

# BBINTERNATIONAL SimpliRED® D-dimer

## INTENDED USE

The SimpliRED® D-dimer assay is a rapid, qualitative test for the detection of cross-linked fibrin degradation products containing the cross-linked D-dimer site in human whole blood. The test can be used by medical professionals at any patient location.

## SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

During blood coagulation, fibrinogen is converted to fibrin by the activation of thrombin. The fibrin monomers polymerise to form a soluble gel of non-cross-linked fibrin. This fibrin gel is then converted to cross-linked fibrin by thrombin activated Factor XIII to form an insoluble fibrin clot. Production of plasmin, the major clot-lysing enzyme, is triggered when a fibrin clot is formed. Fibrinogen and fibrin are both cleaved by the fibrinolytic enzyme plasmin to yield degradation products, but only degradation products from cross-linked fibrin contain D-dimer<sup>(1-3)</sup>. Therefore cross-linked fibrin degradation products (XL-FDP) are a specific marker of fibrinolysis.

## TEST PRINCIPLE

SimpliRED® D-dimer is an autologous red cell agglutination assay. The active agent is a chemical conjugate of a monoclonal antibody specific to D-dimer<sup>(4)</sup> linked to a monoclonal antibody which binds to the red blood cell surface. XL-FDP present in a blood sample binds to the conjugate on the red blood cells causing cross-linking between conjugate groups of adjacent cells which results in visible agglutination. In the absence of D-dimer, the conjugate attached to the red blood cells does not cause agglutination<sup>(5-6)</sup>.

## REAGENTS

### Composition

- SimpliRED® D-dimer Test Reagent: a solution containing red blood cell-anti XL-FDP antibody conjugate, stabilizers, 5.0mg/mL BSA and 0.05% sodium azide as preservative.
- SimpliRED® D-dimer Positive Control: a solution containing purified human D-dimer fragment, stabilizers, 5.0mg/mL BSA and 0.05% sodium azide as preservative.
- SimpliRED® D-dimer: Negative Control: a 0.9% saline solution containing 0.05% sodium azide as preservative.

### Warnings and Precautions

- For In Vitro Diagnostic Use Only.
- Reagents contain sodium azide (0.05%). Do not ingest or allow to contact skin or mucous membranes. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. If discarded into sink, flush with a large volume of water to prevent azide build up.
- SimpliRED® D-dimer Positive Control contains components of human origin. Each individual blood donation intended for the production of this reagent is tested for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 and anti-HIV2 antibodies. Only donations with negative findings are employed. As complete absence from infectious agents can never be assured, the reagent should be treated as potentially infectious and handled with due care following the precautions recommended for biohazardous materials.

### Preparation for Use

Reagents require no preparation and are ready for use when brought to room temperature for at least 10 minutes.

### Storage And Stability

Store reagents at 2°C to 8°C. Do not freeze.

Do not use reagents past the expiration date stated on the package label.

### Indication of Reagent Deterioration

A Positive Control is included in the kit. Failure of this control to cause agglutination is an indication of loss of activity in the kit reagents.

## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The SimpliRED® D-dimer test is designed for use with freshly collected capillary or venous whole blood.

Venous blood collected into sodium citrate, heparin or EDTA as anticoagulant is acceptable. Blood with anticoagulant should be tested within 4 hours of collection if kept at room temperature (20-23.5°C), or can be stored refrigerated for 24 hours prior to testing. Blood without anticoagulant should be used immediately after collection.

Samples showing evidence of clotting are unsuitable for testing.

## PROCEDURE

### Materials Provided:

Test Reagent	1 x 1.0mL (Red Cap)	Sufficient for 40 tests
Negative Control	1 x 1.0mL (Black Cap)	Sufficient for 40 tests
Positive Control	1 x 0.6mL (Yellow Cap)	Sufficient for 40 tests
Agglutination Trays	x 40	Two wells each, for agglutination reaction
Stirrers	x 40	White plastic stirrers for mixing reagent and sample

Instructions for Use

### Materials Required But Not Provided:

A timing device suitable for the measurement of the 2 minute reaction time

Pipette and tips capable of dispensing 10µL

Disposable gloves

### Procedural Notes:

- Mix the reagents before use but do not shake.
- Prior to each use, the dropper bottle tips must be wiped dry with a tissue.
- Dropper bottles must be held vertically when dispensing drops of reagent.
- Drop the reagents into the centre of the wells and do not touch dropper tips to any blood sample or other liquid.
- Do not use drops that clearly contain too little or too much reagent.
- Do not touch the inside surface of the reaction wells. Fingerprints may cause uneven wetting.
- Care should be taken not to switch bottle caps. The vial labels and caps have matching colours to assist in identification.
- Treat all patient samples as if they are potentially infectious and observe recommended handling precautions.

# BBINTERNATIONAL SimpliRED® D-dimer

## INDICATIONS

The test SimpliRED® D-dimer est un test qualitatif rapide de dépistage des produits de dégradation de la fibrine réticulée contenant un site de D-Dimères réticulés dans le sang total humain. Ce test peut être utilisé par des professionnels de la santé dans tout établissement médical.

## RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Au cours de la coagulation sanguine, l'activation de la thrombine entraîne une conversion du fibrinogène en fibrine. La polymérisation des monomères de fibrine donne naissance à un gel soluble constitué de molécules de fibrine non réticulées. Dans un deuxième temps, ce gel devient un caillot fibreux insoluble lorsque l'activation du facteur XIII par la thrombine induit une réticulation du réseau de fibrine. La formation d'un caillot fibreux déclenche la synthèse de la plasmine, qui est la principale enzyme thrombolytique. L'activité fibrinolytique de la plasmine s'exerce sur le fibrinogène et la fibrine et donne naissance à des produits de dégradation, mais seuls les produits provenant de la fibrine réticulée contiennent des D-dimères<sup>(1-3)</sup>. Ces produits de dégradation de la fibrine réticulée (XL-FDP) sont donc des marqueurs spécifiques de la fibrinolyse.

## PRINCIPE DE L'EXAMEN

SimpliRED® D-dimer est un test d'agglutination des globules rouges autologues. L'agent actif est un conjugué chimique d'un anticorps monoclonal spécifique des D-Dimères<sup>(4)</sup> lié à un anticorps monoclonal qui se fixe à la surface des globules rouges. Les XL-FDP présents dans un échantillon sanguin se lient au conjugué à la surface des globules rouges, provoquant une réticulation entre les groupes conjugués des cellules adjacentes, qui se traduit par une agglutination visible. En l'absence de D-Dimères, le conjugué fixé aux globules rouges ne provoque pas d'agglutination<sup>(5-6)</sup>.

## REACTIFS

### Composition

- SimpliRED® D-dimer, réactif d'examen : solution contenant un conjugué d'anticorps anti-XL-FDP et de globules rouges, stabilisateurs, 5,0 mg/ml de BSA et 0,05 % d'azide de sodium comme agent de conservation.
- SimpliRED® D-dimer, témoin positif : solution contenant un fragment de D-Dimères humains purifiés, stabilisateurs, 5,0 mg/ml de BSA et 0,05 % d'azide de sodium comme agent de conservation.
- SimpliRED® D-dimer, témoin négatif : sérum physiologique à 0,9 % contenant 0,05 % d'azide de sodium comme agent de conservation.

### Mises en garde et précautions d'emploi

- Réservé au diagnostic médical *in vitro*.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,05 %). Ne pas ingérer et éviter le contact avec la peau ou les muqueuses.
- En présence du plomb ou du cuivre qui entre dans la composition des tuyaux d'adduction et d'évacuation d'eau, l'azide de sodium peut donner naissance à des acides métalliques extrêmement explosifs. En cas d'évacuation de la solution dans l'évier, rincer abondamment avec de l'eau pour éviter l'accumulation d'azide.
- SimpliRED® D-dimer, témoin positif, contient des composants d'origine humaine. Chaque don individuel de sang destiné à la production de ce réactif fait l'objet d'un dépistage de l'Ag HBs et des anticorps anti-HCV, anti-VIH1 et anti-VIH2. Seuls les dons générant des résultats négatifs sont utilisés. Comme l'absence complète d'agents infectieux ne peut jamais être garantie, le réactif doit être traité comme potentiellement infectieux et manipulé avec prudence en respectant les précautions d'usage pour les matériaux biologiques dangereux.

### Préparation

Les réactifs n'ont pas besoin de préparation ; ils sont prêts à l'emploi après avoir été ramenés à température ambiante pendant au moins 10 minutes.

### Conservation et stabilité

Conserver les réactifs à une température entre 2 °C et 8 °C. Ne pas congeler.

Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption figurant sur l'étiquette du conditionnement.

### Indication de détérioration du réactif

Un témoin positif est inclus dans la trousse. L'échec de ce témoin à provoquer l'agglutination témoigne d'une perte d'activité des réactifs de la trousse.

## RECUEIL ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Le test SimpliRED® D-dimer est conçu pour être utilisé avec du sang total capillaire ou veineux prélevé de manière extemporanée.

Le sang veineux anticoagulé avec du citrate de sodium, de l'héparine ou de l'EDTA est acceptable. Le sang anticoagulé doit être examiné dans un délai de 4 heures après le prélèvement en cas de conservation à température ambiante (20-23,5 °C) ou conservé au réfrigérateur pendant 24 heures avant l'examen. Le sang non anticoagulé doit être utilisé immédiatement après le prélèvement.

Ne pas utiliser les échantillons présentant des caillots.

## PROCEDURE D'EXECUTION DE L'EXAMEN

### Matériel fourni :

Réactif d'examen	1 x 1,0 ml (bouchon rouge)	q.s. pour 40 examens
Témoin négatif	1 x 1,0 ml (bouchon noir)	q.s. pour 40 examens
Témoin positif	1 x 0,6 ml (bouchon jaune)	q.s. pour 40 examens
Plateaux d'agglutination	x 40	Deux puits chacun, pour la réaction d'agglutination
Mélangeurs	x 40	Mélangeurs en plastique blanc pour mélanger le réactif et l'échantillon

Mode d'emploi

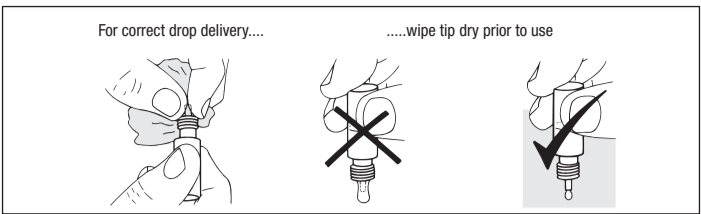
### Matériel nécessaire mais non fourni :

Chronomètre permettant de mesurer le temps de réaction qui est de 2 minutes

Pipettes et embouts permettant de délivrer un volume de 10 µl

Gants jetables

## REVISION 2007-09



- A. Test Method:**
- Bring reagents to room temperature.
  - Mix whole blood samples gently but thoroughly and DO NOT ALLOW THE CELLS TO SETTLE OUT.
  - For each test sample, pipette 10µL of whole blood into each of the reaction wells labelled as " – " (Negative Control well) and " TEST " (Test well) on an agglutination tray. Use a new tip for each sample. Discard used tips in a biohazard bag.
  - Add one drop of Negative Control (black cap) to the Negative Control well.
  - Add one drop of Test Reagent (red cap) to the Test well.
  - Using a plastic stirrer (provided), mix the contents of the Negative Control well followed by the Test well for approximately 3 to 5 seconds, ensuring thorough mixing and spreading of reagent across the entire well surface. Discard the used stirrer into a biohazard bag.
  - Mix by gentle rocking of agglutination tray for 2 minutes.
  - Examine each well for the presence of agglutination and record the results.
  - The result is positive if the Test well shows any agglutination compared to the Negative Control well. If the Negative Control agglutinates the test is invalid.
  - If the Test result is negative, add one drop of Positive Control (yellow cap) to the Test well and rock the slide. A visible agglutination reaction should be apparent within 15 seconds. The absence of any agglutination renders the test invalid.
  - Discard the used agglutination tray into a biohazard container - do not re-use.
- B. QC Method - positive control:**
- To conduct a quality control test using the SimpliRED® D-dimer Positive Control, follow the directions in the Test Method from steps 1 to 9 (inclusive), **but substitute the following procedure for step 3 of the Test Method.**
- Use a whole blood sample that has a negative D-dimer test result.**
  - Pipette 10µL of the D-dimer negative whole blood into both the Negative Control well and the Test well of an unused agglutination tray.
  - Add one drop of SimpliRED® D-dimer Positive Control (yellow cap) to the Test well only.

### Quality Control:

A Negative Control and a Positive Control are provided in the kit. The Negative Control should be run with each specimen that is tested and should be used as a comparative reference for absence of agglutination. If agglutination occurs with the Negative Control, the result is invalid. At a minimum, a quality control test using the kit Positive Control (refer to QC Method - positive control) should be conducted with each run of patient samples. The Positive Control reagent should also be used to confirm the validity of a negative SimpliRED® D-dimer test result (refer to step 10, Test Method). Failure of the Positive Control to cause agglutination is an indication of loss of reactivity in the kit reagents.

Control samples should also be tested before using a new lot of SimpliRED® D-dimer, and at any time that the validity of results is questioned. In addition, a quality control test using both positive and negative controls should be tested at other intervals if required by local, state and/or federal regulations or accreditation programs.

### Interpretation of Results:

For the correct interpretation of results the agglutination pattern in both wells should be noted.

- Positive Result**  
Visible evidence of agglutination present in the Test well when compared to the Negative Control well.
- Negative Result**  
No agglutination visible in the Test well when compared to the Negative Control well, followed by the formation of a positive agglutination reaction when the confirmatory test is performed with the Positive Control reagent (refer to step 10, Test Method).
- Results are invalid if**
  - agglutination occurs in the Negative Control well
  - the Positive Control fails to agglutinate

Tests with invalid results should be repeated.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The SimpliRED® D-dimer assay procedure and interpretation of results must be followed closely. Failure to do so will render the test result invalid.

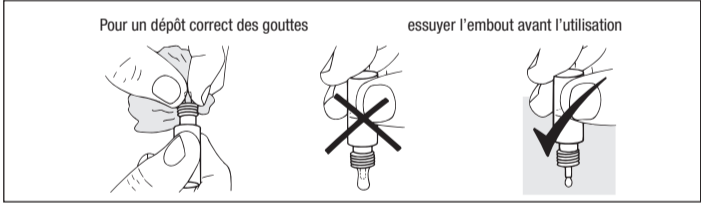
A clinical diagnosis should not be based on the results of SimpliRED® D-dimer alone. Clinical signs and other relevant test information should be included in the diagnostic decision.

Normal hematocrit values are 0.45 ± 0.05 (L/L) for men and 0.41 ± 0.05 (L/L) for women<sup>(7)</sup>. Hematocrit values outside the range of 0.40 - 0.50 (L/L) have not been evaluated and may affect the performance of the SimpliRED® D-dimer test.

The presence of cold acting auto-antibodies (cold agglutinins) in patient specimens can cause agglutination of the patient's own red blood cells<sup>(8)</sup>. In the SimpliRED® D-dimer whole blood agglutination assay this may cause agglutination of the Negative Control. This invalidates the test result.

### Procédures d'exécution de l'examen :

- Mélanger les réactifs avant l'utilisation mais ne pas agiter.
- Avant chaque utilisation, l'embout du flacon doit être essuyé à l'aide d'un mouchoir en papier.
- Tenir le flacon verticalement pour déposer les gouttes de réactif.
- Déposer les gouttes de réactif au centre des puits et éviter tout contact entre les embouts des pipettes et l'échantillon sanguin ou tout autre liquide.
- Ne pas utiliser les gouttes qui contiennent manifestement trop ou trop peu de réactif.
- Ne pas toucher la face interne des puits de réaction. Les empreintes digitales peuvent générer une diffusion inégale.
- Faire attention à ne pas intervenir les bouchons des flacons. Les étiquettes et les bouchons des flacons ont des couleurs assorties afin de faciliter leur identification.
- Traiter tous les échantillons médicaux comme potentiellement infectieux et respecter les précautions de manipulation préconisées.



### A. Méthode d'examen :

- Amener les réactifs à température ambiante.
- Mélanger les échantillons de sang total délicatement mais soigneusement et NE PAS LAISSER LES CELLULES SEDIMENTER.
- Pour chaque échantillon à examiner, déposer avec la pipette 10 µl de sang total dans chacun des puits de réaction étiquetés " – " (puits du témoin négatif) et "EXAMEN" (puits d'examen) sur un plateau d'agglutination. Utiliser un nouvel embout pour chaque échantillon. Eliminer les embouts après utilisation dans une poche pour matériaux biologiques dangereux.
- Ajouter une goutte de témoin négatif (bouchon noir) dans le puits du témoin négatif.
- Ajouter une goutte de réactif d'examen (bouchon rouge) dans le puits d'examen.
- A l'aide d'un mélangeur en plastique (fourni), mélanger soigneusement le contenu du puits de témoin négatif, puis celui du puits d'examen pendant 3 à 5 secondes environ, afin de bien mélanger et répartir le réactif sur toute la surface des puits. Eliminer le mélangeur après utilisation dans une poche pour matériaux biologiques dangereux.
- Mélanger par balancement délicat du plateau d'agglutination pendant 2 minutes.
- Examiner chaque puits à la recherche de la présence d'une agglutination et enregistrer les résultats.
- Le résultat est positif si le puits d'examen montre une agglutination par rapport au puits du témoin négatif. Si le témoin négatif provoque une agglutination, l'examen n'est pas valide.
- Si le résultat de l'examen est négatif, ajouter une goutte de témoin positif (bouchon jaune) dans le puits d'examen et agiter la lame par balancement. Une réaction d'agglutination visible doit être apparente dans un délai de 15 secondes. L'absence d'agglutination invalide l'examen.
- Eliminer le plateau d'agglutination après utilisation dans un conteneur pour matériaux biologiques dangereux - ne pas réutiliser.

### B. Méthode CQ - témoin positif :

Pour réaliser un test de contrôle qualité à l'aide du SimpliRED® D-dimer, témoin positif, respecter les instructions de la Méthode d'examen, étapes 1 à 9 (incluses), **mais remplacer l'étape 3 de la Méthode d'examen par la procédure suivante.**

- Utiliser un échantillon de sang total ayant donné un résultat négatif au test de dépistage des D-Dimères.**
- Déposer avec la pipette 10 µl de sang total négatif pour les D-Dimères dans le puits de témoin négatif et dans le puits d'examen d'un plateau d'agglutination non utilisé.
- Ajouter une goutte de SimpliRED® D-dimer, témoin positif (bouchon jaune), dans le puits d'examen uniquement.

### Contrôle Qualité :

Un témoin négatif et un témoin positif sont fournis dans la trousse. Le témoin négatif doit être utilisé pour vérifier les caractéristiques fonctionnelles de chaque échantillon examiné et doit être utilisé comme comparateur pour l'absence d'agglutination. En cas d'agglutination avec le témoin négatif, le résultat n'est pas valide. Au moins un test de contrôle qualité utilisant la trousse de témoin positif (voir la Méthode de CQ - témoin positif) doit être réalisé sur chaque série d'échantillons médicaux. Le réactif de témoin positif doit également être utilisé pour confirmer la validité d'un résultat de test SimpliRED® D-dimer négatif (voir l'étape 10, Méthode d'examen). L'échec d'un témoin positif à produire une agglutination témoigne de la perte de réactivité dans les réactifs de la trousse.

Les échantillons témoins doivent également être examinés avant l'utilisation d'un nouveau lot de SimpliRED® D-dimer et à chaque fois qu'il existe un doute concernant la validité des résultats. Par ailleurs, un test de contrôle qualité utilisant des témoins positifs et négatifs doit être mis en œuvre aux intervalles éventuellement requis par les réglementations locales, étatiques et/ou fédérales ou par les programmes d'homologation.

### Interprétation des résultats :

Pour l'interprétation correcte des résultats, le profil d'agglutination dans les deux puits doit être noté.

- Résultat positif**  
Signe visible d'agglutination présent dans le puits d'examen par rapport au puits de témoin négatif.
- Résultat négatif**  
Absence d'agglutination visible dans le puits d'examen par rapport au puits de témoin négatif, suivie de la formation d'une réaction d'agglutination positive au test de confirmation réalisé avec le réactif témoin positif (voir l'étape 10, Méthode d'examen).
- Les résultats ne sont pas valides si**
  - l'agglutination se produit dans le puits de témoin négatif
  - le témoin positif ne provoque pas d'agglutination.

Les examens avec des résultats non valides doivent être répétés.

## EXPECTED VALUES

A positive result, indicating active fibrinolysis, should be obtained with SimpliRED® D-dimer when XL-FDP (D-dimer) levels are at or greater than the cut-off of approximately 0.12mg/L as measured by AGEN's reference quantitative method.

Elevated levels of XL-FDP indicate reactive fibrinolysis and are found in a number of clinical conditions including deep vein thrombosis (DVT), pulmonary embolism (PE), disseminated intravascular coagulation (DIC) and other coagulation disorders<sup>(9-13)</sup>. XL-FDP levels have also been used as a predictive indicator in acute myocardial infarction; evaluation of XL-FDP levels has been used to monitor thrombolytic therapy with streptokinase and tissue plasminogen activator<sup>(14-15)</sup>. Elevated levels of XL-FDP as an indication of reactive fibrinolysis have also been reported in surgery, trauma, sickle cell disease, liver disease, severe infection/sepsis, inflammation and malignancy<sup>(16-17)</sup>.

## SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 1. Clinical Correlation

- Sub-analysis of an independent prospective management study performed at multiple centers in Europe<sup>(18)</sup>:

At referral, 1739 patients with suspected deep vein thrombosis (DVT) underwent independent assessment by means of ultrasonography of the proximal veins, SimpliRED® D-dimer testing and a pretest clinical model.

SimpliRED® D-dimer Result	Confirmed DVT (by ultrasonography)	
	(+)	(-)
(+)	385	520
(-)	6	828

Summary:

Results of SimpliRED® D-dimer testing at patient referral compared to ultrasonography:
Sensitivity: 98.5% (95% CI = 96.5 - 99.4)    Specificity: 61.4% (95% CI = 58.8 - 64.0)

The venous thromboembolic complication rate for a 3-month period in these patients with an initial normal SimpliRED® D-dimer was found to be 2.8% (95% CI = 1.8 - 3.5). Deep vein thrombosis cannot be safely refuted on the basis of a normal SimpliRED® D-dimer assay alone.

- An independent, prospective, non-interventional study performed at 6 US teaching hospitals<sup>(19)</sup>:

At referral, 380 patients with suspected pulmonary embolism (PE) were tested with SimpliRED® D-dimer and alveolar dead-space fraction measurement prior to standard testing for PE. This study used arterial blood for SimpliRED® testing.

SimpliRED® D-dimer Result	Confirmed PE*	
	(+)	(-)
(+)	60	104
(-)	4	212

\*Clinical diagnosis confirmed by either radionuclide lung scan or contrast enhanced helical chest computed tomography, plus selective use of pulmonary angiography and venous ultrasonography and 6 month follow up.

Summary:

Results of SimpliRED® D-dimer testing:
Sensitivity: 93.8 % (95% CI = 84.8 - 98.3)    Specificity: 67.1% (95% CI = 61.9 - 72.3)

SimpliRED® D-dimer should be used in conjunction with other clinical data. The sensitivity for diagnosis of PE was 98.4% (95%CI = 91.6 - 100.0) when an abnormal alveolar dead space was added to the clinical diagnostic algorithm. The posterior probability of PE with normal results on both tests was 0.75%.

### 2. Specificity

The cross-linked fibrin degradation products D-dimer, D-dimer E, and high molecular weight derivatives are all recognised by the SimpliRED® D-dimer whole blood agglutination assay monoclonal antibodies. No binding was found to the fibrinogen degradation products, X, Y, D and E or to fibrinogen to 1000mg/L<sup>(6)</sup>.

### 3. Interfering Substances

No assay interference was demonstrated with SimpliRED® D-dimer with spiked specimens containing potential interferences at the following concentrations:

    Bilirubin 0.2mg/mL      Protein (gamma globulin) 50 mg/mL      Lipids (triglycerides) 10 mg/mL

Evidence of interference by Rheumatoid Factor (in the form of false positive results) was observed at levels greater than 200 IU/mL.

## LIMITES DE L'EXAMEN

La procédure d'examen SimpliRED® D-dimer et l'interprétation des résultats doivent être étroitement suivis. A défaut, le résultat de l'examen ne sera pas valide. Le diagnostic clinique ne doit pas reposer uniquement sur les résultats du test SimpliRED® D-dimer. Le diagnostic sera défini en fonction des signes cliniques et des données des autres examens complémentaires.

Les valeurs normales pour l'hématocrite sont de 0,45 ± 0,05 (l/l) pour les hommes et de 0,41 ± 0,05 (l/l) pour les femmes<sup>(7)</sup>. Les valeurs de l'hématocrite en dehors de l'intervalle 0,40 - 0,50 (l/l) n'ont pas été évaluées et pourraient affecter les caractéristiques fonctionnelles du test SimpliRED® D-dimer.

La présence d'auto-anticorps agissant à froid (agglutinines froides) dans des échantillons médicaux peut provoquer l'agglutination des propres globules rouges du patient<sup>(8)</sup>. Dans le test d'agglutination sur sang total SimpliRED® D-dimer, cette présence pourrait provoquer l'agglutination du témoin négatif, ce qui rendrait le résultat du test non valide.

## VALEURS ATTENDUES

Un résultat positif compatible avec une fibrinolyse active s'observe avec le test SimpliRED® D-dimer lorsque le taux de XL-FDP (D-dimères) est supérieur à 0,12 mg/l environ, mesuré à l'aide de la méthode quantitative de référence d'AGEN.

Une élévation du taux de XL-FDP indique l'existence d'une fibrinolyse active ; elle est retrouvée dans un certain nombre de pathologies, telles que la thrombose veineuse profonde (TVP), l'embolie pulmonaire (EP), la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et d'autres troubles de la coagulation<sup>(9-13)</sup>. Le taux de XL-FDP a également été utilisé comme indicateur prédictif dans l'infarctus du myocarde aigu ; l'évaluation du taux de XL-FDP a été utilisée pour surveiller le traitement thrombolytique par la streptokinase et l'activateur tissulaire du plasminogène<sup>(14-15)</sup>. Des taux élevés de XL-FDP indicateurs d'une fibrinolyse active ont également été rapportés dans les situations suivantes : chirurgie, traumatismes, drépanocytose, maladie hépatique, infection/sepsis sévère, inflammation et cancers<sup>(16-17)</sup>.

## CARACTERISTIQUES FON

# BBINTERNATIONAL SimpliRED® D-dimer

## UTILIZZO

L'analisi al SimpliRED® D-dimer è un test qualitativo rapido per il rilevamento di prodotti di degradazione della fibrina incrociata contenenti il sito D-dimero incrociato nel sangue umano intero. Il test puo' essere utilizzato da medici su pazienti in qualunque luogo.

## RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Durante la coagulazione del sangue, il fibrinogeno è trasformato in fibrina tramite attivazione della trombina. I monomeri della fibrina si polimerizzano per formare un gel solubile di fibrina non incrociata. Questo gel di fibrina viene quindi trasformato in fibrina incrociata dal Fattore XIII attivato dalla trombina, per formare un coagulo di fibrina insolubile. Quando si forma un tale coagulo di fibrina, si induce anche la produzione del più importante enzima della lisi di coaguli, la plasmina. Sia il fibrinogeno che la fibrina sono entrambi scissi dalla plasmina, un enzima fibrinolitico, per formare prodotti di degradazione, ma solo i prodotti di degradazione della fibrina incrociata contengono il dimero-D<sup>3</sup>-D<sup>3</sup>. Ne risulta quindi che i prodotti di degradazione della fibrina incrociata (XL-FDP) sono il vero marker specifico della fibrinolisi.

## PRINCIPIO DEL TEST

Il SimpliRED® D-dimer è un test autologo dell'agglutinazione delle emazie. L'agente attivo è un coniugato chimico di un anticorpo monoclonale specifico al D-dimero® legato ad un anticorpo monoclonale che si fissa sulla superficie delle emazie. L' XL-FDP presente in un campione di sangue si lega al coniugato sulle emazie causando legami incrociati tra i gruppi coniugati di cellule adiacenti dando quindi origine ad una visibile agglutinazione. Ma in assenza di D-dimero, il coniugato fissato alle emazie non produce agglutinazione <sup>6-9</sup>.

## REATTIVI

### Composizione

- SimpliRED® D-dimer, reattivo del test : soluzione contenente un coniugato anticorpale ematico anti-XL-FDP, stabilizzatori, 5.0mg/mL di sieroaalbumina bovina (BSA) e 0.05% di azide sodica come conservante.
- SimpliRED® D-dimer, controllo positivo: una soluzione contenente frammento purificato di dimero-D umano, stabilizzatori, 5.0mg/mL BSA e 0.05% di azide sodica come conservante.
- SimpliRED® D-dimer, controllo negativo: soluzione fisiologica allo 0.9% contenente 0.05% di azide sodica come conservante.

### Avvertenze e Precauzioni

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- I reattivi contengono azide sodica (0.05%). Non ingoiare né permettere ai reattivi di entrare in contatto con pelle o mucose. L'azide sodica puo' reagire con le tubature di piombo e rame e formare azidi metalliche fortemente esplosive. Se il prodotto è scaricato in un lavabo, far scorrere molta acqua per evitare l'accumulo di azidi.
- Il SimpliRED® D-dimer, controllo positivo, contiene dei componenti di origine umana. Ogni singolo campione di sangue che serve alla produzione di questo reattivo è analizzato per il rilevamento di anticorpi HBSAg, anti-HCV, anti-HIV1 e anti-HIV2. Saranno utilizzati solamente i campioni di sangue che hanno dato risultati negativi. Essendo impossibile assicurare la completa assenza di agenti infettivi, il reattivo dovrà essere trattato come potenzialmente infettivo, e quindi manipolato con la necessaria attenzione secondo le precauzioni raccomandate per i materiali biologici pericolosi.

### Preparazione per l'uso

I reattivi non richiedono alcuna preparazione e sono pronti per l'uso quando sono portati e mantenuti a temperatura ambiente per almeno 10 minuti.

### Conservazione e stabilità

Conservare i reattivi da 2°C a 8°C. Non congelare.

Non usare i reattivi dopo la data di scadenza indicata nell'etichetta di condizionamento.

### Indicazione di deterioramento dei reattivi

Il kit contiene un controllo positivo. L'impossibilità di produrre agglutinazione con questo controllo indica che i reattivi del kit sono diventati inattivi.

### RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il test SimpliRED® D-dimer è indicato per uso con sangue intero capillare o venoso raccolto di recente.

Il sangue venoso raccolto usando citrato di sodio, eparina o EDTA come anticoagulanti è accettabile. Il sangue con anticoagulante deve essere analizzato entro 4 ore dalla raccolta se viene conservato a temperatura ambiente (20-23.5°C), oppure puo' essere conservato in frigorifero per 24 ore prima del test. Sangue raccolto senza anticoagulante deve essere utilizzato immediatamente dopo il prelevamento.

I campioni che presentano segni di coagulazione non sono adatti per il test.

### PROCEDIMENMTO

#### Materiale fornito:

Reattivo per test:	1 x 1.0mL (tappo rosso)	sufficiente per 40 test
controllo negativo:	1 x 1.0mL (tappo nero)	sufficiente per 40 test
controllo positivo:	1 x 0.6mL (tappo giallo)	sufficiente per 40 test
Vassoi per agglutinazione:	x 40	due pozzetti ciascuno per la reazione di agglutinazione
Agitatori	x 40	agitatori di plastica bianca per mescolare reattivo e campione

Istruzioni per l'uso

#### Materiali necessari ma non forniti:

Un contaminanti per la misura del tempo di reazione di 2 minuti

Pipetta e punte per la distribuzione di 10µL

Guanti monouso

#### Consigli di procedura:

- Mescolare i reattivi prima dell'uso ma senza agitarli.
- Prima di ogni uso, le punte del flacone contagocce vanno asciugate con un tessuto.
- Per distribuire gocce di reattivo i flaconi contagocce vanno tenuti verticalmente.
- Far gocciare i reattivi nel centro dei pozzetti evitando che la punta del contagocce tocchi il sangue o altro liquido.
- Non utilizzare gocce che evidentemente contengono troppo reattivo, o troppo poco.
- Non toccare la superficie interna dei pozzetti di reazione. Impronte di dita potrebbero causare una disuguale diffusione di liquido.
- Fare attenzione a non scambiare i tappi delle bottiglie. Le etichette dei flaconi ed i tappi sono colorati ugualmente per facilitare la loro identificazione.
- Trattare tutti i campioni dei pazienti come se fossero potenzialmente infettivi e rispettare le precauzioni di manipolazione raccomandate.



#### A. Modalità del test:

- Portare i reattivi a temperatura ambiente.
- Mescolare i campioni di sangue intero delicatamente ma a fondo, EVITANDO CHE LE CELLULE SEDIMENTINO.
- Per ogni campione da analizzare, pipettare 10µL di sangue intero dentro ciascuno dei pozzetti di reazione contrassegnati con “ – ” (pozzetto per il controllo negativo) e “ TEST ” (pozzetto per il test) su un vassoio da agglutinazione. Utilizzare una nuova punta per ogni campione. Gettare le punte usate nell'apposito contenitore per materiali pericolosi.
- Aggiungere una goccia di controllo negativo (tappo nero) al pozzetto del controllo negativo.
- Aggiungere una goccia di Reattivo per Test (tappo rosso) al pozzetto TEST.
- Usando un agitatore di plastica (fornito), mescolare il contenuto del pozzetto di controllo negativo seguito da quello del pozzetto Test per circa 3 - 5 secondi, assicurandosi di una completa miscelazione e diffusione del reattivo su tutta la superficie del pozzetto. Gettare l'agitatore usato nell'apposito contenitore per materiali pericolosi.
- Mescolare scuotendo lentamente il vassoio d'agglutinazione per 2 minuti.
- Controllare che in ogni pozzetto si sia formata agglutinazione, e annotare i risultati.
- Il risultato è positivo se nel pozzetto Test si è formata agglutinazione rispetto al pozzetto del controllo negativo. Se il controllo negativo è agglutinato il test non è valido.
- Se il risultato del test è negativo, aggiungere una goccia di controllo positivo (tappo giallo) al pozzetto Test e scuotere la lastra. Una netta reazione di agglutinazione dovrebbe manifestarsi entro 15 secondi. Se non si forma agglutinazione il test non è valido.
- Gettare il vassoio da agglutinazione usato nell'apposito contenitore per materiali pericolosi - non riusarlo.

#### B. Metodo CQ - controllo positivo:

Per eseguire un test di controllo di qualità (CQ) usando il SimpliRED® D-dimer controllo positivo, seguire le istruzioni indicate nelle Modalità del test nei punti 1 a 9 (incluso), **ma sostituire il punto 3 con la seguente procedura**.

- Usare un campione di sangue intero che abbia dato un risultato negativo al test del dimero-D.**

b. Pipettare 10µL del sangue intero negativo al dimero-D nel pozzetto del controllo negativo ed in quello per Test in un vassoio per agglutinazione non usato.

- Aggiungere una goccia di SimpliRED® D-dimer, controllo positivo (tappo giallo), solo al pozzetto Test.

#### Controllo di Qualità:

Un controllo negativo ed un controllo positivo sono forniti nel kit. Il controllo negativo va eseguito con ogni campione che sarà analizzato e andrebbe usato come riferimento di paragone in caso di mancata agglutinazione. Se si forma agglutinazione con il controllo negativo, il risultato non è valido. Come minimo, un test di controllo di qualità usando il controllo positivo del kit (riferirsi al Metodo CQ - controllo positivo) dovrebbe essere eseguito ad ogni analisi dei campioni di sangue dei pazienti. Il reattivo del controllo positivo dovrebbe essere usato anche per confermare la validità del risultato di un test SimpliRED® D-dimer negativo (riferirsi al punto 10 di Metodologia di Test). Se con il controllo positivo non si verifica agglutinazione, questo indica che i reattivi del kit hanno perduto la loro attività.

I campioni di controllo dovrebbero anche essere analizzati prima di utilizzare un nuovo lotto di SimpliRED® D-dimer, come pure ogni volta che la validità dei risultati è in dubbio. Inoltre, un test di controllo di qualità usando entrambi i controlli positivo e negativo dovrebbe essere eseguito ad altri intervalli di tempo se richiesto da regolamenti locali, statali, e/o federali o programmi di accreditamento.

#### Interpretazione dei risultati:

Per una corretta interpretazione dei risultati bisogna annotare l'aspetto dell'agglutinazione in entrambi i pozzetti.

- Risultato positivo**  
Chiara evidenza di agglutinazione nel pozzetto Test paragonato al pozzetto di controllo negativo.
- Risultato negativo**  
Non si manifesta agglutinazione nel pozzetto Test paragonato al pozzetto di controllo negativo, con successiva reazione di agglutinazione positiva quando il test di conferma viene eseguito con il reattivo di controllo positivo (riferirsi al punto 10, Metodologia di test).
- I risultati non sono validi se:**
  - l'agglutinazione avviene nel pozzetto di controllo negativo
  - il controllo positivo non agglutina.

I test i cui risultati non sono validi vanno ripetuti.

#### LIMITI DELLA PROCEDURA

La procedura di test del SimpliRED® D-dimer e l'interpretazione dei risultati devono essere accuratamente seguite, altrimenti i risultati del test non si potranno considerare validi. Una diagnosi clinica non dovrebbe essere basata solamente sui risultati del SimpliRED® D-dimer. I segni clinici ed altre informazioni relative al test dovranno essere presi in considerazione per arrivare ad una decisione diagnostica.

I valori di ematocrito normale sono: 0.45 ± 0.05 (L/L) per l'uomo e 0.41 ± 0.05 (L/L) per la donna <sup>7</sup>. Valori di ematocrito al di fuori dell'intervallo 0.40 - 0.50 (L/L) non sono stati valutati e potrebbero influenzare l'attuazione del test SimpliRED® D-dimer.

La presenza di auto-anticorpi freddi (agglutinine a freddo) nei campioni ottenuti da un paziente potrebbe causare agglutinazione delle emazie del paziente stesso <sup>8</sup>. Nel test di agglutinazione con SimpliRED® D-dimer di sangue intero il controllo negativo potrebbe agglutinare, il che invaliderebbe il risultato del test.

#### VALORI ATTESI

Un risultato positivo, indicante fibrinolisi attiva, dovrebbe essere ottenuto con SimpliRED® D-dimer quando i livelli di XL-FDP (dimero-D) sono uguali o superiori al valore di soglia di circa 0.12mg/L misurato secondo il metodo quantitativo di riferimento AGEN.

Livelli elevati di XL-FDP indicano fibrinolisi reattiva e sono trovati in diverse condizioni cliniche come trombosi venosa profonda (TVP), embolismo polmonare (EP), coagulazione intravascolare disseminata (CID) ed altri disturbi della coagulazione <sup>9-13</sup>. I livelli di XL-FDP sono stati usati anche come indicatore predittivo dell'infarto miocardico acuto; la valutazione dei livelli di XL-FDP è stata impiegata per monitorare una terapia trombolitica con streptochinasi e attivatore di plasminogeno tissutale <sup>14-15</sup>. Elevati livelli di XL-FDP indicanti fibrinolisi reattiva sono stati osservati in chirurgia, trauma, drepanocitemia, disfunzione epatica, infezione/sepsi grave, infiammazione e malignità <sup>16-17</sup>.

## CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI ESECUZIONE

### 1. Correlazione clinica

- Sub-analisi di uno studio manageriale prospettivo indipendente eseguito in centri multipli in Europa<sup>18</sup>:
  - All'assegnazione, 1739 pazienti con sospetta trombosi venosa profonda (TVP) furono sottoposti ad una valutazione indipendente mediante ultrasonografia delle vene prossimali, test con SimpliRED® D-dimer e modello clinico pre-test.

Risultato con SimpliRED® D-dimer	TVP confermata (per ultrasonografia)	
	(+)	(-)
(+)	385	520
(-)	6	828

Riassunto:

I risultati del test al SimpliRED® D-dimer all'assegnazione dei pazienti paragonato all' ultrasonografia:

Sensitività: 98.5% (95% Intervallo fiduciario IC = 96.5 - 99.4)  
Specificità: 61.4% (95% Intervallo fiduciario IC = 58.8 - 64.0)

Il tasso di complicazioni tromboemboliche venose in un periodo di tre mesi in questi pazienti con un SimpliRED® D-dimer iniziale normale era di 2.8% (95% intervallo fiduciario IC= 1.8 - 3.5). La trombosi venosa profonda non puo' essere sicuramente smentita solo sulla base di un test SimpliRED® D-dimer normale.

- Uno studio indipendente, prospettivo, non-interventistico eseguito in 6 ospedali universitari statunitensi <sup>19</sup>:

All'assegnazione, 380 pazienti con sospetto embolismo polmonare (EP) furono esaminati con SimpliRED® D-dimer, e misura della frazione di spazio morto alveolare prima di un test standard di EP. Per il test SimpliRED®, in questo studio, fu usato sangue arterioso.

Risultato con SimpliRED® D-dimer	EP * confermato	
	(+)	(-)
(+)	60	104
(-)	4	212

\*Diagnosi clinica confermata mediante scansione radionucleare polmonare oppure tomografia computerizzata elicoidale del torace ad intensificazione di contrasto, associata con l'uso selettivo di angiografia polmonare e ultrasonografia venosa e successivo controllo della durata di 6 mesi.

Riassunto:

Risultati del test al SimpliRED® D-dimer:

Sensitività: 93.8% (95% Intervallo fiduciario IC = 84.8 - 98.3) Specificità: 67.1% (95% IC = 61.9 - 72.3)

Il SimpliRED® D-dimer dovrebbe essere usato insieme con altri dati clinici. La sensitività per una diagnosi di EP era 98.4% (95% CI = 91.6 - 100.0) quando all'algorithm diagnostico clinico veniva aggiunto uno spazio morto alveolare anormale. La probabilità a posteriori di una EP con risultati normali nei due test era 0.75%.

### 2. Specificità

I prodotti di degradazione incrociata della fibrina dimer-D, dimer E, e i derivati ad alto peso molecolare sono tutti riconosciuti dagli anticorpi monoclonali del test SimpliRED® D-dimer di agglutinazione del sangue intero. Non furono trovati legami con i prodotti di degradazione del fibrinogeno, X, Y, D ed E o con il fibrinogeno stesso a 1000mg/L<sup>6</sup>.

### 3. Sostanze di interferenza

Non fu trovata alcuna interferenza al test con SimpliRED® D-dimer con campioni preparati e contenenti sostanze potenzialmente interferenti alle seguenti concentrazioni:

Bilirubina 0.2mg/mL Proteine (gamma globulina) 50 mg/mL Lipidi (trigliceridi) 10 mg/mL Evidenza di interferenza dal fattore reumatoide (sotto forma di risultati falsi positivi) fu trovata a livelli maggiori di 200 UI/mL.

## ORDERING INFORMATION / FORMATIONS POUR LES COMMANDES / PER ORDINARE / INFORMATIE VOOR BESTELLINGEN / INFORMACION PARA EL PEDIDO / BESTELLINFORMATIONEN

<b>Product / Produit / Prodotto / Product / Producto / Produkt:</b>	SimpliRED® D-dimer 40 test kit / Trousse de 40 tests / kit da 40 test / Kit voor 40 tests / 40 dispositivos para preuba/ kit mit 40 tests
<b>REF</b>	DSRK4
<b>BBInternational Alchemy House Tom McDonald Avenue Medipark, Dundee DD2 1NH, UK Tel: +44 (0) 2920 747232 Fax: +44 (0) 2920 747242 Email: simplired@britishbiocell.co.uk www: http://www.d-dimer.co.uk</b>	
<b>Symbols Key / Légendes des symboles / Chiave dei simboli / Symbolen / Símbolos claves / Schlüsselwörter</b>	
	Consult Instructions for Use / Lire le mode d'emploi / Consultare le istruzioni per l'uso / De gebruiksaanwijzing raadplegen / Consulte las instrucciones para el Uso / Gebrauchsanleitung konsultieren
	In vitro diagnostic medical device / Dispositif de diagnostic médical in vitro / Dispositivo medico per diagnosi in vitro / In vitro diagnostisch medisch toestel / Dispositivo para diagnóstico in vitro / Medizinisches Produkt zur in vitro-Diagnostik
	Manufactured by / Fabricant / Prodotto da / Gefabriceerd / Fabricado por / Hergestellt durch
<b>2°C to 8°C</b>	Store at 2°C to 8°C / Conserver à une temperature de 2°C à 8°C / Conservare tra 2°C e 8°C / Bewaren bij 2°C tot 8°C / Conserver entre 2°C y 8°C / Bei 2°C bis 8°C lagern
	Batch Code / Numéro de lot / Numero di lotto / Lot nummer / Número de Lote / Chargencode
	“Use By” date in year-month format / Date de péremption dans l'ordre suivant : année-mois / “utilizzare entro” anno-mese / Vervaldatum uitgedrukt in jaar-maand / “Utilizar hasta” fecha en formato año-mes / Verfallsdatum im Format Jahr/Monat
	Catalogue Number / Numéro de référence dans le catalogue / Numero di catalogo / Catalogue nummer / Número de Catálogo / Katalog-Nr
	CE Mark / Marque CE / Marchio CE / CE-merk / Marcaje CE / CE-Siegel
<b>TEST REAGENT</b>	Test Reagent / Réactif d'examen / Reattivo del test / Testreagens / Reactivo del ensayo / Testreagens
<b>CONTROL +</b>	Positive Control / Témoin positif / Controllo positivo / Positieve controle / Control positivo / Positives Kontrollserum
<b>CONTROL -</b>	Negative Control / Témoin négatif / Controllo negativo / Negatieve controle / Control negativo / Negatives Kontrollserum

<b>TEST REAGENT</b>	Test Reagent / Réactif d'examen / Reattivo del test / Testreagens / Reactivo del ensayo / Testreagens
<b>CONTROL +</b>	Positive Control / Témoin positif / Controllo positivo / Positieve controle / Control positivo / Positives Kontrollserum
<b>CONTROL -</b>	Negative Control / Témoin négatif / Controllo negativo / Negatieve controle / Control negativo / Negatives Kontrollserum
U.S. Patent No. 4894347	RM1204-B Rev. 09/07