

| D-DIMERO  |  |     |
|---|--|-----|
| Determinazione quantitativa del D-DIMERO nel plasma umano |  |     |
| REF   |  | IVD |
| MCLDDI  |  |     |

### 1. PRINCIPIO

Frammenti di fibrina contenenti D-dimero antigene sono sempre presenti nel plasma quale prodotto di degradazione della fibrina con legame crociato sotto l'azione della plasmina. A seguito di traumi o in condizioni di aumentata attività del sistema emostatico, si riscontra un aumento della concentrazione di D-dimero. La determinazione del D-dimero è divenuto il metodo prevalente per la diagnosi di trombosi. Elevati livelli di D-dimero si riscontrano associati a condizioni cliniche quali la trombosi venosa profonda (TVP), l'embolia polmonare (EP) e la coagulazione intravascolare disseminata (CID) 1-4. Un risultato negativo del test del D-dimero per pazienti con sospetto di disturbi trombotici ha un elevato valore predittivo negativo. Il kit "D-dimero" consiste in particelle di polistirene submicronizzate rivestite di anticorpo monoclonale specifico del D-dimero. In presenza di D-dimero nel campione in esame, le particelle si agglutinano provocando un aumento della diffrazione ottica. Alla opportuna lunghezza d'onda l'aumento di diffrazione è misurato come un aumento di torbidità del campione proporzionale alla concentrazione di D-dimero nel campione.

### 2. PREPARAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagente:

**R1) Tampone di reazione - liquido e pronto all'uso.**

Tampone e preservanti.

**R2) Lattice - liquido e pronto all'uso**

Particelle di polistirene, rivestite con anticorpo monoclonale, sospese in tampone con preservanti e stabilizzatori.

Il Reagente è stabile fino alla data di scadenza se conservato a 2 – 8 °C.

(Non congelare)

**E' indispensabile che il reagente al momento dell'uso, sia a Temperatura ambiente**

Una prolungata conservazione del reagente potrebbe determinare la formazione di un sedimento giallo. In tal caso, prima dell'uso, agitare delicatamente. Valori errati, valori del controllo di qualità oltre i limiti stabiliti oppure alterazioni del colore del prodotto potrebbero indicarne un deterioramento. In ogni caso, prestazioni scadenti potrebbero essere dovute ad altri fattori legati al sistema del test.

**Il Reagente non contiene sostanze o preparati classificati pericolosi in base alla legislazione attualmente vigente**

### 3. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nove volumi di sangue devono essere raccolti in un volume di citrato di sodio al 3,2% (0,109 M). Immediatamente dopo la raccolta del sangue, i campioni vengono centrifugati a 1 500 x g per 10 minuti e separare il surnatante. Fare riferimento alla versione più recente del documento CLSI H21 per ulteriori istruzioni relative alla raccolta e alla conservazione dei campioni.

### 4. PRECAUZIONI

Ogni qualvolta si manipolano agenti infettanti, reagenti chimici, reagenti di origine umana od animale, sangue o altri liquidi biologici, è consigliabile seguire le più comuni raccomandazioni e prendere tutte le necessarie precauzioni igieniche come l'utilizzazione di guanti monouso.

### 5. CALIBRAZIONE E CONTROLLO DI QUALITÀ

Per il controllo di qualità utilizzare:

Control Plasma I 1 ml REF MCL-ALTO  
Control Plasma II 1 ml REF MCL-BASSO

E' consigliabile eseguire un controllo normale ed uno patologico almeno ogni 40 campioni.

Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire il proprio range di controllo che tenga conto delle possibili variazioni giornaliere delle performance di ciascun controllo

### 6. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Normale strumentazione di laboratorio. Coagulometro con termostato per le cuvette. Micropipette automatiche. Cuvette di vetro o di polistirene ad alta qualità. Cronometro.

### 7. PROCEDURA MANUALE

1. Dispensare 15 ul di Plasma in una delle provette in dotazione.
2. Aggiungere 100 ul di R1.
3. Aggiungere 85 ul di R2.
4. Incubare per 60 secondi e attendere per il risultato.

### 8. VALORI DI RIFERIMENTO

Ogni laboratorio deve determinare specifici valori di riferimento, sulla base della propria popolazione.

Adulti:

> 200 ng/ml

### 9. CALCOLO.

**Si consiglia di costruire una curva per ogni nuovo lotto di prodotto, ogni qualvolta si cambia lo strumento e nei casi in cui i valori dei controlli non rientrino nel range**

### 10. LIMITAZIONI.

L'analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni influenzate da numerose condizioni preesistenti all'analisi stessa e, pertanto, per ottenere risultati riproducibili è necessario un costante controllo di tali variabili<sup>5</sup> come ad esempio:

- Il pH del plasma aumenta se esposto all'aria. Conservare, quindi, il plasma sempre in provette di plastica e di vetro silconato ben chiuse
- Il prodotto è stato studiato per funzionare a 37 °C. Assicurarsi che tutti gli elementi riscaldanti, pertanto, si trovino costantemente a tale temperatura
- Tutte le attrezzature di laboratorio devono risultare sempre perfettamente pulite e prive anche di sole tracce di detersivi
- Per un appropriato uso della strumentazione seguire sempre le raccomandazioni del produttore

### 11. INTERFERENZE.

D-dimer è insensibile alle seguenti sostanze: emoglobina (fino a 4 g/L), bilirubina (fino a 0,1 g/L), trigliceridi (fino a 2,5 g/L), eparina a basso peso molecolare (fino a 100 U/mL) e eparina non frazionata (fino a 100 U/mL). Campioni di pazienti che hanno ricevuto per scopi diagnostici o terapeutici preparazioni di anticorpi monoclonali di topo possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Questi anticorpi possono causare una sovrastima dei livelli di D-dimero. La presenza di fattore reumatoide può causare risultati falsamente elevati. Campioni torbidi o opalescenti possono causare letture errate. In questi casi interpretare i risultati con cautela, diluire il campione e ripetere l'analisi.

### 12. SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Il prodotto deve essere utilizzato solo in laboratori specializzati. Fare riferimento alle normative vigenti per una corretta procedura di smaltimento dei rifiuti.

**S56:** riporre il material e i flaconi in apposite contenitori per prodotti pericolosi o inquinanti..

**S57:** utilizzare contenitori appropriate per impedire inquinamento ambientale.

**S61:** evitare di disperdere nell'ambiente. Fare riferimento al data sheet relativo alla sicurezza.

### 13. NOTE

1. Non ritardare a mescolare il sangue con l' anticoagulante
2. Evitare la schiuma nei campioni
3. Campioni torbidi, itterici, lipemici od emolisati potrebbero dare luogo a risultati errati.
4. Utilizzare esclusivamente contenitori in vetro silconato od in plastica
5. Il congelamento e lo scongelamento del plasma che contiene cellule residue possono danneggiare le membrane compromettendo i risultati
7. Campioni di plasma con ematocrito non compreso tra 20 e 55% potrebbero non rispondere correttamente al test. In tali casi è necessario modificare la concentrazione del citrato cambiando il rapporto tra sangue ed anticoagulante

### 14. BIBLIOGRAFIA

- 1.Heit, J. A. et al. Determinants of plasma fibrin D-dimer sensitivity for acute pulmonary embolism as defined by pulmonary angiography. Arch Pathol Lab Med, 123: 235-239, 1999.
- 2.Bounameaux, H., et al. Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview. Thromb Haemostas, 71: 1-6, 1994.
- 3.Pfizzer S.A. et al. Fibrin detected in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation by fibrin-specific antibodies consists primarily of high molecular weight factor XIII-crosslinked and plasmin-modified complexes partially containing fibrinopeptide A. Thromb Haemostas, 78: 1069- 1078, 1997.
- 4.Lindahl T. L. et al. Clinical evaluation of a diagnostic strategy for deep venous thrombosis with exclusion by low plasma levels of fibrin degradation product D-dimer. Scand J Lab Invest, 58: 307-316, 1998.
- 5.Gardiner, C., et al. An evaluation of rapid D-dimer assays for the exclusion of deep vein thrombosis. British Journal of Haematology, 128: 842-848, 2005.
- 6.Meissner, M.H., Venous thromboembolism in trauma: a local manifestation of systemic hypercoagulability? J. Trauma, 54(2): 224-231, 2003.
- 7.Ballegeer, V. et al. Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-dimer levels in normal and complicated pregnancy. Thromb Haemostasis 58: 1030- 1032, 1987.
- 8.Kario, K. et al. Which factors affect high D-dimer levels in the elderly? Thromb Res, 65(5): 501-508, 1991.

### 15. SIMBOLI – 98/79/EC DIRECTIVE



SELEO SRL  
I TRAVERSA BUGNANO SC – 81030 – ORTA DI ATELLA (CE)



D-DIMERO\_SELEO\_CE\_IT\_REV01\_032017