

Instructions for Use

AUTO D-Dimer 400

Cat. No. 5552

D-dimer 400
Fiche technique
Réf 5552

D-dimer 400
Gebrauchsanweisung
Kat. Nr. 5552

D-dimer 400
Istruzione per l'uso
Cod. N. 5552

D-dimer 400
Instrucciones de uso
No Cat. 5552

INTENDED USE

Helena Biosciences AUTO D-Dimer 400 kit is a polystyrene, microparticle, agglutination assay for the quantitative determination of fibrin degradation products containing D-dimer in citrated human plasma using automated coagulation analyzers.

SUMMARY

Activation of the hemostatic system produces stabilized or cross-linked fibrin as its end product. The hydrolysis of fibrinogen molecules to form fibrin opens sites which allow the formation of affinity driven ternary complexes of fibrin, tissue plasminogen activator, and plasminogen, resulting in the formation of plasmin. Plasmin will cleave the cross-linked fibrin to form fibrin degradation products (FDP). Among these degradation products are species which contain factor XIII mediated transglutaminase (lysine-glutamine) linkages between the carboxy terminal regions of adjacent fibrin(ogen) gamma chains. The globular domains containing these gamma chains are referred to as D-domains and fibrin degradation products containing adjacent D-domains crosslinked by factor XIII are called D-dimers, Antibodies have been developed which recognize epitopes for D-dimer.^{1,2}

Higher than normal levels of D-dimer in plasma would appear to indicate the activation of coagulation with the formation of crosslinked fibrin and the subsequent proteolysis to release D-dimer containing breakdown products, Elevated levels have been observed in disseminated intravascular coagulation (DIC),¹ deep venous thrombosis (DVT),^{2,3,4} pulmonary embolism (PE)⁵ and in other disease states such as cancer.⁶ D-dimer levels may rise in a normal pregnancy, but higher levels may indicate complications.⁷ Therefore, the presence of elevated D-dimer levels is not sufficient for the diagnosis of a thrombotic disorder, However, the absence of elevated D-dimer levels may be used to help rule out the presence of a thrombotic disorder, such as DIC, DVT or PE.

In the Helena Biosciences AUTO D-Dimer assay, the polystyrene micro particles have monoclonal antibody attached covalently. In the presence of multimeric D-dimer antigen a complex forms. The formation of the complexes causes an increase in the absorbance of the reaction mixture that is correlated to the antigen level. The Helena procedure provides a means to quantitatively measure plasma levels of D-dimer. The D-dimer level may be used to determine patient management strategies.

REAGENTS

AUTO D-Dimer Reagent, Catalog No. 32056SA Buffered solution of polystyrene microparticle beads coated with mouse monoclonal antibody MA-8D3 directed against D-dimer. 8 Contains stabilizers and 0.095% sodium azide as a preservative, (4x2 ml).

AUTO D-Dimer Reaction Buffer, Catalog No. 32059SA Buffer with stabilizers, pH 7.0. Sodium azide, 0.095%, added as preservative, (4x4 ml).

AUTO D-Dimer Diluent, Catalog No. 32058SA 0.85% saline solution, (1x4 ml).

AUTO D-Dimer Calibrator, Catalog No. 32057SA Lyophilized human plasma enriched with fibrin D-dimer. 1x1ml @ 4624 ng/ml.

PRECAUTIONS:

AUTO D-Dimer reagents are for “in vitro diagnostic use”, Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing local, state and federal laws.

AUTO D-Dimer Reaction Buffer is an IRRITANT and HARMFUL. Irritating to eyes, respiratory system and skin. In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice. Wear suitable protective clothing.

AUTO D-Dimer Reagent and Reaction Buffer contain sodium azide, which may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Avoid azide accumulation.

AUTO D-Dimer Reaction Buffer and Calibrator are POTENTIALLY BIOHAZARDOUS MATERIALS, Source materials from which these products are derived were found negative for HBsAg, and for antibodies against HCV, HIV-1 and HIV-2, by approved test methods. Since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, this product should be handled observing the same safety precautions employed when handling any potentially infectious material.

Refer to Material Safety Data Sheets for any updated risk, hazard or safety information.

PREPARATION:

Reconstitute AUTO D-Dimer Calibrator with 1.0 ml of deionized water. Re-stopper vial, agitate gently for about five (5) minutes, until a homogenous solution has been obtained. Allow to stand for 30 minutes at room temperature (18-26°C). Mix gently, prior to use. DO NOT SHAKE. DO NOT USE STIR BAR.

Immediately before each run, gently agitate the AUTO D-Dimer Reagent by repeatedly inverting the vial to disperse the micro particles evenly. DO NOT SHAKE.

AUTO D-Dimer Reaction Buffer, and Diluent are provided ready for use.

STORAGE AND STABILITY:

AUTO D-Dimer kit should be stored in the refrigerator at 2-6°C. Unopened reagents and calibrators are stable until the expiration date.

After opening, AUTO D-Dimer Reagent, Reaction Buffer and Diluent are stable for 14 days when stored tightly capped and refrigerated at 2-6°C in the original vial. Do not freeze.

Reaction buffer AC-4 POS 37 @ 37°C ≥6 hrs
Reagent AC-4 POS 38 @ 37°C ≥ 6hrs

Reconstituted AUTO D-Dimer Calibrator is stable for 8 hours at 18-26°C and 3 days in the refrigerator at 2-6°C in the original vial.

For optimal stability, remove reagents from the analyzer system and store refrigerated at 2-6°C.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

It is recommended that specimen collection and storage be carried out in accordance with NCCLS guideline H21-A39 or other appropriate guideline (e.g. DIN58 905 Part 1, "Haemostaseology: blood collection; preparation of plasma from citrated blood for coagulation testing.") No known test method can offer complete assurance that human blood samples will not transmit infection, therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious.

Venous blood is collected in 3.2% sodium citrate at a ratio of nine (9) parts blood to one (1) part anticoagulant

(1:10 ratio). The ratio is critical. If using commercial vacuum tubes, a full draw must be assured. Trauma or stasis during drawing should be avoided. Blood

should not be collected through a heparin lock or other heparinized line. The presence of clots in a specimen is cause for rejection.

Centrifuge at 1500 x g for 15 minutes at room temperature. Unless samples are to be processed immediately, transfer plasma to a plastic test tube as soon as centrifugation is complete. Store plasma samples refrigerated 2-6°C and test within 4 hours. Alternatively, plasma may be stored at -20°C for up to one month. Frozen plasma samples should be rapidly thawed at 37°C while gently mixing and tested immediately.

PROCEDURE

MATERIALS PROVIDED:

AUTO D-Dimer kit, Catalog No. 5552

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED:

Coagulation analyzer capable of measuring absorbance at 405nm. Analyzer specific consumables

ASSAY PROCEDURE:

The following system parameters are recommended. For individual instrument applications, contact Helena Biosciences.

SYSTEM PARAMETERS:

Helena AC-4

START=33s	METHOD=POINT	MIX=1	PATIENT (Pat) vol=25µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB=30s	MATH=lin Y=mx+t Regression = No	CLEAN=0	BUFFER (saline) Vol=0µL Pos=0	R0 Vol=0µL Pos=0
RUNTIME=240s	SENS=0	T-CORR=0 S-CORR= 0%	CLEAR (CLR) Vol=0µL	Reaction Buffer (R1) Vol=50µL Pos=37
				Latex Reagent (R2) Vol=50µL Pos=38

QUALITY CONTROL:

Each laboratory should establish a control range to determine the allowable variation in the day to day performance of the AUTO D-Dimer.

Failure to meet Quality Control specifications should be investigated and resolved. Recalibration is suggested whenever control materials are not within the established acceptable range. The assay should be repeated. If the problems

cannot be resolved, contact Helena Biosciences Technical Services or your local country Helena Biosciences representative.

RESULTS

All patient samples should be initially tested undiluted. D-dimer results are reported in ng/ml. The analytical sensitivity is directly linked to the instrument used to perform the test. For more information, refer to the instruments application protocol, available from Helena Biosciences. The upper end of the reportable range for undiluted samples is a multiple of the assigned value of the calibrator. The specific multiplier used is dependent upon the instrument application. If the result exceeds the reportable range, retest the sample using an appropriate dilution. No antigen excess hook effect is observed at D-dimer levels below 60,000 ng/ml.

Elevated D-dimer levels can persist for some time after the active process has ceased. Although the absence of elevated D-dimer levels may be used to help rule out the presence of a thrombotic disorder, a negative D-dimer test does not completely rule out the presence of thrombosis. The D-dimer results should be used with other clinical and diagnostic information for forming a diagnosis and for patient management.

LIMITATIONS

When tested using samples prepared according to NCCLS publication EP7-P10, levels of the following do not interfere with the AUTO D-Dimer assay: hemoglobin less than 1200 mg/l, bilirubin less than 19 mg/dl, heparin less than 0.6 U/ml, and triglycerides less than 2000 mg/dl. Interferences are instrument dependent, please refer to specific application protocol. The interference criterion is the concentration of the interferent at which the change, if any, in the measured value of D-dimer in ng/ml is less than or equal to 10%. Turbid or opalescent plasma may cause erratic results and should be interpreted with caution. The presence of rheumatoid factor may produce false positive test results. Plasma samples positive for rheumatoid factor should be interpreted with caution. Human anti-mouse antibody testing was not performed with this product. Results from patients with heterophilic antibody should be interpreted with caution since this test kit contains mouse antibodies and interference may occur resulting in falsely elevated or decreased values.

EXPECTED VALUES

Due to many variables that may affect the results, each laboratory should establish its own reference range.

TABLE 1

AUTO D-DIMER EXPECTED VALUES

N	Mean (ng/ml)	Standard Deviation	Upper Reference Range Mean \pm 3SD
137	67	26.7	147

PERFORMANCE CHARACTERISTICS**SPECIFICITY:**

The monoclonal antibody used in this Kit reacts with D-dimer and is reported to react with D-monomer from fibrin.⁸ In studies performed, the antibody did not react with fibrinogen (purified or in plasma), nor did it react with plasmin or streptokinase treated plasma. Some Cross reactivity was found with non-crosslinked fibrin and plasmin degradation products from purified fibrinogen. The in vivo relevance of the cross reactivity is minimized by \square 2 antiplasmin, as demonstrated by the lack of cross reactivity with plasmin treated plasma.

CORRELATION STUDIES:

The Helena Biosciences Auto D-Dimer 400 kit and another commercially available quantitative D-dimer assay were compared using normal and abnormal samples. Results of these correlation studies are presented in Table 2.

TABLE 2

AUTO D-DIMER CORRELATION

Regression Equation	$Y = 0.5629x - 35.8$
Correlation Coefficient®	0.937
Number of Samples	135

PRECISION:

Precision was performed according to NCCLS publication EP5-A using low abnormal and high abnormal control plasmas. 11 Results are displayed in Table 3.

TABLE 3

AUTO D-DIMER PRECISION

Precision	Within-Run	Total
Low Abnormal Plasma N Mean, ng/ml SO, ng/ml CV %	20 311 11.3 3.64	40 311 18.6 6.04
High Abnormal Plasma N Mean, ng/ml SD, ng/ml CV %	20 2623 38.9 1.48	40 2623 85,3 3.25

REFERENCES

1. Elms, MJ et al: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. *J Clin Path* 85:360, 1986
2. Declerck, PV et al: Fibrinolytic response and fibrin fragment D-Dimer in patients with deep vein thrombosis, *Thromb Haemost* 58:1024, 1987
3. Bounameaux H, et al: Measurement of plasma D-Dimer for diagnosis of deep venous thrombosis, *Am J Clin Path* 91:82, 1989
4. Hansson PO, Eriksson H, Eriksson E, Jegenburg R, Risberg B: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? *J Intern Med* 235:143, 1994
5. Demers C, Ginsberg JS, Johnston M, Brill-Edwards P, Panju A: D-Dimer and antithrombin III complexes in patients with clinically suspected pulmonary embolism, *Thromb Haemost* 67: 408, 1992
6. Nakashima, J et al: Tumor necrosis factor and coagulopathy in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 55: 4881, 1995
7. Bailegeer, V et al: Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-Dimer levels in normal and complicated pregnancy. *Thromb Haemost* 85:1030, 1987
8. Holvoet, P et al: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-Dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an In Vivo model in rabbits. *Thromb Haemost* 61:307, 1989
9. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards Collection, Transport and preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays Approved Guideline, 3rd Edition. NCCLS Publication H21-A3, December 1998

10. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Interference Testing In Clinical Chemistry Proposed Guideline, 3rd Edition; NCCLS Publication EP7-P, Vol. 6, No. 13, 1986
11. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Evaluation of Precision Performance of a Clinical Chemistry Devices Approved Guideline; NCCLS Publication, EP5-A, Vol. 19, No., February 1999

INDICATION

Le kit Helena Biosciences AUTO D-Dimer™ est un dispositif de dosage d'agglutination de microparticules de polystyrène permettant d'effectuer une détermination quantitative des produits de dégradation de la fibrine contenant du D-dimère dans le plasma humain citrate au moyen de systèmes automatisés de mesure de la coagulation.

RÉSUMÉ

L'activation du système hémostatique produit une fibrine stabilisée ou réticule comme produit final. L'hydrolyse des molécules de fibrinogène en fibrine génère des sites où se forment des complexes ternaires, fixés par affinité, composés de fibrine, d'un activateur tissulaire du plasminogène et de plasminogène, aboutissant à la formation de plasmine. Le plasminogène effectue l'activation de la fibrine réticulée et entraîne l'accumulation de produits de dégradation de la fibrine (FDF). Parmi ces produits de dégradation, certains sont liés entre eux au niveau des régions C-terminales des chaînes gamma de fibrine (fibrinogène) adjacentes, en raison de l'activité transglutaminasique (lysine-glutamine) associée au facteur XIII. Les domaines globulaires comprenant ces chaînes gamma sont appelés "D-domaines" et les produits de dégradation de la fibrine comprenant les D-domaines avoisinants réticulés par facteur XIII sont dénommés « D-dimère ». Des anticorps reconnaissant les épitopes pour les D-dimères ont été développés.^{1,2}

Des taux de D-dimère supérieurs à la normale dans le plasma sembleraient révéler une activation de coagulation avec la formation de fibrine réticulée et de la protéolyse subséquente libérant le D-dimère comprenant les produits de dégradation. Des taux élevés ont été observés dans la coagulation intravasculaire disséminée,¹ la thrombose veineuse profonde,^{2,3,4} l'embolie pulmonaire⁵ et dans d'autres cas de maladies comme le cancer⁶. Les taux de D-dimère peuvent augmenter au cours d'une grossesse normale, mais des taux plus élevés peuvent refléter des complications. Si, pour ces raisons, la présence de taux élevés de D-dimère n'est pas suffisante pour diagnostiquer une anomalie thrombotique par contre l'absence de taux de D-dimère élevés peut servir à éliminer la possibilité d'une présence d'anomalie thrombotique, comme une coagulation intravasculaire disséminée, une thrombose veineuse profonde ou encore d'un embolie pulmonaire.

Dans l'essai AUTO D-Dimer, l'anticorps monoclonal est fixé sur des microparticules de polystyrène par liaison covalente. Un complexe se forme en présence de l'antigène D-dimère multimérique. La formation des complexes crée une augmentation de l'absorption du mélange réactionnel proportionnellement à la quantité d'antigène. Le protocole permet de mesurer la concentration de D-dimère dans le plasma de manière quantitative. Le taux de D-dimère peut être utilisé pour déterminer les stratégies de traitement des patients.

RÉACTIFS

RÉACTIF AUTO D-DIMER, N° de référence 32056SA Solution taponnée de billes de microparticules de polystyrène recouvertes d'un anticorps MA-8D3 mono clonal de souris dirigé contre le D-dimère.8 Contient des stabilisateurs et de l'azide de sodium à 0,095% comme agent conservateur, (4 x 2 ml).

TAMPON DE RÉACTIF AUTO D-DIMER, N° do référence 32059SA Tampon avec stabilisateurs, pH 7,0, Azide de sodium, 0,095 %, ajouté comme agent conservateur, (4 x 4 ml).

DILUANT AUTO D-DIMER, N° de référence 32058SA Solution saline à 0.85 %, (1 x 4 ml).

ÉTALON AUTO D-DIMER, N° de référence 32057SA Plasma humain lyophilisé enrichi en D-dimère à fibrine. 1×1ml @ 4624 ng/ml.

PRECAUTIONS:

Les réactifs AUTO D-Dimer sont destinés à un « Usage in vitro ». Les précautions habituelles préconisées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire doivent être respectées. Eliminer les déchets salon les lois en vigueur.

Le tampon du réactif AUTO D-Dimer est un IRRITANT et NOCTIF. Il irrite les yeux, le système respiratoire et la peau.

En cas de contact avec les yeux, immédiatement rincer abondamment avec de l'eau et obtenir de l'aide médicale. Porter des vêtements de protection adéquats.

Le réactif et le tampon du réactif AUTO D-Dimer contiennent de l'azide de sodium qui peut avoir une réaction avec une tuyauterie en plomb et en cuivre et former des azides métalliques à potentiel explosif extrêmement élevé. Eviter une accumulation d'azide.

Le tampon du réactif et l'étalon AUTO D-Dimer sont des MATERIELS POUVANT REPRÉSENTER UN RISQUE BIOLOGIQUE. Les matériels de source dont ces produits sont dérivés ont été testés comme négatifs pour l'antigène HBs et pour les anticorps contre les VHC VIH 1 et VIH 2 par des méthodes d'essai approuvées. Étant donné qu'aucune méthode d'essai ne peut entièrement garantir l'absence d'agents pathogènes manipuler ce produit en observant les mêmes précautions que lors de la manipulation d'un matériel potentiellement infectieux.

PREPARATION:

Reconstituer l'étalon AUTO D-Dimer avec 1,0 ml d'eau désionisée. Reboucher le flacon, remuer doucement pendant environ cinq (5) minutes, jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. Laisser reposer pendant 30 minutes à une température ambiante (18-26°C) Mélanger lentement avant utilisation. NE PAS UTILISER DE BARRE D'AGITATION.

Avant de transférer le réactif AUTO D-Dimère au contenant secondaire, le retourner délicatement. NE PAS SECOUER. NE PAS UTILISER DE BARRE D'AGITATION.

Le tampon du réactif et le diluent AUTO D-Dimer sont fournis prêts a l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITÉ:

Le kit AUTO D-Dimer doit être conservé au réfrigérateur à une température de 2-6°C. Les réactifs et les étalons non ouverts sont stables jusqu'à leur date de préemption.

Après avoir été ouverts, le réactif, le tampon du réactif et le diluent AUTO D-Dimer sont stables pendant 14 jours lorsque conservés bien fermés et réfrigérés à une température de 2-6°C dans le flacon d'origine. Ne pas congeler.

Tampon de Réactif AC-4 POS 37 @ 37°C ≥6 hrs

Réactif AC-4 POS 38 @ 37°C ≥ 6hrs

L'étalon AUTO D-Dimer reconstitué est stable pendant 8 heures à 18-26°C et pendant 3 jours dans le réfrigérateur à 2-6°C dans le flacon d'origine.

Pour garantir une stabilité optimale, retirer les réactifs du système de l'analyseur et conserver au réfrigérateur à 2-8 °C.

PRELEVEMENT ET CONSERVATION DESECHANTILLONS

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillon conformément aux directives du Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale H21A39 ou à d'autres directives appropriées (par ex. le guide DIN58 905 Section 1, "Haemostaseology; blood collection; preparation of plasma from citrated blood for coagulation testing"). Aucune méthode actuelle n'offre la garantie totale que les échantillons de sang ne contiennent pas d'agent infectieux. Par conséquent tous les dérivés du sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Le sang veineux est prélevé dans du citrate de sodium à 3,2 % à un rapport de neuf (9) parties de sang à une (1) partie d'anticoagulant (rapport 1:10). Le rapport est d'importance primordiale. Un prélèvement complet doit être effectué lors de l'utilisation de tubes à vides vendus dans le commerce. Éviter les traumatismes et les stases lors du prélèvement. Ne pas prélever le sang par l'intermédiaire d'un régulateur de débit d'heparine ou d'un autre tube héparinisé. La présence de caillots dans un échantillon fera l'objet d'un rejet.

Centrifuger à 1500 x g pendant 15 minutes à température ambiante. À moins d'utiliser les échantillons immédiatement, transférer le plasma dans une éprouvette en plastique dès que la centrifugation est terminée. Conserver le plasma dans un réfrigérateur à 2-6°C et effectuer le test en l'espace de 4 heures. Le plasma peut également être conservé à -20°C pour une durée maximale d'un mois. Les échantillons de plasma congelés doivent être dégelés rapidement à 37°C tout en étant mélangés avec précaution, et le test doit être effectué immédiatement.

PROTOCOLE

MATERIELS FOURNIS:

Kit AUTO D-Dimer, N° de référence 5552

MATERIELS NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS:

Analyseur de coagulation pouvant mesurer l'absorption à 405 nm Consommables propres à l'analyseur.

METHODE D'ESSAI:

Les paramètres système suivants sont recommandés. Pour les applications Individuelles, contacter les services techniques Helena Biosciences.

PARAMÈTRES SYSTÈME:

Helena AC-4

START=33s	METHOD=POINT	MIX=1	PATIENT (Pat) vol=25µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB=30s	MATH=lin Y=mx+t Regression = No	CLEAN=0	BUFFER (saline) Vol=0µL Pos=0	R0 Vol=0µL Pos=0
RUNTIME=240s	SENS=0	T-CORR=0 S-CORR= 0%	CLEAR (CLR) Vol=0µL	Reaction Buffer (R1) Vol=50µL Pos=37
				Latex Reagent (R2) Vol=50µL Pos=38

CONTRÔLE DE QUALITÉ:

Chaque laboratoire doit établir une plage de contrôle afin d'établir la variation quotidienne permise dans la performance de l'AUTO D-Dimer.

La non-conformité aux spécifications du contrôle de la qualité doit être étudiée et résolue. Il est recommandé d'effectuer une nouvelle calibration chaque fois que les matériels de contrôle ne sont pas compris dans la plage établie comme acceptable. L'échantillonnage doit être répété. Si les problèmes ne peuvent être résolus, contacter le service technique Helena Biosciences ou contacter le représentant local de Helena Biosciences pour obtenir de plus amples informations.

RESULTATS

Tous les échantillons de patients doivent tout d'abord être testés non-dilués. Les résultats du D-dimère sont indiqués en ng/ml. La sensibilité analytique est directement associée à l'instrument utilisé pour pratiquer le test. Pour en savoir plus, consultez le protocole d'application relatif aux instruments, disponible auprès de Helena Biosciences. L'extrémité supérieure de la plage analytique des échantillons non dilués est un multiple de la valeur attribuée au calibrateur. Le multiplicateur utilisé dépend de l'application de l'instrument. Si le résultat dépasse la plage à rapporter, effectuer un nouveau test de l'échantillon en utilisant une dilution appropriée. Aucun effet de stimulation suivie d'une inhibition de phénomène de zone n'est observé à des niveaux de D-dimère inférieurs à 60 000 ng/ml.

Les niveaux de D-dimère élevés peuvent persister pendant quelque temps après la fin du processus actif. Bien que l'absence de niveaux élevés de D-dimères puisse être utilisée pour éliminer la possibilité d'une anomalie thrombotique, un test D-dimère négatif ne supprime pas entièrement la possibilité d'une thrombose. Les résultats du D-dimère doivent être utilisés avec d'autres informations cliniques et diagnostiques pour l'établissement d'un diagnostic et d'un traitement du patient.

LIMITES

Lorsque testés utilisant des échantillons préparés conformément au guide de Bonne Execution des Analyses de biologie médicale EF7-P,10 les taux indiqués ci-dessous n'ont aucun effet sur le test AUTO D-Dimer: hémoglobine inférieure à 1200 mg/dl, bilirubine inférieure à 19 mg/dl, héparine inférieure à 0.6 U/ml et triglycérides inférieurs à 2000 mg/dl. Les interférences dépendent des instruments: veuillez consulter le protocole d'application spécifique. Le critère d'interférence est la concentration de l'interférence à laquelle le changement (le cas échéant) dans la valeur mesurée du D-dimère, en ng/ml est inférieur ou égal

à 10%. Un plasma trouble ou opalescent peut produire des résultats de test positifs erronés. Les échantillons de plasma positifs pour un facteur rhumatoïde doivent être interprétés avec précaution. Un test d'anticorps anti-souris humain n'a pas été effectué avec ce produit. Les résultats hétérophile doivent être interprétés avec précaution étant donné que ce kit de tests constitué d'anticorps de souris et qu'une interférence résultant de valeurs élevées ou résultats erronés risque de se produire.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les résultats sont indiqués dans le tableau 1. La plage de référence supérieure a été estimée en utilisant des plasmas prélevés chez des volontaires adultes normaux et en bonne santé. En raison des nombreuses variables pouvant avoir un effet sur les résultats, il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de référence.

TABLEAU 1

VALEURS DE RÉFÉRENCE DE L'AUTO D-DIMER

N	Moyenne (ng/ml)	Écart type	Plage de référence supérieure Moyenne \pm 3SD
137	67	26.7	147

CARACTERISTIQUES DU TEST

SPECIFICITE:

L'anticorps monoclonal utilisé dans ce kit réagit avec le D-dimère et il a également été rapporté qu'il réagit avec le D-monomère de la fibrine.⁸ Au cours des études effectuées, l'anticorps n'a ni réagi avec le fibrogène (purifié ou dans le plasma), ni avec le plasma traité avec la plasmine ou la streptokinase. Une réaction croisée a été observée avec des produits de dégradation de fibrine et de plasmine non croisés à partir d'un fibrinogène purifié. La pertinence in vivo de la réaction croisée est minimisée par \square 2 antiplasmine, comme démontré par l'absence de réaction croisée avec le plasma traité avec de la plasmine.

ETUDES CORRÉLATIVES:

Le kit et un autre test quantitatif D-dimère disponible dans le commerce ont été comparés en utilisant des échantillons normaux et anormaux. Les résultats de ces études corrélatives sont présentés dans le tableau 2.

TABLEAU 2

CORRELATION AUTO D-DIMÈRE

Équation de régression	$Y = 0.5629 x -35.8$
Coefficient de corrélation®	0.937
Nombre d'échantillons	135

PRÉCISION:

Le test de précision a été exécuté selon le guide de Bonne Exécution des analyses de biologie médicale EP5-A avec des plasmas de contrôle anormaux bas et anormaux élevés.¹¹ Les résultats sont indiqués dans le tableau 3.

TABLEAU 3

PRÉCISION AUTO D-DIMÈRE

Précision	Répétabilité	Total
Plasma anormal bas N Moyenne, ng/ml SD, ng/ml CV %	20 311 11.3 3.64	40 311 18.6 6.04
Plasma anormal élevé N Moyenne, ng/ml SD, ng/ml CV %	20 2623 38.9 1.48	40 2623 85.3 3.25

REFERENCES

1. Elms, MJ et al: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. *J Clin Path* 85:360, 1986
2. Declerck, PV et al: Fibrinolytic response and fibrin fragment D-Dimer in patients with deep vein thrombosis, *Thromb Haemost* 58:1024, 1987
3. Bounameaux H, et al: Measurement of plasma D-Dimer for diagnosis of deep venous thrombosis, *Am J Clin Path* 91:82, 1989
4. Hansson PO, Eriksson H, Eriksson E, Jegenburg R, Risberg B: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? *J Intern Med* 235:143, 1994
5. Demers C, Ginsberg JS, Johnston M, Brill-Edwards P, Panju A: D-Dimer and antithrombin III complexes in patients with clinically suspected pulmonary embolism, *Thromb Haemost* 67: 408, 1992
6. Nakashima, J et al: Tumor necrosis factor and coagulopathy in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 55: 4881, 1995
7. Bailegeer, V et al: Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-Dimer levels in normal and complicated pregnancy. *Thromb Haemost* 85:1030, 1987

8. Holvoet, P et al: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-Dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an In Vivo model in rabbits. *Thromb Haemost* 61:307, 1989
9. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards Collection, Transport and preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays Approved Guideline, 3rd Edition. NCCLS Publication H21-A3, December 1998
10. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Interference Testing In Clinical Chemistry Proposed Guideline, 3rd Edition; NCCLS Publication EP7-P, Vol. 6, No. 13, 1986
11. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Evaluation of Precision Performance of a Clinical Chemistry Devices Approved Guideline; NCCLS Publication, EP5-A, Vol. 19, No., February 1999

VERWENDUNGSZWECK

Der Helena Biosciences AUTO D-Dimer™ Testkit, ist ein Agglutinationstest mit Polystyren-Mikropartikel zur quantitativen Bestimmung von D-Dimer-haltigen Fibrin-spaltprodukten Human-Citratplasma auf automatischen Gerinnungsanalysegeräten.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei Aktivierung des Hämostasesystems wird stabilisiertes oder quervernetztes Fibrin als Endprodukt gebildet. Durch die Hydrolyse von Fibrinogenmolekülen bei der Umsetzung in Fibrin werden Bindungsstellen freigelegt, so dass sich affinitätsgebundene Ternär-komplexe aus Fibrin, Gewebe-Plasminogenaktivator und Plasminogen bilden können. Dieser Vorgang führt schließlich zur Bildung von Plasmin, Plasmin spaltet das quervernetzte Fibrin, wobei Fibrin-spaltprodukte entstehen. Einige dieser Spaltprodukte besitzen Faktor-XIII-vermittelte Transglutaminase-(Lysin-Glutamin)-Bindungen zwischen den C-terminalen Abschnitten benachbarter Fibrin(ogen)-Gammaketten. Die globulären Domänen, die diese Gammaketten enthalten, werden als D-Domänen bezeichnet und Fibrin-spaltprodukte mit benachbarten D-Domänen, die durch Faktor XIII vernetzt sind, werden als D-Dimere bezeichnet. Antikörper zur Erkennung von Epitopen für D-Dimere wurden bereits entwickelt.^{1,2}

Eine erhöhte D-Dimer-Konzentration im Plasma lässt auf die Aktivierung des Gerinnungssystems mit Bildung von quervernetztem Fibrin und nachfolgender Proteolyse zur Freisetzung von D-Dimer-haltigen Spaltprodukten schließen. Erhöhte Konzentrationen wurden bei disseminierter intravasaler Gerinnung (DIG),¹ tiefer Venenthrombose (TVT),^{2,3,4} Lungenembolie (LE)⁵ und anderen Erkrankungen wie Krebs⁶ beobachtet. Die D-Dimer-Konzentration kann während einer normalen Schwangerschaft ansteigen, eine erhöhte Konzentration ist jedoch ein potenzielles Anzeichen für Komplikationen.⁷ Eine erhöhte D-Dimer-Konzentration ist daher kein ausreichendes Kriterium für die Diagnose einer thrombotischen Erkrankung. Das Fehlen einer erhöhten D-Dimer-Konzentration kann jedoch zum Ausschluss einer thrombotischen Erkrankung wie DIG, TVT oder LE herangezogen werden.

Im Helena AUTO D-Dimer-Test sind monoklonale Antikörper kovalent an die Polystyren-Mikropartikel gebunden. In Gegenwart von multimeren D-Dimer-Antigenen bildet sich ein Komplex. Die Bildung der Komplexe führt zu einem Extinktionsanstieg der Reaktionsmischung, der dem Antigengehalt entspricht. Die Helena-Methode dient zur quantitativen Bestimmung der D-Dimer-Konzentration in Plasma. Die D-Dimer-Konzentration kann zur Therapieplanung herangezogen werden.

REAGENZIEN

AUTO D-DIMER-REAGENZ, Katalog-Nr. 32056SA Gepufferte Lösung mit Polystyren-Mikropartikelkugeln, die mit monoklonalen Mausantikörpern (MA-8D3) gegen D-Dimere beschichtet sind⁸. Enthält Stabilisatoren und 0,095% Natriumazid als Konservierungsmittel, (4 x 2 ml).

AUTO D-DIMER-REAKTIONSPUFFER, Katalog-Nr. 32059SA Puffer mit Stabilisatoren, pH 7,0. Enthält 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel, (4x 4 ml).

AUTO D-DIMER-VERDÜNNUNGSMITTEL, Katalog-Nr. 32058SA 0,85% ige Kochsalzlösung, (1 x 4 ml).

AUTO D-DIMER-KALIBRATOR, Katalog-Nr. 32057SA Mit Fibrin-D-Dimeren angereichertes lyophilisiertes Humanplasma. 1x1ml @ 4624 ng/ml.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Die AUTO D-Dimer-Reagenzien sind nur für die in vitro-Diagnostik konzipiert. Die einschlägigen Vorsichtsmaßnahmen in Umgang mit Laborreagenzien sollten eingehalten werden. Bei der Entsorgung der Abfallmaterialien sind die örtlichen und staatlichen Vorschriften zu beachten.

Der AUTO D-Dimer-Reaktionspuffer wirkt REIZEND UND GESUNDHEITSSCHÄDLICH. Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut. Bei Berührung mit den Augen sofort mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren, Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Das AUTO D-Dimer-Reagenz und der Reaktionspuffer enthalten Natriumazid, das mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden kann. Azidanhäufung vermeiden.

Der AUTO D-Dimer-Reaktionspuffer und der Kalibrator sind POTENZIELL INFEKTIÖS. In den Ausgangsstoffen, aus denen diese Produkte gewonnen wurden, konnten mit den vorgeschriebenen Testmethoden kein HBsAg und keine Antikörper gegen HCV, HIV-1 und HIV-2 nachgewiesen werden. Da jedoch kein Testverfahren mit vollständiger Sicherheit garantieren kann, dass keine infektiösen Keime vorhanden sind, sollte mit diesem Produkt unter den gleichen Vorsichtsmaßnahmen gearbeitet werden, wie sie mit infektiösem Material üblich sind.

Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen entnehmen Sie bitte den Sicherheitdatenblättern.

VORBEREITUNG:

Den AUTO D-Dimer-Kalibrator mit 1,0 ml deionisiertem Wasser rekonstituieren. Das Fläschchen verschließen und etwa fünf (5) Minuten behutsam schwenken, bis die Lösung homogen ist. Bei Raumtemperatur (18-26°C) 30 Minuten stehen lassen. Vor der Verwendung vorsichtig mischen. NICHT SCHÜTTELN.

Das AUTO D-Dimer-Reagenz vor der Übertragung in einen anderen Behälter behutsam umkehren, NICHT SCHÜTTELN. KEIN RÜHRSTÄBCHEN VERWENDEN.

Der AUTO D-Dimer-Reaktionspuffer und das Verdünnungsmittel sind gebrauchsfertig.

LAGERUNG UND STABILITÄT:

Der AUTO D-Dimer-Testkit sollte im Kühlschrank bei 2-6°C aufbewahrt werden. Ungeöffnete Reagenzien und Kalibratoren sind bis zum Verfallsdatum haltbar.

Nach dem Öffnen sind das AUTO D-Dimer-Reagenz, der Reaktionspuffer und das Verdünnungsmittel 14 Tage haltbar, sofern sie in den fest verschlossenen Originalfläschchen bei 2-6°C aufbewahrt werden. Nicht einfrieren.

Reaktionspuffer AC-4 POS 37 @ 37°C ≥ 6 hrs
Reagenz AC-4 POS 38 @ 37°C ≥ 6hrs

Der rekonstituierte AUTO D-Dimer-Kalibrator ist im Originalfläschchen 8 Stunden bei 18-26°C und 3 Tage im Kühlschrank bei 2-8 °C haltbar.

Um die optimale Stabilität zu gewährleisten, sollten die Reagenzien aus dem Analysegerät genommen und im Kühlschrank bei 2-8 °C aufbewahrt werden.

GEWINNUNG UND AUFBEWAHRUNG DER PROBEN

Es wird empfohlen, die Probenahme und-aufbewahrung gemäß NCCLS-Richtlinie H21-A39 oder einer anderen geeigneten Richtlinie (z.B. DIN58 905 Teil 1, "Haemo-staseology; blood collection: preparation of plasma from citrated blood for coagulation testing") durchzuführen, Keine bekannte Testmethode kann mit vollständiger Sicherheit garantieren, dass eine Humanblutprobe keine Infektion übertragen kann. Deshalb sollten alle Blutproben und -derivate als potenziell infektiös behandelt werden.

Venenblut wird in 3,2% Natriumcitrat in einem Verhältnis von neun (9) Teilen Blut zu einem (1) Teil Antikoagulans (Verhältnis 1:10) entnommen. Dieses Verhältnis ist äußerst wichtig. Bei Verwendung kommerzieller Vakuumröhrchen muss

sichergestellt werden, dass die Röhrchen vollständig gef llt werden. Quetschungen oder Stauungen während der Blutentnahme sind zu vermeiden. Blut sollte nicht über einen Heparin-Lock-Ansatz oder einen heparinisierten Schlauch entnommen werden. Eine Probe, die Gerinnsel enthält, darf nicht verwendet werden.

Die Probe 15 Minuten bei Raumtemperatur und einer Geschwindigkeit von 1 500 x g zentrifugieren. Sofern die Proben nicht sofort verarbeitet werden, das Plasma unmittelbar nach den Zentrifugation in ein Kunststoff-röhrchen übertragen. Plasmaproben im Kühlschrank (2-6 C) aufbewahren und innerhalb von 4 Stunden tester Alternativ dazu kann das Plasma bei -20 C bis zu 1 Monat eingefroren werden. Gefrorene Plasmaproben sollten unter vorsichtigem Mischen bei 37 C schnell aufgetaut und sofort getestet werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

BESTANDTEILE DES TESTKITS:

AUTO D-Dimer-Testkit, Katalog-Nr. 5552

ERFORDERLICHES MATERIAL, DAS NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN IST:

Gerinungsanalyseger t zur Extinktionsmessung 405 nm Verbrauchsmaterialien für das Analysegerät,

TESTVERFAHREN:

Die folgenden Systemparameter werden empfohlen. Applikationsvorschriften für individuelle Geräte erhalten. Sie vorm technischen Kundendienst von Helena Biosciences.

SYSTEMPARAMETER:

Helena AC-4

START=33s	METHOD=POINT	MIX=1	PATIENT (Pat) vol=25�L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0�L
INCUB=30s	MATH=lin Y=mx+t Regression = No	CLEAN=0	BUFFER (saline) Vol=0�L Pos=0	R0 Vol=0�L Pos=0
RUNTIME=240s	SENS=0	T-CORR=0 S-CORR= 0%	CLEAR (CLR) Vol=0�L	Reaction Buffer (R1) Vol=50�L Pos=37
				Latex Reagent (R2) Vol=50�L Pos=38

QUALITÄTSKONTROLLE:

Überwacht werden Jades Labor sollte einen Referenzbereich festlegen, um die zulässigen täglichen Schwankungen der AUTO D-Dimer-Reagenzien zu bestimmen.

Wenn die Qualitätskontrollkriterien nicht erfüllt werden sollte die Ursache ermittelt und beseitigt werden. Wenn die Kontrollreagenzien von dem festgelegten Referenzbereich abweichen, sollte das Gerät neu kalibriert werden. Der Test sollte danach wiederholt werden. Sollte ein Problem nicht zu lösen sein, weitere Informationen erhalten Sie bei der technischen Kundendienstabteilung von Helena oder bei Ihrer lokalen Helena Vertretung.

ERGEBNISSE

Alle Patientenproben sollten zunächst unverdünnt getestet werden. Die D-Dimer-Testergebnisse werden in ng/ml angegeben. Die analytische Sensitivität steht in direkter Verbindung zum Instrument, das zur Durchführung des Tests verwendet wird. Weitere Informationen finden Sie im jeweiligen Anwendungsprotokoll zum Instrument, das bei Helena erhältlich ist. Die obere Grenze des messbaren Bereichs für unverdünnte Proben ist ein Vielfaches des Sollwerts des Kalibrators. Der spezifische Multiplikator hängt von der Applikationsvorschrift ab. Wenn ein Ergebnis über dem messbaren Bereich liegt, sollte die Probe entsprechend verdünnt und erneut getestet werden. D-Dimer-Konzentrationen unter 60 000 ng/ml zeigen keinen Wertabfall bei einem Antigenüberschuss.

Erhöhte D-Dimer-Konzentrationen können einige Zeit nach dem Abschluss des aktiven Prozesses vorliegen, Obgleich das Fehlen einer erhöhten D-Dimerkonzentration zum Ausschluss einer thrombotischen Erkrankung herangezogen werden kann, schließt ein negativer D-Dimer-Test das Vorliegen einer Thrombose nicht gänzlich aus, Die Ergebnisse der D-Dimer-Bestimmung sollten unter Berücksichtigung anderer klinischer und diagnostischer Informationen zur Diagnose und Behandlung von Patienten verwendet werden.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Bei Verwendung -Gerät mit Proben, die in Übereinstimmung mit der NCCLS Veröffentlichung EP7-P10 vorbereitet wurden, wird der AUTO D-Dimer-Test nicht beeinträchtigt durch: Hämoglobinspiegel unter 1200 mg/dl, Billrubinspiegel unter 19 mg/dl, Heparinspiegel unter 0,6 U/ml und Triglyzeridspiegel unter 2000 mg/dl. Die Interferenzen sind vom Instrument abhängig, siehe spezifisches Anwendungsprotokoll. Das Interferenzkriterium ist die Konzentration des Interferenzstoffs, bei der eine etwaige Änderung des gemessenen D-Dimer-Werts in ng/ml weniger oder gleich 10% beträgt. Trübes oder opaleszentes Plasma kann zu unregelmäßigen Ergebnissen führen und sollte mit Vorsicht interpretiert werden. Das Vorliegen von Rheumafaktor kann zu falsch-positiven Ergebnissen führen. RF-positive Plasmaproben sollten mit Vorsicht interpretiert werden. Humane Anti-Maus-Antikörper wurden mit diesem Produkt nicht getestet. Ergebnisse von Patienten mit heterophilen Antikörpern sollten mit Vorsicht interpretiert werden, da dieser Testkit Mausantikörper enthält und bei einer etwaigen Interferenz falsch erhöhte oder niedrige Werte erzielt werden können.

REFERENZWERTE

Da viele Variablen die Testergebnisse beeinflussen können, sollte jedes Labor seinen eigenen Nombereich bestimmen.

TABELLE 1

REFERENZWERTE FÜR DEN AUTO-D-DIMER-TEST

N	Mittelwert (ng/ml)	Standardabweichung	Obere Bereichs-grenze Mittelwert \pm 3 Standardabweichungen
137	67	26.7	147

LEISTUNGSSCHARAKTERISTIKA

SPEZIFITÄT:

Die in diesem Testkit verwendeten monoklonalen Antikörper reagieren mit D-Dimeren und D-Monomeren aus Fibrin. In Studien, durchgeführt wurden, reagierten die Antikörper weder mit Fibrinogen (gereinigt oder in Plasma) noch mit Plasmin oder streptokinasebehandeltem Plasma. Eine geringfügige Kreuzreaktivität zeigte sich mit nicht-quervernetztem Fibrin und Plasmin-Spaltprodukten aus gereinigtem Fibrinogen, in vivo verliert diese Kreuzreaktivität auf Grund des \square 2-Antiplasmins. Jedoch an Bedeutung, wie aus der fehlenden Kreuzreaktivität mit plasminbehandeltem Plasma hervorgeht.

KORRELATIONSSTUDIEN:

Der Helena AUTO D-Dimer-Testkit wurde unter Verwendung von normalen und abnormalen Proben mit einem anderen kommerziellen Test zur quantitativen Bestimmung von D-Dimeren verglichen. Die Ergebnisse dieser Korrelationsstudien sind in Tabelle 2 dargestellt.

TABELLE 2

KORRELATION DES AUTO D-DIMER-TEST

Regressionsgleichung	$Y = 0.5629 x - 35.8$
Korrelationskoeffizient (r)	0.937
Anzahl der Proben	135

PRÄZISION:

Der Präzisionstest erfolgte auf (Gerinnungsanalysegerät in Übereinstimmung mit NCCLS-Veröffentlichung EPS-5 unter Verwendung von anormalem Kontrollplasma mit niedrigen und hohen Werten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

TABELLE 3

PRÄZISION DES AUTO D-DIMER-TESTS

Präzision	Répétitivité	Total
Abnormales Plasma, niedrig N Mittelwert, ng/ml Standardabweichung, ng/ml CV %	20 311 11.3 3.64	40 311 18.6 6.04
Plasma anormal élevé N Mittelwert, ng/ml Standardabweichung, ng/ml CV %	20 2623 38.9 1.48	40 2623 85,3 3.25

LITERATUR

1. Elms, MJ et al: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. J Clin Path 85:360, 1986
2. Declerck, PV et al: Fibrinolytic response and fibrin fragment D-Dimer in patients with deep vein thrombosis, Thromb Haemost 58:1024, 1987
3. Bounameaux H, et al: Measurement of plasma D-Dimer for diagnosis of deep venous thrombosis, Am J Clin Path 91:82, 1989

4. Hansson PO, Eriksson H, Eriksson E, Jegenburg R, Risberg B: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? *J Intern Med* 235:143, 1994
5. Demers C, Ginsberg JS, Johnston M, Brill-Edwards P, Panju A: D-Dimer and antithrombin III complexes in patients with clinically suspected pulmonary embolism, *Thromb Haemost* 67: 408, 1992
6. Nakashima, J et al: Tumor necrosis factor and coagulopathy in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 55: 4881, 1995
7. Bailegeer, V et al: Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-Dimer levels in normal and complicated pregnancy. *Thromb Haemost* 85:1030, 1987
8. Holvoet, P et al: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-Dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an In Vivo model in rabbits. *Thromb Haemost* 61:307, 1989
9. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards Collection, Transport and preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays Approved Guideline, 3rd Edition. NCCLS Publication H21-A3, December 1998
10. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Interference Testing In Clinical Chemistry Proposed Guideline, 3rd Edition; NCCLS Publication EP7-P, Vol. 6, No. 13, 1986
11. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Evaluation of Precision Performance of a Clinical Chemistry Devices Approved Guideline; NCCLS Publication, EP5-A, Vol. 19, No., February 1999

USO PREVISTO

Il kit Helena Biosciences AUTO D-Dimer™ de è un esame di agglutinazione con microparticelle in polistirene per la determinazione quantitativa, tramite analizzatori di coagulazione automatizzati, di prodotti di degradazione della fibrina contenenti D-Dimero nel plasma umano citrato.

RIEPILOGO

L'attivazione del sistema emostático produce una fibrina con legame trasversale o stabilizzata come prodotto finale. L'idrolisi delle molecole del fibrinogeno per la formazione della fibrina apre dei siti che consentono la formazione di complessi ternari di fibrina guidati da affinità, attivatori tissutali del plasminogeno e plasminogeno, che producono la formazione di plasmina. La plasmina scinde la fibrina con legame trasversale in modo da formare i prodotti di degradazione esistono delle specie che contengono i legami di transglutaminasi (lisina-glutamina) mediati dal Fattore XIII tra le regioni terminali del carbossile delle catene gamma del fibrinogeno adiacente. I domini globulari contenenti queste catene gamma sono indicati come domini-D e i prodotti di degradazione della fibrina contenenti domini-D adiacenti legati a croce dal fattore XIII sono denominati D-dimeri. Sono stati sviluppati degli anticorpi che riconoscono gli epitopi del D-dimero.1,2

I livelli superiori al normale di D-dimero nel plasma sembrerebbero indicare l'attivazione della coagulazione con la formazione della fibrina con legame crociato e la successiva proteolisi per liberare il D-dimero contenente i prodotti di scissione. Sono stati osservati dei livelli elevati nella coagulazione intravasale disseminata (DIC)¹, nella flebotrombosi profonda (DVT)^{2,3,4} nell'embolia polmonare (PE)⁵ e in altre malattie come il cancro⁶. I livelli di D-dimero possono aumentare nella normale gravidanza, ma dei livelli più elevati possono indicare complicanze.⁷ Quindi, la presenza di livelli elevati di D-Dimero non è sufficiente per la diagnosi di una malattia trombotica. Tuttavia, l'assenza di livelli elevati di D-Dimero può essere usata per escludere la presenza di una malattia trombotica, come per esempio la DIC, la DVT o la PE.

Nell'esame Helena AUTO D-Dimero, le microparticelle di polistirene hanno un anticorpo monoclonale fissato con la stessa valenza. Alla presenza dell'antigene multimerico D-dimero si forma un complesso. La formazione dei complessi provoca l'aumento dell'assorbanza nella miscela della reazione che è correlata al livello dell'antigene. La procedura Helena offre un mazzo per la determinazione quantitativa dei livelli di plasma del D-dimero. Il livello del D-dimero. Il livello del D-dimero può essere usato per determinare le strategie di trattamento del paziente.

REAGENTI

REAGENTE AUTO D-DIMER, N° di catalogo 32056SA Soluzione tampone di granelli di microparcelle di polistirene rivestiti di un anticorpo monoclonale a struttura leggera MA-8D3 dirette contro il D-dimero.8 Contiene stabilizzatori e una percentuale dello 0,095% di azoturo di sodio come conservante, (4 x 2 ml).

TAMPONE REAGENTE AUTO D-DIMER, N° di catalogo 32059SA Tampone con stabilizzatori. pH 7,0. Azoturo di sodio (0,095%) aggiunto come conservante, (4 x 4 ml).

DILUENTE AUTO D-DIMER N° di catalogo 32058SA Soluzione salina alto 0,85%, (1 X 4 ml).

CALIBRATORE AUTO D-DIMER, N° di catalogo 32057SA Plasma umano liofilizzato arricchito con D-dimero della fibrina. 1×1ml @ 4624 ng/ml.

PRECAUZIONI:

I reagenti per l'AUTO D-Dimer sono "per uso diagnostico in vitro". Adottare le normali precauzioni previste per la manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire gli scarti in conformità alle leggi ed ai regolamenti vigenti.

Il tampone reagente AUTO D-Dimer è un prodotto IRRITANTE e NOCIVO, Irritante per gli occhi, per il tratto respiratorio e per la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare subito con acqua abbondante e consultare un medico. Indossare degli indumenti protettivi appropriati.

Il reagente e il tampone del reagente AUTO D-Dimer contengono azoturo di sodio, che può reagire con il piombo e con le tubazioni di rame formando azoturi di metallo altamente esplosivi. Evitare l'accumulo di azotidrilati.

Il tampone reagente e il calibratore AUTO D-Dimer sono dei MATERIALI CHE COSTITUISCONO DEI POTENZIALI RISCHI A LIVELLO BIOLOGICO. I materiali sorgente da cui sono tratti questi prodotti sono risultati negativi all' HbsAg (antigene del virus dell'epatite B) e agli anticorpi contro l'HCV, l'HIV-1 e l'HIV-2 tramite metodi di test approvati. Dato che nessun metodo di test può offrire una garanzia completa che gli agenti infettivi sono assenti, questo prodotto deve essere maneggiato osservando le precauzioni sulla sicurezza utilizzate in caso di manipolazione materiale potenzialmente infettivo.

Per un aggiornamento delle informazioni sui rischi, sui pericoli o sulla sicurezza consultare le schede delle materie prime, informative per quanto concerne la sicurezza.

PREPARATO:

Riconstituire il calibratore AUTO D-Dimer con 1,0 ml di acqua deionizzata. Richudere la fiala, agitare adagio per cionquo (5) minuti fino ad una temperatura ambiente (18-26° C). Mesclorara adagio, prima di usare. NON AGITARE.

Prima del trasferimento al contenitore secondario, capovolgere gentilmente il reagente AUTO D-Dimer. NON AGITARE. NON MISCHIARE CON UN'ASTICELLA.

Il tampone del reagente e il diluente AUTO D-Dimer sono forniti pronti per l'uso.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Il kit AUTO D-Dimer deve essere conservato in frigorifero ad una temperatura compress tra 2-6°C. I reagenti e i calibratori non aperti sono stabiliti fino alla data di scadenza.

Dopo l'apertura, il reagente, il tampone reagente e il diluente AUTO D-Dimer sono stabili per 14 giorni quando conservati con il cappuccio ben serrato e in frigorifero ad una temperatura di 2-6°C nella fiala originale. Non congelare.

Tampone Reagente AC-4 POS 37 @ 37°C ≥6 hrs
Reagente AC-4 POS 38 @ 37°C ≥ 6hrs

Il calibratore, AUTO D-Dimer ricostituito è stabile per 8 ore ad una temperatura di 18-26°C e per 3 giorni nel frigorifero a 2-6°C nella fiala originale. Per una stabilità ottimale, rimuovere i reagenti dal sistema analizzatore e conservarli ad una temperature compresa tra 2-6°C.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E CONSERVATIONE

Si consiglia di prevalere e conservare i campioni conformemente alla direttiva NCCLS H21-A39 o alla direttiva appropriata (per esempio: DIN58 905 Parte 1, "Emostaseologia: prelievo del sangue: preparazione del plasma del sangue citrato per la prova di coagulazione"). Nessun test noto è in grado di offrire una completa garanzia che i campioni del sangue umano non trasmetteranno infezione, pertanto tutti i derivati del sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Il sangue venoso in citrato di sodio al 3,2% con un rapporto di nove (9) parti di sangue per una (1) parte anticoagulante (rapporto 1:10). Il rapporto è importante. Se si utilizzano tubi a vuoto, deve essere assicurata un'estrazione completa. Si devono evitare traumi o stasi durante l'estrazione. Il sangue non deve essere raccolto attraverso un blocco di eparina o un'altra linea eparinizzata. La presenza di coaguli in un campione è motivo di rigetto.

Centrifugare a 1500 x g per 15 minuti a temperatura ambiente. A meno che i campioni non debbano essere trattati subito, trasferire il plasma in un tubo di plastica per analisi non appena è terminata la centrifuga. Conservare i campioni di plasma in frigorifero a 2-8 °C e analizzare entro 4 ore. In alternativa, è possibile conservare il plasma a -20°C per al massimo un mese. I campioni ematici congelati dovrebbero essere scongelati rapidamente a 37°C mescolandoli adagio ed esaminandoli subito dopo.

PROCEDURA

MATERIALI FORNITI:

Kit AUTO D-Dimer, N° di catalogo 5552

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI:

Analizzatore di coagulazione capace di misurare

l'assorbanza a 405 nm Dispositivi manouso specifici all'analizzatore,

PROCEDURA DI ANALISI:

Si raccomandano i parametri di sistema indicati di seguito. Per informazioni sulle applicazioni relative ai singoli strumenti, contattare il servizio tecnico della Helena Biosciences.

PARAMETRI DI SISTEMA

Helena AC-4

START=33s	METHOD=POINT	MIX=1	PATIENT (Pat) vol=25µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB=30s	MATH=lin Y=mx+t Regression = No	CLEAN=0	BUFFER (saline) Vol=0µL Pos=0	R0 Vol=0µL Pos=0
RUNTIME=240s	SENS=0	T-CORR=0 S-CORR= 0%	CLEAR (CLR) Vol=0µL	Reaction Buffer (R1) Vol=50µL Pos=37
				Latex Reagent (R2) Vol=50µL Pos=38

CONTROLLO DI QUALITÀ:

Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire un intervallo di controllo per determinare la variazione lecita nella prestazione routinaria dell' AUTO D-Dimer.

È necessario indagare e risolvere la cause del mancato rispetto delle specifiche del Controllo Qualità. Si consiglia di effettuare una nuova calibrazione ogni volta che i materiali di controllo non risultano nei valori stabiliti di accettabilità. L'esame deve essere ripetuto. Qualora non si riuscisse a risolvere i problemi, contattare il servizio tecnico della Helena oppure il rappresentante Helena locale.

RISULTATI

Tutti i campioni dei pazienti dovrebbero essere prima analizzati senza essere diluiti. I risultati del D-dimero sono riportati in ng/ml. La sensibilità analitica è direttamente collegata allo strumento utilizzato per eseguire il test. Per ulteriori informazioni, vedere il protocollo applicativo degli strumenti disponibile presso Helena Biosciences. Il limite superiore dell'intervallo notificabile per i campioni non diluiti è un multiplo del valore assegnato del calibratore. Lo specifico moltiplicatore utilizzato dipende dall'applicazione dello strumento. Se il risultato supera l'intervallo riferibile, analizzare di nuovo l'essame del campione usando una diluzione appropriata. Non è stato osservato alcun effetto di aggancio per accesso di antigene ai livelli di D-dimero inferiori a 60.000 ng/ml.

È possibile che perdurino per un certo tempo livelli elevati di D-dimero dopo che è cessato il processo attivo. Sebbene sia possibile usare l'assenza di livelli elevati di D-dimero per facilitare l'esclusione della presenza di una malattia trombotica, l'analisi con il D-dimero negativo non esclude completamente la presenza di trombosi. I risultati del D-dimero dovrebbero essere usati con altre informazioni cliniche e diagnostiche per dare forma ad una diagnosi e al trattamento del paziente.

LIMITAZIONI

In caso di analisi utilizzando i campioni preparati conformemente alla pubblicazione NCCLS EP7-P,10 i seguenti livelli non interferiscono con l'esame con l'AUTO D-Dimer: emoglobina inferiore a 1200 mg/l, bilirubina inferiore a 19 mg/dl, eparina inferiore a 0,6 U/ml e trigliceridi inferiori a 2000 mg/dl. Le interferenze sono dipendenti dallo strumento. Per ulteriori informazioni, vedere il protocollo applicativo specifico. Il criterio di interferenza è la concentrazione dell'elemento interferente a cui il cambiamento, se presente, nel valore misurato del D-dimero in mg/ml è inferiore o uguale al 10%. Il plasma torbido o opalescente può causare dei risultati erratici da interpretare con cautela. La presenza del fattore reumatoide può provocare dei falsi risultati positivi del test. I campioni ematici positivi per il fattore reumatoide devono essere interpretati con cautela.

La prova per l'anticorpo umano non è stata eseguita con questo prodotto. I risultati dei valori ematici di pazienti con anticorpo eterofilo dovrebbero essere interpretati con cautela dato che questo kit di analisi contiene anticorpi di topo. ed è possibile che l'interferenza provochi dei valori erroneamente elevati o bassi.

VALORI PREVISTI

A causa delle numerose variabili che possono incidere sui risultati, Izaskun laboratorio dovrebbe stabilire il proprio intervallo di riferimento.

TABELLA 1

VALORI PREVISTI DELL'AUTO D-DIMER

N	Media (ng/ml)	Deviazione Standard	Intervallo de riferimento superiores Media \pm 3SD
137	67	26.7	147

CARATTERISTICHE D'ESECUZIONE**SPECIFICITÀ:**

L'anticorpo monoclonale utilizzato in questo kit reagisce con il D-dimero e si dice che reagisce con il D-monomero della fibrina.⁸ Negli studi eseguiti, l'anticorpo non ha reagito con il fibrinogeno (purificato o nel plasma) e non ha nemmeno reagito con la plasmina a il plasma trattato con stropochinasi. È stata riscontrata una certa reazione crociata con la fibrina priva di legame crociato e i prodotti plasmina degradanti del fibrogeno purificato. Il rapporto in vivo della reazione crociata viene ridotto al minimo da \square 2 antiplasmina, conformemente a quanto dimostrato dalla mancanza di reazione crociata con il plasma trattato con plasmina.

STUDI DI CORRELAZIONE:

Il kit Helena AUTO D-Dimer ed un altro esame D-Dimero quantitativo disponibile sul mercato sono stati confrontati utilizzando dei campioni normali e dei campioni anormali. I risultati di questi studi di correlazione sono presentati nella Tabella 2.

TABELLA 2

CORRELAZIONE AUTO D-DIMER

Equazione di regressione	$Y = 0.5629x - 35.8$
Coefficiente di correlazione (r)	0.937
Numero di campioni	135

PRECISIONE:

La precisione è stata rappresentata utilizzando gli analizzatori di coagulazione conformemente alla pubblicazione NCCLS EP5-A utilizzando del plasma di controllo poco anormale e molto anormale.¹¹ I risultati sono riportati nella Tabella 3.

TABELLA 3

PRECISIONE AUTO D-DIMER

Precisione	Tra serie	Totale
Plasma poco anormale N Media, ng/ml SD, ng/ml CV %	20 311 11,3 3,64	40 311 18,6 6,04
Plasma molto anormale N Media, ng/ml SD, ng/ml CV %	20 2623 38,9 1.48	40 2623 85,3 3,25

BIBLIOGRAFIA

1. Elms, MJ et al: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. *J Clin Path* 85:360, 1986
2. Declerck, PV et al: Fibrinolytic response and fibrin fragment D-Dimer in patients with deep vein thrombosis, *Thromb Haemost* 58:1024, 1987
3. Bounameaux H, et al: Measurement of plasma D-Dimer for diagnosis of deep venous thrombosis, *Am J Clin Path* 91:82, 1989
4. Hansson PO, Eriksson H, Eriksson E, Jegenburg R, Risberg B: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? *J Intern Med* 235:143, 1994
5. Demers C, Ginsberg JS, Johnston M, Brill-Edwards P, Panju A: D-Dimer and antithrombin III complexes in patients with clinically suspected pulmonary embolism, *Thromb Haemost* 67: 408, 1992
6. Nakashima, J et al: Tumor necrosis factor and coagulopathy in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 55: 4881, 1995
7. Bailegeer, V et al: Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-Dimer levels in normal and complicated pregnancy. *Thromb Haemost* 85:1030, 1987
8. Holvoet, P et al: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-Dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an In Vivo model in rabbits. *Thromb Haemost* 61:307, 1989
9. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards Collection, Transport and preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays Approved Guideline, 3rd Edition. NCCLS Publication H21-A3, December 1998
10. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Interference Testing In Clinical Chemistry Proposed Guideline, 3rd Edition; NCCLS Publication EP7-P, Vol. 6, No. 13, 1986
11. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Evaluation of Precision Performance of a Clinical Chemistry Devices Approved Guideline; NCCLS Publication, EP5-A, Vol. 19, No., February 1999

APLICACIÓN

El kit Helena Biosciences AUTO D-DimerTM es un análisis de aglutinación de micropartículas de poliestireno para la determinación cuantitativa de productos de degradación de fibrina que contengan dímero D en plasma humano citrato utilizando analizadores de coagulación automáticos.

RESUMEN

La activación del sistema hemostático produce fibrina estabilizada o con enlaces cruzados como producto final. La hidrólisis de las moléculas de fibrinógeno para formar fibrina abre sitios que permiten la formación de complejos ternarios de afinidad de fibrina, activador tisular del plasminógeno y plasminógeno, con formación de plasmita. La plasma escinde la fibrina con enlaces cruzados formando productos de degradación de la fibrina (PDF). Entre estos PDF hay especies con uniones de transglutaminasa (lisina-glutamina) mediadas por el factor XIII entre las regiones carboxi-terminales de las cadenas gamma adyacentes de fibrina/fibrinógeno. Los dominios D globulares que contienen estas cadenas gamma se denominan dominios D, y los PDF que contienen dominios D adyacentes unidos con enlaces cruzados por el factor XIII se denominan dímeros D. Se han desarrollado anticuerpos que reconocen epítomos para el dímero D.1,2

La presencia de niveles plasmáticos de dímero D superiores a los valores normales parecería indicar la activación de la coagulación con formación de fibrina con enlaces cruzados y la subsiguiente proteólisis para liberar dímero D con PDF. Se han observado niveles elevados en la coagulación intravascular diseminada (CID),¹ la trombosis venosa profunda (TVP),^{2,3,4} la embolia pulmonar (EP)⁵ y en otras enfermedades tales como el cáncer.⁶ Los niveles de dímero D pueden estar elevados en el embarazo normal, pero niveles más altos pueden indicar la existencia de complicaciones.⁷ Por consiguiente, la presencia de niveles elevados de dímero D no es suficiente para el diagnóstico de un trastorno trombótico. Sin embargo, la ausencia de niveles elevados de dímero D pueden utilizarse para ayudar a descartar la presencia de un trastorno trombótico tal como la CID, la TVP o la EP. En los análisis Helena AUTO D-Dimer, las micropartículas de poliestireno tienen anticuerpos monoclonales unidos con enlaces covalentes. En presencia de antígeno dímero D multimérico se forma un complejo. La formación de los complejos causa un aumento de la absorbancia de la mezcla de reacción que está correlacionado con el nivel de antígeno. El procedimiento de Helena proporciona un medio de determinar cuantitativamente los niveles plasmáticos de dímero D. El nivel de dímero D puede utilizarse para determinar las estrategias terapéuticas para los pacientes.

REACTIVOS

REACTIVO AUTO D-DIMER, Referencia N° 32056SA Solución tamponada de esferas de micropartículas de poliestireno recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón MA-8D3 dirigido contra el dímero D8. Contiene estabilizantes y azida sódica al 0,095 % como conservante, (4 x 2 ml).

TAMPÓN DE REACCIÓN DE AUTO D-DIMER, Referencia N° 32059SA Tampón con estabilizantes, pH 7.0. Azida sódica al 0,095 %, añadida como conservante, (4 x 4 ml).

DILUYENTE AUTO D-DIMER, Referencia N° 32058SA Solución salina al 0,85%, (1 x 4 ml).

CALIBRADOR AUTO D-DIMER, Referencia N° 32057SA Plasma humano liofilizado enriquecido con dímero D de fibrina. 1×1ml @ 4624 ng/ml.

PRECAUCIONES:

Los reactivos AUTO D-Dimer son "Para Uso en Diagnóstico in vitro". Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Descarte los desechos observando las leyes correspondientes vigentes.

El tampón de reacción AUTO D-Dimer es IRRITANTE y NICOVO . Produce irritación ocular, respiratoria y cutánea. En caso de contacto con los ojos, lávelos inmediatamente con abundante agua y acuda al médico. Use ropas protectoras apropiadas.

El reactivo y el tampón de reacción AUTO D-Dimer contienen azida sódica, que puede reaccionar con el plomo y el cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Evita la acumulación de azidas.

El tampón de reacción y el calibrador AUTO D-Dimer son POTENCIALMENTE PELIGROSOS BIOLÓGICAMENTE. Los materiales de origen de estos productos mostraron resultados negativos con HBsAg y para anticuerpos frente a VHC, VIH-1 y VIH-2 con métodos de prueba aprobados. Debido a que ningún método de prueba puede ofrecer completa seguridad de que no existan agentes infecciosos, este producto debe manipularse siguiendo las precauciones normales ejercidas en el manejo de material potencialmente infeccioso.

Consulte la hoja de datos sobre seguridad de materiales para obtener información sobre riesgos, peligros o seguridad.

PREPARACIÓN:

Reconstituya el calibrador AUTO D-Dimer con 1,0 ml de agua desionizada. Coloque de nuevo el tapón de vial y agite el vial suavemente durante unos 5 minutos hasta obtener una solución homogénea. Deje reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente (16-26°C). Mezcle suavemente antes de usar, NO AGITAR.

Antes de transferirlo al contenedor secundario, invierta con suavidad el reactivo de dímero D AUTO. NO LO AGITE. NO LO REMUEVA CON UNA VARILLA.

El tampón de reacción y el diluyente se proporcionan listos para usar.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

El kit AUTO D-Dimer debe almacenarse en el refrigerador a 2-6°C. Los reactivos y calibradores no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad.

Después de abrir, el reactivo, el tampón de reacción y el diluyente AUTO D-Dimer son estables durante 14 días si se almacenan bien cerrados y refrigerados a 2-6°C en el vial original. No congelar.

Tampón de Reacción AC-4 POS 37 @ 37°C ≥6 hrs
Reactivo AC-4 POS 38 @ 37°C ≥ 6hrs

El calibrador AUTO D-Dimer reconstituido es estable durante 8 horas a 18-26°C y durante 3 días en el refrigerador a 2-6°C en el vial original.

Para una estabilidad óptima, retire los reactivos del sistema analizador y consérvelos refrigerados a 2-6°C.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

Se recomienda que la recolección y el almacenamiento de la muestra sean llevados a cabo de acuerdo con la norma H21-A3 del NCCLS9 u otras normas pertinentes (p.ej. DIN58 905 Part 1, "Haemostaseology, blood collection; preparation of plasma from citrated blood for coagulation testing".) Ningún método de prueba conocido puede ofrecer completa seguridad de que muestras de sangre humana no transmiten infección. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.

La sangre venosa se recoge en citrato sódico al 3,2 % en una proporción de 9 partes por 1 de anticoagulante (proporción 1:10). La proporción es crítica.

Si se utilizan tubos de ensayo al vacío comerciales, debe garantizarse una extracción completa. Deben evitarse los traumatismos o la éstasis durante la

extracción. La sangre no debe recogerse a través de vías heparinizadas o de bloqueo de la heparina. La presencia de coágulos en una muestra es causa de rechazo.

Centrifugue a 1,500 x g durante 15 minutos a temperatura ambiente. A menos que se vaya a procesar las muestras inmediatamente, transfiera el plasma a un tubo de ensayo de plástico en cuanto se complete la centrifugación. Conserve las muestras de plasma refrigeradas a 2-6°C y analícelas en las 4 horas siguientes. De forma alternativa, el plasma también puede conservarse a -20°C. durante un plazo máximo de 1 mes. Las muestras de plasma congelado deben descongelarse rápidamente a 37°C mientras se mezclan suavemente y analizarse inmediatamente.

PROCEDIMIENTO

MATERIALES PROVISTOS:

Kit AUTO D-Dimer, Referencia N° 5552

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROVISTOS:

Analizador de coagulación capaz de medir absorbancia a 405 nm Consumibles específicos del analizador,

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS:

Se recomienda establecer los siguientes parámetros del sistema. Para obtener más información de las aplicaciones de instrumentos concretos, póngase en contacto con el Departamento de Servicio Técnico de Helena Biosciences.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Helena AC-4

START=33s	METHOD=POINT	MIX=1	PATIENT (Pat) vol=25µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB=30s	MATH=iin Y=mx+t Regression = No	CLEAN=0	BUFFER (saline) Vol=0µL Pos=0	R0 Vol=0µL Pos=0
RUNTIME=240s	SENS=0	T-CORR=0 S-CORR= 0%	CLEAR (CLR) Vol=0µL	Reaction Buffer (R1) Vol=50µL Pos=37
				Latex Reagent (R2) Vol=50µL Pos=38

CONTROL DE CALIDAD:

Cada laboratorio debe establecer un rango de control para determinar la variación de permisible en el comportamiento diario del AUTO D-Dimer.

El incumplimiento de las especificaciones de control de calidad debe investigarse y resolverse. Se recomienda volver a calibrar el instrumento si los materiales de control no están dentro del rango aceptable establecido. Debe repetirse el análisis. Si no pueden resolverse los problemas, póngase en contacto con el Departamento de Servicio Técnico de Helena o con su representante local de Helena.

RESULTADOS

Todas las muestras de pacientes deben ensayarse inicialmente no diluidas. Los resultados de dímero D se comunican en ng/ml. La sensibilidad analítica está directamente relacionada con el instrumento utilizado para llevar a cabo la prueba. Para más información, consulte el protocolo de uso del instrumento, el cual puede solicitar a Helena. El extremo superior del margen de informes de muestras sin diluir es un múltiplo del valor asignado al calibrador. El multiplicador específico que se utiliza depende de la aplicación del instrumento. Si el resultado supera el rango notificable, vuelva a ensayar la muestra utilizando una dilución apropiada. No se observa un efecto "hook" por exceso de antígeno con exceso de antígeno con niveles de dímero D inferiores a 60,000 ng/ml.

Los niveles elevados de dímero D pueden persistir durante algún tiempo una vez terminado el proceso activo. Aunque la ausencia de niveles elevados de dímero D puede utilizarse para ayudar a descartar la presencia de un trastorno trombótico, un resultado negativo de dímero D no descarta completamente la presencia de trombosis. Los resultados de dímero D deben utilizarse junto con otra información clínica o diagnóstica para establecer un diagnóstico y el tratamiento del paciente.

LIMITACIONES

Cuando se realizan pruebas con el analizador utilizando muestras preparadas conforme a la publicación EP7-P del NCCLS10, los niveles de los siguientes elementos no interfieren en el análisis AUTO D-Dimer: hemoglobina inferior a 1200 mg/l, bilirrubina inferior a 19 mg/dl, heparina inferior a 0,6 U/ml y triglicéridos inferior a 2000 mg/dl. Las interferencias dependen del instrumento, consulte el correspondiente protocolo de uso. El criterio de interferencia es la concentración del producto de interferencia a la que el cambio, si es que se produce, del valor determinado de dímero D en mg/ml es inferior o igual al 10%. Si el plasma está turbio u opalescente pueden producirse resultados erráticos, que deberán interpretarse con precaución. La presencia de factor reumatoide puede producir resultados falsos positivos de la prueba. Las muestras de plasma positivas para el factor reumatoide deben interpretarse con precaución. La prueba de

anticuerpos humanos anti-ratón no se realizó con este producto. Los resultados de pacientes con anticuerpos heterófilos deben interpretarse con precaución, ya que este kit de prueba contiene anticuerpos de ratón que podrían producir interferencias, dando lugar a valores falsamente elevados o disminuidos.

VALORES ESPERADOS

Debido a numerosas variables que pueden afectar a los resultados, cada laboratorio establece su propio rango de referencia.

TABLA 1

VALORES ESPERADOS DE AUTO D-DIMER

N	Media (ng/ml)	Desviación estándar	Rango superior de referencia Media \pm 3SD
137	67	26.7	147

CARACTERÍSTICAS DEL COMPORTAMIENTO

ESPECIFICIDAD:

El anticuerpo monoclonal utilizado en este kit reacciona con el dímero D y se ha descrito que reacciona con el monómero D de la fibrina.⁸ En estudios realizados, el anticuerpo no reaccionó con el fibrinógeno (purificado o en plasma) ni con plasma tratado con plasmina o estreptocinasa. Se observó cierta reactividad cruzada con fibrina sin enlaces cruzados y productos de degradación de la plasmina procedentes de fibrinógeno purificado. La relevancia in vivo de la reactividad cruzada se reduce al mínimo en antiplasmin \square 2, tal y como se demuestra por la falta de reactividad cruzada con plasma tratado con plasmina.

ESTUDIOS DE CORRELACIÓN;

Se compararon el kit Helena AUTO D-Dimer y otro análisis cuantitativo de dímero D comercializado utilizando muestras normales y anormales. Los resultados de estos estudios de correlación se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2

CORRELACION DE AUTO D-DIMER

Ecuación de regresión	$Y = 0.5629 x - 35.8$
Coefficiente de correlación (r)	0.937
Número de muestras	135

PRECISIÓN:

La precisión se evaluó utilizando los analizadores de coagulación conforme a la publicación EP5-A del NCCLS utilizando plasma de control anormales bajos y altos¹¹. Los resultados se presentan en la Tabla 3.

TABLA 3

PRECISION DE AUTO D-DIMER

Precisión	Es una misma pesada	Total
Plasma anormal bajo N Media, ng/ml DE, ng/ml CV %	20 311 11.3 3.64	40 311 18.6 6.04
Plasma anormal alto N Mean, ng/ml DE, ng/ml CV %	20 2623 38.9 1.48	40 2623 85,3 3.25

REFERENCIAS

1. Elms, MJ et al: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. *J Clin Path* 85:360, 1986
2. Declerck, PV et al: Fibrinolytic response and fibrin fragment D-Dimer in patients with deep vein thrombosis, *Thromb Haemost* 58:1024, 1987
3. Bounameaux H, et al: Measurement of plasma D-Dimer for diagnosis of deep venous thrombosis, *Am J Clin Path* 91:82, 1989
4. Hansson PO, Eriksson H, Eriksson E, Jegenburg R, Risberg B: Can laboratory testing improve screening strategies for deep vein thrombosis at an emergency unit? *J Intern Med* 235:143, 1994
5. Demers C, Ginsberg JS, Johnston M, Brill-Edwards P, Panju A: D-Dimer and antithrombin III complexes in patients with clinically suspected pulmonary embolism, *Thromb Haemost* 67: 408, 1992
6. Nakashima, J et al: Tumor necrosis factor and coagulopathy in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 55: 4881, 1995
7. Bailegeer, V et al: Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-Dimer levels in normal and complicated pregnancy. *Thromb Haemost* 85:1030, 1987
8. Holvoet, P et al: Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-Dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an In Vivo model in rabbits. *Thromb Haemost* 61:307, 1989
9. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards Collection, Transport and preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays Approved Guideline, 3rd Edition. NCCLS Publication H21-A3, December 1998

10. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Interference Testing In Clinical Chemistry Proposed Guideline, 3rd Edition; NCCLS Publication EP7-P, Vol. 6, No. 13, 1986
11. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Evaluation of Precision Performance of a Clinical Chemistry Devices Approved Guideline; NCCLS Publication, EP5-A, Vol. 19, No., February 1999

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD

Tel. +44 (0)191 482 8440
Fax +44 (0)191 482 8442
Email info@helena-biosciences.com
Web www.helena-biosciences.com



HL-2-1735P 2008/04 (4)