibilità che la presenza di infezioni costituisca un fattore di confusione nella determinazione del rischio di parto pretermine.
- A tutt'oggi, le informazioni riguardo all'associazione dell'espressione cervicovaginale della fibronectina fetale con il parto in donne incinte asintomatiche affette da HIV/AIDS sono insufficienti.
- I risultati devono essere interpretati con attenzione quando un campione è prelevato da una paziente con età gestazionale non confermata.
- I risultati del test sono di difficile interpretazione se il campione contiene sperma o se il campione è stato prelevato meno di 24 ore dopo il coito. Sono stati condotti due studi che

hanno stabilito che i rapporti sessuali e la presenza di sperma possono portare a un risultato del test positivo. Nel primo studio, la fibronectina fetale è stata rilevata nel 23% dei campioni vaginali post-coitali prelevati da 22 donne non incinte. Nel secondo studio, la fibronectina fetale è stata rilevata in 21 dei 41 campioni di sperma prelevati da volontari maschi sani. Questi risultati suggeriscono che lo sperma (o il seme) può contenere una concentrazione sufficiente di fibronectina fetale tale da causare un risultato del test della fibronectina fetale positivo. Tuttavia, anche quando una paziente comunica di aver avuto rapporti sessuali nelle 24 precedenti, un risultato del test della fibronectina fetale negativo rimane comunque valido.

RIFERIMENTI

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. Preterm Labor. Technical Bulletin, Number 133, October, 1989.
2. Creasy RK, Resnick R. Maternal and Fetal Medicine: Principles and Practice. Philadelphia: W.B. Saunders, Co.; 1989.
3. Creasy RK, Merkatz IR. Prevention of preterm birth: clinical opinion. *Obstet Gynecol* 1990;76 (Suppl 1):2S-4S.
4. Morrison JC. Preterm birth: a puzzle worth solving. *Obstet Gynecol* 1990;76 (Suppl 1):5S-12S.
5. Lockwood CJ, Senyei AE, Dische MR, Casal DC, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *New Engl J Med* 1991;325:669-74.
6. Maymon R, Bahari C, Moroz C. Placental isoferitin measured by a specific monoclonal antibody as a predictive marker for preterm contraction outcome. *Obstet Gynecol* 1989;74:597-99.
7. Wasmoen TL, Coulam CB, Leiferman KM, Gleich GJ. Increases of plasma eosinophil major basic protein levels late in pregnancy predict onset of labor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:3029-32.
8. Matsuura H, Hakomori SI. The oncofetal domain of fibronectin defined by the monoclonal antibody FDC-6: its presence in fibronectins from fetal and tumor tissues and its absence in those from normal adult tissues and plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:6517-21.
9. Matsuura H, Takio K, Titani K, Greene T, et al. The oncofetal structure of human fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6. Unique structural requirement for the antigen specificity provided by a glycosylhexapeptide. *J Biol Chem* 1988; 263:3314-22.
10. Ruoslahti E. Fibronectin and its receptors. *Ann Rev Biochem* 1988;57:375-413.
11. Feinberg RF, Kliman HJ, Lockwood CJ. Is oncofetal fibronectin a trophoblast glue for human implantation? *Am J Pathol* 1991; 138:537-43.
12. Morrison JC, Allbert JR, McLaughlin BN, Whitworth NS, et al. Oncofetal fibronectin in patients with false labor as a predictor of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:538-42.
13. Inglis SR, Jeremias J, Kuno K, Lescale K, et al. Detection of tumor necrosis factor- α , interleukin 6, and fetal fibronectin in the lower genital tract during pregnancy: relation to outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:5-10.
14. Iams J, Casal DC, Goodwin TM, Kreaden US, et al. Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:141-145.
15. Burrus DR, Ernest JM, Veille JC. Fetal fibronectin, interleukin-6, and C-reactive protein are useful in establishing prognostic sub-categories of idiopathic preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1258-62.
16. Bartnicki J, Casal D, Kreaden US, Saling E, Vetter K. Fetal fibronectin in vaginal specimens predicts preterm delivery and very low birth weight infants. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:971-4.
17. Lockwood CJ, Wein R, Lapinski R, Casal D, et al. The presence of cervical and vaginal fetal fibronectin predicts preterm delivery in an inner-city obstetric population. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:798-804.
18. Leeson SC, Maresh MJA, Martindale EA, Mahmood T, et al. Detection of fetal fibronectin as a predictor of preterm delivery in high risk asymptomatic pregnancies. *Br J Obstet Gynecol* 1996;103:48-53.

19. Goldenberg RL, Mercer BM, Meis PJ, Copper RL, et al. The Preterm Prediction Study: fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 1996;87:643-48.
20. Morrison JC, Naef RW, Botti JJ, Katz M, et al. Prediction of spontaneous preterm birth by fetal fibronectin and uterine activity. *Obstet Gynecol* 1996;87:649-655.
21. Minkoff H. Prematurity: Infection as an etiologic factor. *Obstet Gynecol* 1983;62:137-144.
22. Romero R, Hobbins JC, Mitchell MD. Endotoxin stimulates prostaglandin E2 production by human amnion. *Obstet Gynecol* 1988;71:227-228.
23. Romero R, Drum S, Dinarello CA, Oyarzun E. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion. *Prostaglandins* 1989;37:13-22.
24. Casey ML, Cox SM, Beutler B, Milewich L, MacDonald PC. Cachetin/tumor necrosis factor- α formation in human decidua. Potential role of cytokines in infection induced preterm labor. *J Clin Invest* 1989;83:430-36.
25. McGregor JA, French JI, Lawellin D. Bacterial protease-induced reduction of chorioamniotic membrane strength and elasticity. *Obstet Gynecol* 1987;69:167-74.
26. Sibelle Y, Lwebuga-Mukasa JS, Polomski L, Merrill WW, Ingbar DH, Gee JBL. An in vitro model for polymorphonuclear-leukocyte induced injury to an extracellular matrix: relative contribution of oxidants and elastase to fibronectin release from amniotic membranes. *Am Rev Resp Dis* 1986;134:134-140.

Il kit della cassetta Rapid fFN, il sistema TLI_{IQ}, il TLI_{IQ} QCette e il kit di raccolta dei campioni e il loro utilizzo sono coperti da uno o più dei seguenti brevetti concessi o dati in licenza a Hologic, Inc. e/o alle sue società affiliate: brevetti statunitensi numero 4,894,326; 4,919,889; 5,096,830; 5,243,029; 5,281,522; 6,267,722; 6,394,952; 6,867,051; 6,936,476; Des. 432,244; Des. 434,153; brevetti esteri corrispondenti e altri brevetti in attesa di autorizzazione.

© 2009 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

K-Y è un marchio registrato di Johnson & Johnson.

Betadine è un marchio registrato di Purdue Frederick.

Monistat è un marchio registrato di Ortho Pharmaceuticals.

Hologic, Rapid fFN, TLI_{IQ} e TLI_{IQ} QCette e i relativi loghi sono marchi registrati di Hologic, Inc. e/o delle sue società affiliate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

Hologic, Inc.

250 Campus Drive

Marlborough, MA 01752 USA

www.hologic.com

Tel (USA e Canada): 1-888-PRETERM (1-888-773-8376)

Tel: +1 (508) 263-2900

EC REP Hologic UK Ltd.
Link 10 Napier Way
Crawley, West Sussex
RH10 9RA
UK
Tel.: +44 (0) 1293 522 080