

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, su supporto immunocromatografico rapido per la rilevazione qualitativa del D-dimero nel sangue intero (prelievo venoso e da puntura del polpastrello), nel siero o nel plasma da utilizzare come ausilio nella diagnosi di *trombosi venosa profonda (TVP)*, *embolia polmonare (EP)* e *coagulazione intravascolare disseminata (CID)*. Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in vitro*.

SOMMARIO e CONSIDERAZIONI CLINICHE

Il D-dimero è un biomarcatore che, in generale, indica l'attivazione dell'emostasi e della fibrinolisi. È un prodotto di degradazione della fibrina, e si forma quando il reticolo di fibrina viene degradato ad opera dell'attività fibrinolitica indotta dalla plasmina. La ricerca dei D-dimeri di fibrina, marker della formazione e degradazione della fibrina prodotta, costituisce il test clinico più comunemente usato per il rilevamento dell'attivazione del sistema coagulativo. Poiché i livelli plasmatici del D-dimero risultano elevati dopo la formazione del coagulo, la determinazione del D-dimero viene routinariamente impiegata, in associazione con lo studio dei parametri clinici, nella valutazione del sospetto di TVP acuta. Il riscontro di elevati livelli ematici di D-dimero fornisce indicazioni prognostiche per una varietà di condizioni patologiche, quali tromboembolismo venoso, CID, malattie cardiovascolari, malattie infettive e cancro. *D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)* è un test rapido in grado di rilevare qualitativamente la presenza di D-dimero in campioni di siero, plasma o sangue intero: vengono impiegati anticorpi monoclonali in grado di rilevare selettivamente livelli elevati di D-dimero nelle suddette matrici biologiche.

PRINCIPIO DEL METODO

D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma) è un immunodosaggio qualitativo su membrana cromatografica ed impiega anticorpi anti-D-dimero coniugati a particelle di oro colloidale, anticorpi anti-D-dimero adesi alla linea del test (T) ed anticorpi IgG adesi alla linea del controllo (C). Una volta dispensato il campione nel relativo pozzetto del dispositivo, esso reagisce con le particelle rivestite con anticorpi anti-D-dimero. La miscela migra cromatograficamente, per azione capillare, lungo la membrana (inserita nel supporto reattivo o Card) e interagisce con anticorpi anti-D-dimero immobilizzati nella regione della linea T. Se il campione contiene D-dimero, compare una linea di colore porpora nella regione della linea del Test (T) a indicare un risultato positivo. Se il campione non contiene D-dimero, non comparirà alcuna linea in tale area, indicando un risultato negativo. Come controllo procedurale, una linea colorata compare sempre nell'area di controllo (C) a indicare che è stato utilizzato un volume di campione appropriato e che si è verificato l'assorbimento da parte della membrana.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

- Supporti di reazione (card): contengono anticorpi anti-D-dimero coniugati a particelle di oro colloidale, anticorpi anti-D-dimero adesi alla linea del test (T) ed anticorpi IgG umani adesi alla linea del controllo (C).
- Tampone di diluizione (buffer : 0.02% Na₂S₂O₃+0.025% Kanamicina solfato)

PRECAUZIONI

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in vitro*. Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui campioni o kit vengono maneggiati.
- Non utilizzare il supporto di reazione qualora il sacchetto risulti danneggiato.
- Manipolare tutti i campioni come contenenti agenti infettivi. Durante l'intera analisi, adottare le precauzioni indicate contro i pericoli microbiologici e attenersi alle procedure standard per un corretto smaltimento dei campioni.
- Durante l'analisi dei campioni, indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi.
- I supporti di reazione (card) usati devono essere smaltiti in conformità alle normative locali.
- Umidità e temperatura possono esercitare effetti negativi sui risultati.
- Non mescolare reagenti provenienti da lotti di produzione diversi

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Conservare all'interno del suo sacchetto sigillato integro a temperatura ambiente o in frigorifero (2-30 °C). Il test è stabile fino alla data di scadenza indicata sul sacchetto sigillato. Il test deve rimanere nel sacchetto sigillato fino al momento dell'utilizzo. Una volta aperto, il tampone di diluizione è stabile fino a 45 giorni a 2-30°C. **NON CONGELARE.** Non utilizzare mai oltre la data di scadenza

COMPOSIZIONE DEL KIT

- Card reattive monouso: supporti di reazione
- Tampone di diluizione (buffer)
- Contagocce monouso
- Istruzioni per l'uso

ATTREZZATURA RICHIESTA (non a corredo)

- Provette per prelievo
- Lancette pungidito
- Capillari eparinati
- Centrifuga
- Timer

RACCOLTA DEL CAMPIONE

D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma) può essere eseguito su sangue intero (mediante prelievo venoso o pungidito), siero o plasma.

Per la raccolta di **campioni di sangue intero con prelievo venoso**: prelevare campioni di sangue con anticoagulante (sodio o eparina di litio, potassio o sodio EDTA, sodio ossalato, sodio citrato) attenendosi alle procedure standard di laboratorio.

Per la raccolta di **campioni di sangue intero con pungidito**:

- Lavare la mano del paziente con acqua calda e sapone o pulirla con un tampone imbevuto di alcool. Lasciare asciugare.
- Massaggiare la mano, senza toccare il punto dell'inserimento della lancetta, sfregando verso la punta del dito medio o anulare.
- Pungere il dito con una lancetta sterile. Rimuovere le prime gocce di sangue.
- Strofinare delicatamente la mano dal polso verso il palmo e il dito in modo che si formi una quantità di sangue sufficiente sul sito della puntura.
- Dispensare nel test il campione di sangue intero prelevato con il pungidito utilizzando una **provetta per prelievo capillare**.
- Porre a contatto con il sangue l'estremità della provetta per prelievo capillare, fino al raggiungimento della linea (circa 50 µl). Evitare la formazione di bolle d'aria.
- Posizionare il bulbo sull'estremità superiore della provetta per prelievo capillare, quindi premerlo in modo da dispensare il sangue intero nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi.
- Separare il siero o il plasma dal sangue appena possibile, onde evitare emolisi. Utilizzare esclusivamente campioni limpidi, non emolizzati.
- Effettuare il test subito dopo aver prelevato i campioni. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per periodi prolungati. I campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2-8 °C per massimo 3 giorni. Per la conservazione a lungo termine, tenere i campioni a temperature al di sotto di -20 °C. I campioni di sangue intero raccolti per via endovenosa devono essere conservati a una temperatura di 2-8 °C se il test viene effettuato entro 2 giorni dal prelievo. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito devono essere analizzati immediatamente.
- Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire l'analisi. I campioni congelati devono essere scongelati completamente e accuratamente miscelati prima dell'analisi. I campioni non devono essere sottoposti a più cicli di congelamento e scongelamento.
- Se i campioni devono essere spediti, il confezionamento deve essere conforme alle normative locali relative al trasporto di agenti biologici potenzialmente infettanti (biohazard).

PROCEDIMENTO OPERATIVO

Prima di eseguire l'analisi, riportare la card, il campione, il tampone e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30 °C).

1. Portare il sacchetto a temperatura ambiente prima dell'apertura. Rimuovere il dispositivo di analisi dal sacchetto sigillato e utilizzarlo prima possibile.

2. Posizionare il dispositivo di analisi su una superficie piana pulita.

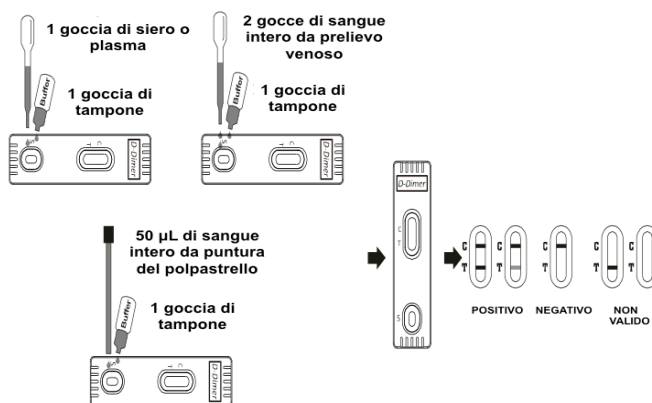
Per i **campioni di siero o plasma**: tenere il contagocce in posizione verticale e **trasferire 1 goccia di siero o plasma** (circa 25 µl) nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi quindi **dispensare 1 goccia di tampone** (circa 40 µl) e avviare il timer. Vedere la figura sotto.

Per i **campioni di sangue intero prelevati mediante prelievo venoso**: tenere il contagocce in posizione verticale e **trasferire 2 gocce di sangue intero** (circa 50 µl) nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi, quindi **dispensare 1 goccia di tampone** (circa 40 µl) e avviare il timer. Vedere la figura sotto.

Per i **campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito**: riempire la provetta per prelievo capillare e **trasferire circa 50 µl di sangue intero prelevato mediante pungidito** nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi, quindi **dispensare 1 goccia di tampone** (circa 40 µl)

e avviare il timer. Vedere la figura sotto.

3. Attendere la comparsa della linea o delle linee colorate. **Leggere i risultati dopo un intervallo di tempo di 15 minuti.** Non interpretare il risultato oltre i 20 minuti dalla dispensazione.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Facendo riferimento allo schema operativo riportato di seguito, si potranno ottenere tre tipi di risultati:

POSITIVO:* compaiono due linee. Una linea colorata deve trovarsi nell'area di controllo (C) e un'altra linea colorata evidente deve trovarsi nell'area di test (T).

*NOTA: l'intensità del colore nell'area di test (T) varia in base alla concentrazione di D-dimero presente nel campione. Pertanto, ogni sfumatura di colore nell'area di test (T) deve essere considerata un risultato positivo.

NEGATIVO: compare una linea colorata nell'area di controllo (C). Non compare alcuna linea nell'area di test (T).

NON VALIDO: non compare la linea di controllo. Le cause più probabili della mancata comparsa della linea di controllo sono rappresentate da un volume di campione insufficiente o da errori procedurali. Verificare la procedura e ripetere l'analisi con una nuova card. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'utilizzo del kit di test e contattare il distributore locale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Nella card è incluso un controllo procedurale interno. La comparsa di una linea colorata nell'area di controllo (C) deve essere considerata un controllo procedurale interno di corretta esecuzione del test. Fornisce la conferma che è stato applicato un volume di campione sufficiente, che si è verificato un adeguato assorbimento da parte della membrana e che è stata utilizzata la tecnica procedurale corretta.

Campioni certificati di controllo non vengono forniti in questo kit; tuttavia, si consiglia di analizzare controlli negativi e positivi come buona prassi di laboratorio, per conferma della procedura di test e per verificare le corrette prestazioni del test.

LIMITAZIONI DEL METODO

1. *D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)* è destinato esclusivamente all'uso diagnostico professionale *in vitro*. Il test deve essere utilizzato esclusivamente per la rilevazione di D-dimero in sangue intero, siero o plasma. Questo test qualitativo non consente di ottenere un valore quantitativo né di determinare il tasso di aumento della concentrazione D-dimero
2. *D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)* è in grado di rilevare esclusivamente la presenza di D-dimero nel campione e **non deve essere utilizzato come unico criterio per la diagnosi di trombosi venosa profonda (TVP), embolia polmonare (EP) e coagulazione intravascolare disseminata (CID)**
3. Per la conferma del dato analitico devono essere eseguiti determinazioni quantitative approvate dalla Autorità Sanitaria, quali ad esempio dosaggio del D-dimero con metodica ELISA.
4. Come per tutti i test diagnostici, i risultati devono essere interpretati unitamente alle altre informazioni cliniche disponibili.
5. *D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)* deve essere considerato esclusivamente un test diagnostico di screening
6. Un risultato negativo non esclude la possibilità di patologie tromboemboliche si consiglia di eseguire analisi aggiuntive con altri metodi clinici.

ATTENZIONE:

Il presente test non fornisce risultati corretti, qualora non vengano seguite scrupolosamente le istruzioni sopra riportate

VALORI ATTESI

D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma) è stato confrontato con metodica rapida di riferimento in commercio, dimostrando una accuratezza complessiva pari al 97,8%.

CARATTERISTICHE DEL METODO

Sensibilità, specificità e accuratezza clinica

D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma) è stato testato su campioni ottenuti da una popolazione di donatori apparentemente sani e da una

popolazione di pazienti. I risultati mostrano che la sensibilità di *D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)* è pari a 97,4% e la specificità di 98,1% relative a kit analoghi in commercio.

SENSIBILITÀ ANALITICA

Lo studio della sensibilità analitica (in lingua originale e fornito a richiesta) mostra che il *cut-off* per la discriminazione negativo/positivo si attesta correttamente a 500 ng/ml (0.5 µg/ml) di D-dimero

Metodo	Analogo test rapido in commercio		Risultati totali	
	Risultato	Positivo		Negativo
<i>D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)</i>	Positivo	76	2	78
	Negativo	2	101	103
Risultati totali		78	103	181

Sensibilità relativa = $76/78=97,4\%$ (95CI⁺ 91,0%-99,7%)

Specificità relativa = $101/103=98,1\%$ (95CI⁺ 93,2%-99,8%)

Accuratezza = $(76+101)/(78+103)=97,8\%$ (95CI⁺ 94,4%-99,4%)

(*)intervallo di confidenza

PRECISIONE

Intrasaggio

La precisione intrasaggio è stata determinata impiegando 15 replicati di tre campioni: D-Dimero a 0µg/ml, 0,5µg/ml e 5µg/ml. I tre campioni sono stati identificati correttamente in misura >99% dei casi.

Intersaggio

La precisione intersaggio è stata determinata attraverso 3 saggi indipendenti dei medesimi 3 campioni: 0µg/ml, 0,5µg/ml e 5µg/ml di D-Dimero. Tre differenti lotti di *D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma)* sono stati utilizzati utilizzando i 3 medesimi campioni. I campioni sono stati identificati correttamente in misura >99% dei casi.

Cross-reattività

D-Dimer Rapid Test (Sangue intero, siero o plasma) è stato testato su campioni reattivi (positivi) per fibrinogeno, monomeri di fibrina, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HbCAb, sifilide, anti-HCV, anti-HIV e anti-H.pylori. I risultati ottenuti hanno dimostrato assenza di cross-reattività

INTERFERENZE

Le sottoelencate sostanze potenzialmente interferenti sono state addizionate, rispettivamente, a campioni negativi e positivi per D-Dimero.

Acetaminofene: 20 mg/dL Caffaina: 20 mg/dL Bilirubina: 1,000mg/dL
 Acido Acetilsalicilico: 20 mg/dL Creatina: 200 mg/dL Acido ossalico: 600mg/dL
 Acido Genticico: 20 mg/dL Acido Ascorbico: 20mg/dL Colesterolo: 800mg/dL
 Emoglobina: 1,000 mg/dL Albumina: 10,500mg/dL Trigliceridi: 1,600mg/dL
 Nessuna delle suddette sostanze alle concentrazioni descritte ha interferito con il presente metodo

BIBLIOGRAFIA

1. Cihan Ay, Daniela Dunkler, Robert Pirker, Johannes Thaler, Peter Quehenberger, Oswald Wagner, Christoph Zielinski, Ingrid Pabinger Haematologica. 2012 August; 97(8): 1158–1164. doi: 10.3324/haematol.2011.054718
2. S Goya Wannamethee, Peter H Whincup, Lucy Lennon, Olia Papacosta, Gordon D Lowe J Am Geriatr Soc. 2014 December; 62(12): 2357–2362. Published online 2014 December 17. doi: 10.1111/jgs.13133
3. J Extracell Vesicles. 2015; 4: 10.3402/jev.v4.27783. Published online 2015 April 21. doi: 10.3402/jev.v4.27783
4. Rao KM, Pieper CS, Currie MS, et al. Variability of plasma IL-6 and cross linked fibrin D-dimer over time in community dwelling elderly subjects. Am J Clin Pathol. 1994;102:802–805

Indice dei simboli

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Esclusivamente per uso diagnostico in vitro		Data di scadenza		Monouso
	Conservare a 2-30 °C		Numero lotto		N. catalogo

Codici di Riordino:

C1515 D-Dimer Rapid Test

10 determinazioni



Bio Plastic Sas – 00100 Roma