



american diagnostica® DIMERTEST® Latex

BEOOGD GEBRUIK

De DIMERTEST® Latex-test is bedoeld voor een snelle kwalitatieve of semi-kwantitatieve evaluatie van circulerende derivaten van gecrosslinkte fibrineafbraakproducten (XL-FDP) in humaan plasma.

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE TEST

Als bloed stolt, wordt fibrinogeen door trombine omgezet in fibrine. De fibrinemonomeren die daarbij ontstaan, polymeriseren waardoor een oplosbare gel van fibrine zonder dwarsverbindingen wordt gevormd. Die fibrinegel wordt dan door factor XIII na activatie door trombine omgezet in gecrosslinkte fibrine, waardoor een onoplosbaar fibrinestolsel ontstaat. Bij de vorming van een fibrinestolsel wordt ook de productie van plasmine, het belangrijkste fibrinolytische enzym, gestimuleerd.

Fibrinogeen en fibrine worden beide door het fibrinolytische plasmine gesplitst met vorming van afbraakproducten, maar alleen afbraakproducten van gecrosslinkte fibrine bevatten D-dimeren^{1,3}. Gecrosslinkte fibrineafbraakproducten (XL-FDP) zijn dan een ook een specifieke merker van fibrinolyse.

PRINCIPE VAN DE TEST

De DIMERTEST® Latex is een snelle agglutinatietest, waarbij gebruik wordt gemaakt van latexkorreltjes waarop een monoklonale antistof zit die specifiek gericht is tegen D-dimeren. De XL-FDP in een plasmanmonster binden aan de beklede latexkorreltjes, wat resulteert in een zichtbare agglutinatie wanneer de concentratie van D-dimeren hoger is dan de detectiedrempel van de test.

REAGENTIA

Samenstelling

- DIMERTEST® Latex - reagens: een 0,83 % suspensie van latexpartikels die bekleed zijn met een muriene monoklonale antistof tegen D-dimeren, 10 mg/ml BSA en 0,1% natriumazide.
- DIMERTEST® - positieve controle: een oplossing van zuiverde humane D-dimeerfragmenten, 5 mg/ml BSA en 0,1% natriumazide.
- DIMERTEST® - negatieve controle: een bufferoplossing bestaande uit 5 mg/ml BSA en 0,1% natriumazide.
- DIMERTEST® - buffer: een bufferoplossing van 10 mM fosfaat en 0,1% natriumazide.

Waarschuwingen en voorzorgen

- Alleen bedoeld voor in-vitro-diagnostiek.
- Schadelijk bij opname door de mond (R22). Aanraking met de ogen en de huid vermijden (S24/25). Afval niet in de gootsteen werpen (S29). Draag geschikte beschermende kleding (S36).
- OPGELET: Alle reagentia van DIMERTEST® Latex bevatten natriumazide (0,1%) als conserveermiddel. Niet inslikken en niet in contact laten komen met huid of slijmvliezen. Natriumazide kan explosieve ziden vormen in metalen afvoerbuizen. Pas geschikte verwijderingsprocedures toe.
- OPGELET: De positieve controle van de DIMERTEST® Latex bevat bestanddelen van menselijke oorsprong. Elke individuele bloeddonatie die bestemd is voor de productie van het reagens, wordt getest op HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 en anti-HIV2. Enkel donaties die negatief blijken te zijn, worden gebruikt. Volledige afwezigheid van infectieuze organismen kan echter nooit worden gegarandeerd. Derhalve moet alle materiaal dat afgeleid is van menselijk bloed, worden behandeld als zijnde mogelijk infectieus en moeten de voorzorgsmaatregelen worden nageleefd die worden aanbevolen voor het omgaan met gevaarlijk biologisch materiaal.

Bewaring en houdbaarheid

Bewaring: Bewaren bij 2 °C tot 8 °C. NIET INVRIEZEN.

Houdbaarheid: De vervaldatum staat vermeld op de verpakking en het etiket op het flesje.

Aanwijzing voor verslechtering van het reagens

Het reagens is niet meer goed als het latexreagens geen agglutinatie geeft met de positieve controle, als het agglutinatie geeft met de negatieve controle of als er aanwijzingen voor microbiële contaminatie zijn.

AFNAME EN VOORBEREIDING VAN HET SPECIMEN

Het verdient aanbeveling plasma te nemen van volledig bloed dat onstolbaar werd gemaakt met natriumcitraat. Het gebruik van EDTA en heparine resulteert in een toename van het aantal fout-positieve reacties. Na scheiding van het plasma door centrifugatie (1500 g gedurende 15 minuten bij 4 °C - 10 °C) kunnen de specimen rechtstreeks op aanwezigheid van XL-FDP worden getest. Defibrineren van het plasma wordt niet aangeraden.

Bewaring/houdbaarheid van het plasma: - 20 °C: 2 weken

Ingevroren specimen snel ontdooien bij 37 °C en centrifugeren vooraleer te testen. Meer instructies voor de afname, de verwerking en de bewaring van specimen vindt u in de NCCLS-publicatie H21-A3.

PROCEDURE

Geleverd materiaal

REF DLHK7 - DIMERTEST® Latex, Kit

Latexreagens 1 x 2,0 ml: witte dop **Negatieve controle** 1 x 0,6 ml: zwarte dop

Positieve controle 1 x 0,6 ml: gele dop **Buffer** 1 x 20,0 ml

Testkaarten x 10: 8 putjes, voor agglutinatiereactie

Roeders x 60: om te mengen

Gebruiksaanwijzing

REF DLHR9 - DIMERTEST® Latex, Flesje

Latexreagens 1 x 2,0 ml: witte dop

Gebruiksaanwijzing

Verest materiaal dat niet wordt meegeleverd

Precisiepipetten en tippen - 20 µl en 100 µl

Plastic proefbuisjes en rek

Wegwerphandschoenen

Stopwatch of chronometer

Doekjes (om het uiteinde van het druppelflesje af te vegen)

REVISION 2007-02

Belangrijk!

- Laat de reagentia voor gebruik op kamertemperatuur (20 °C tot 25 °C) komen.
- Het latexreagens moet meten voor gebruik worden gemengd door inversie.
- Voor elk gebruik moet het uiteinde van de druppelflesjes met een doekje worden droog geveegd.
- De druppelflesjes moeten verticaal worden gehouden bij het druppelen van reagens.



Kwalitatieve methode

- Merk (of noteer) posities op het testglasje voor specimen en, zo nodig, voor positieve en negatieve controles.
- Hou het druppelflesje met het latexreagens verticaal en doe een druppel van het reagens in een putje op een testkaart. Het oppervlak van de testkaart niet aanraken.
- Pipetteer nauwkeurig 20 µl onverdund plasma of doe een druppel van de controleoplossing in hetzelfde putje naast de druppel van het latexreagens.
- Meng het latexreagens en het monster met een roerder tot de latex gelijkmatig verspreid is.
- Schud de testkaart voorzichtig gedurende precies 3 minuten.
- Kijk na precies 3 minuten onder een sterke lichtbron of er agglutinatie is.
- Merk op: Als de test later dan na 3 minuten wordt afgelezen, kan de latexsuspensie uitdrogen, wat een pseudo-agglutinatiem patroon geeft. Bij vermoeden van pseudo-agglutinatie moet het specimen opnieuw worden getest.
- Gooi de testkaart en de roerder weg in een container voor biologisch afval - niet hergebruiken.

Semi-kwantitatieve methode

- Bereid seriële verdunningen van het testplasma met buffer als volgt:
 - 1:2 verdunning 100 µl plasma plus 100 µl bufferoplossing
 - 1:4 verdunning 100 µl 1:2 verdunning plus 100 µl bufferoplossing
 - 1:8 verdunning 100 µl 1:4 verdunning plus 100 µl bufferoplossing
- Test elke verdunning zoals beschreven in de kwalitatieve methode.

Kwaliteitscontrole

Het verdient aanbeveling bij elke reeks tests zowel een positieve als een negatieve controle uit te voeren om na te gaan of het systeem goed werkt. De controleoplossingen moeten op dezelfde manier worden getest als de monsters van de patiënten. Met de kwalitatieve screeningprocedure kan een positief resultaat (agglutinatie) worden verkregen door het plasma in stappen 3-6 te vervangen door de DIMERTEST® - positieve controle. Omgekeerd kan een negatief resultaat (geen agglutinatie) worden verkregen door het plasma in stappen 3-6 te vervangen door de DIMERTEST® - negatieve controle. Bij het uitvoeren van de semi-kwantitatieve procedure wordt aanbevolen seriële verdunningen van de positieve controle uit te testen. De DIMERTEST® Latex - positieve controle bestaat uit een oplossing van humane D-dimeren in een concentratie van ongeveer 0,80 mg/l (800 ng/ml).

RESULTATEN

A. Kwalitatieve test

Met de kwalitatieve methode zouden de volgende resultaten moeten worden behaald:

Overdund plasma **Concentratie van D-dimeren (XL-FDP)**

Negatief Minder dan 0,20 mg/l (200 ng/ml)

Positief Meer dan 0,20 mg/l (200 ng/ml)

Merk op: Alle waarden in mg/l (ng/ml) zijn approximatief

B. Semi-kwantitatieve test

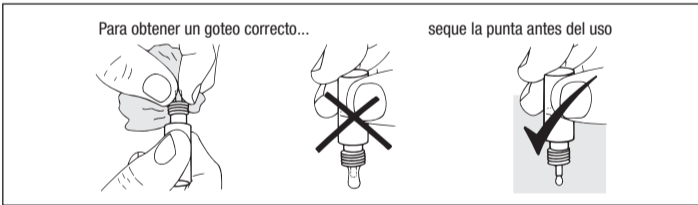
Approximatieve concentraties van XL-FDP, die het D-dimeerdomein bevatten, bij dilutie van het specimen worden weergegeven in Tabel 1. Zoals met alle semi-kwantitatieve tests is een zekere variabiliteit van de dosisrespons te verwachten.

Tabel 1					
Approximatieve spreiding D-dimeren (XL-FDP) mg/l (ng/ml)		Dilutie van het monster			
		Onverdund	1:2	1:4	1:8
<0,20	(<200)	-	-	-	-
0,20 - 0,40	(200 - 400)	+	-	-	-
0,40 - 0,80	(400 - 800)	+	+	-	-
0,80 - 1,60	(800 - 1600)	+	+	+	-
1,60 - 3,20*	(1600 - 3200*)	+	+	+	+

*+ = agglutinatie, "-" = geen agglutinatie
* Concentraties van XL-FDP van meer dan 3,20 mg/l (3200 ng/ml) kunnen worden geraamd door een sterkere verdunning dan 1:8.

Importante!

- Levar los reactivos a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes del uso.
- El reactivo al látex debe ser mezclado mediante inversión inmediatamente antes del uso.
- Antes de cada uso, se debe limpiar la punta del cuentagotas con una gasa.
- Se debe sujetar el cuentagotas verticalmente mientras se vierten las gotas del reactivo.



Método Cualitativo

- Haga una marca (o tome nota) de las posiciones en la placa de prueba para muestras y, de ser necesario, en las placas para los controles positivo y negativo.
- Sujete el cuentagotas del Reactivo al Látex verticalmente y vierta una gota del reactivo dentro de un pocillo de la placa de prueba. EVITE tocar la superficie de la placa de prueba.
- Pipeteo exactamente 20 µl de plasma no diluido o agregue una gota de la solución control dentro del mismo pocillo al lado de la gota del reactivo al látex.
- Mezcle el reactivo al látex y la muestra con un agitador hasta que el látex esté uniformemente distribuido.
- Balancee suave y manualmente la placa de prueba durante exactamente 3 minutos.
- A los 3 minutos exactamente, verifique si existe aglutinación bajo una fuente luminosa potente. Nota: Si la lectura de la prueba se realiza pasados los 3 minutos, la suspensión del látex puede secarse dando un falso patrón de aglutinación. En caso de duda, se debe reconocer la prueba.
- Deseche la placa de prueba y el agitador en un contenedor para residuos biológicos - no los reutilice.

Método Semicuantitativo

- Prepare diluciones seriadas de plasma a analizar, con la sustancia Tampón como se describe a continuación:
 - Dilución 1/2 : 100 µl de plasma más 100 µl de solución Tampón (Buffer)
 - Dilución 1/4 : 100 µl de la dilución 1/2 más 100 µl de solución Tampón
 - Dilución 1/8 : 100 µl de la dilución 1/4 más 100 µl de solución Tampón
- Examine cada dilución como se ha descrito en el método cualitativo.

Control de Calidad

Se recomienda realizar los controles tanto positivo como negativo en cada lote de pruebas para asegurarse que el sistema funciona correctamente. Las soluciones control deben ser examinadas mediante el mismo tipo de procedimiento que las muestras de los pacientes. Para el método cualitativo, se puede obtener un resultado positivo (aglutinación) reemplazando el plasma por el Control Positivo DIMERTEST® en las etapas 3-6. A la inversa, se puede obtener un resultado negativo (ausencia de aglutinación) reemplazando el plasma por el Control Negativo DIMERTEST® en las etapas 3-6. Cuando se lleva a cabo el procedimiento semicuantitativo, se recomienda examinar una serie de diluciones progresivas del Control Positivo. El Control Positivo de la prueba al Látex Dimertest® está compuesto de una solución de dímero D humano a una concentración de aproximadamente 0,80 mg/l (800ng/ml).

RESULTADOS

A. Análisis Cualitativo

En el protocolo de análisis cualitativo, se deben obtener los siguientes resultados:

Plasma no diluido **Concentración de dímeros D (XL-FDP)**

Negativo Menos de 0,20 mg/l (200ng/ml)

Positivo Más de 0,20 mg/l (200ng/ml)

Nota: Todos los valores en mg/l (ng/ml) son aproximativos

B. Análisis Semicuantitativo

El Cuadro 1 muestra las concentraciones aproximadas de XL-FDP que contienen dímeros D, según las diferentes diluciones de las muestras. Como ocurre con todas las pruebas semicuantitativas, puede existir una cierta variabilidad en la relación dosis-respuesta.

Cuadro 1					
Intervalo aproximado Dímeros D (XL-FDP) mg/l (ng/ml)		Dilución de las muestras			
		No diluidas	1/2	1/4	1/8
<0,20	(<200)	-	-	-	-
0,20 - 0,40	(200 - 400)	+	-	-	-
0,40 - 0,80	(400 - 800)	+	+	-	-
0,80 - 1,60	(800 - 1600)	+	+	+	-
1,60 - 3,20*	(1600 - 3200*)	+	+	+	+

*+ = aglutinación, "-" = ausencia de aglutinación
* Los niveles de concentración de XL-FDP superiores a 3,20 mg/l (3200 ng/ml) pueden ser calculados mediante diluciones ulteriores más allá de 1:8.

BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURE

De klinische diagnose mag niet worden gebaseerd op het resultaat van een DIMERTEST® Latex alleen. Bij de diagnostische beslissing moet ook rekening worden gehouden met klinische tekenen en relevante informatie van andere onderzoeken.

VERWACHTE WAARDEN

De DIMERTEST® Latex zou een positief resultaat moeten geven, wat getuigt van actieve fibrinolyse, als de concentratie van XL-FDP (D-dimeren) gelijk is aan of hoger dan ongeveer 0,20 mg/l (200 ng/ml). Plasmaspecimens van normale personen zouden negatieve resultaten moeten geven omdat hun plasma-XL-FDP-concentraties typisch lager zijn dan 0,20 mg/l (200 ng/ml). Doordat vele variabelen een invloed kunnen hebben op de resultaten, moet elk laboratorium zijn eigen normale waarden bepalen.

Verhoogde spiegels van XL-FDP (die het D-dimeerdomein bevatten) werden aangetoond bij patiënten met een combinatie van immunoprecipitatie en gelelektroforetetechnieken^{1-3,5,6}. Met monoklonale antistoffen kan specifiek het D-dimeerdomein worden opgespoord⁷. D-dimeertests op basis van monoklonale antistoffen hebben een diagnostische waarde bij diffuse intravasale stolling (DIC) en acute vaatziekten zoals longembolie (LE) en diepe veneuze trombose (DVT), aandoeningen die moeilijk op betrouwbare wijze kunnen worden gediagnosticeerd met een klinisch onderzoek^{8,9}.

De hoeveelheid XL-FDP in een specimen hangt in vivo af van meerdere onderling samenhangende factoren zoals de ernst van de trombose, de mate van vorming van gecrosslinkte fibrine en de tijd die is verlopen tussen het trombotische evenement en de bloedname.

Verhoogde XL-FDP-concentraties als aanwijzing voor reactieve fibrinolyse werden waargenomen bij chirurgie, trauma, sikkcelziekte, leverziekte, ernstige infectie, sepsis, ontsteking en kanker^{10,11}. De D-dimeerspiegels stijgen ook tijdens een normale zwangerschap, maar zeer hoge concentraties zijn geassocieerd met verwikkelingen¹².

DIMERTEST® Latex reageert niet met fibrinogeen, met factor XIIIa gecrosslinkt fibrinogeen¹³ en fibrinogeen afbraakproducten⁸.

SPECIFIEKE KENMERKEN

Plasma van honderdzeventig (170) ogenschijnlijk gezonde vrijwillige bloeddonoren werd getest met DIMERTEST® Latex. Honderdtweeënzestig (162) monsters gaven een negatief resultaat. De specificiteit bedraagt dus 95,3% (162/170).

Honderdvijfveertig (145) plasman monsters van patiënten die (met een hoge waarschijnlijkheid) leden aan een trombose, werden getest met DIMERTEST® Latex en een andere agglutinatierferentiemethode. De correlatiecoëfficiënt bedroeg r = 0,94 en de regressievergelijking was y = 1,19x.

De reproduceerbaarheid binnen een zelfde test werd bepaald op 10 kopieën van 3 plasman monsters die verschillende XL-FDP-concentraties bevatten. De resultaten waren equivalent voor alle kopieën.

De reproduceerbaarheid tussen verschillende tests werd bepaald op 10 plasman monsters met XL-FDP-titers van 1 tot 16. Bij 10 tests varieerden de kopieën van die specimen met niet meer dan een titer.

In een anticoagulansstudie van 50 parallelle plasman monsters (citraat, EDTA en heparine) bedroeg de correlatie tussen de titers verkregen met de DIMERTEST® Latex en de verwachte titers (gebaseerd op ELISA-XL-FDP-waarden) r = 0,91 voor de citraatmonsters, r = 0,73 voor de EDTA-monsters en r = 0,78 voor de heparinemonsters. Citraat is het beste anticoagulant.

In een studie van monsters van patiënten met reumatoïde artritis bleken er 17 te agglutineren met DIMERTEST® Latex. In alle 17 monsters kon de agglutinatie worden geïnhibeed door toevoeging van DD3B6/22, een specifieke monoklonale antistof tegen D-dimeren, maar niet door een specifieke monoklonale antistof van dezelfde subgroep IgG_{2k}. Dat suggereert dat DIMERTEST® Latex niet gevoelig is voor interferentie door reumafactor.

Er werd geen interferentie met DIMERTEST® Latex aangetoond met experimentele monsters die potentiële interfererende stoffen bevatten in de volgende concentraties:

Bilirubine 0,2 mg/ml Hemoglobine 5,0 mg/ml

Lipiden (triglyceriden) 30 mg/ml Eiwit (gammaglobuline) 0,06 g/ml



american diagnostica® DIMERTEST® Latex

OBJETIVO DE USO

La prueba DIMERTEST® Látex ha sido concebida para una rápida evaluación cualitativa o semicuantitativa de los derivados circulantes de los productos de degradación de la fibrina con enlaces cruzados (XL-FDP) en plasma humano.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

Durante la coagulación sanguínea, el fibrinógeno se convierte en fibrina mediante la activación de la trombina. Los monómeros de fibrina resultantes se polimerizan para formar un gel soluble de fibrina con enlaces no cruzados. Dicho gel de fibrina es luego convertido en fibrina con enlaces cruzados mediante el Factor XIII, activado por la trombina, para formar un coágulo de fibrina insoluble. La producción de plasmina, principal enzima trombolítica, se desencadena cuando se forma un coágulo de fibrina.

Tanto el fibrinógeno como la fibrina son desdoblados por la enzima fibrinolítica plasmina, generando productos de degradación, pero sólo los productos de degradación provenientes de la fibrina con enlaces cruzados contienen dímeros D¹⁻³. Por consiguiente, los productos de degradación de la fibrina con enlaces cruzados (XL-FDP) son marcadores específicos de fibrinolisis.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

DIMERTEST® Latex es una prueba rápida de aglutinación que utiliza partículas de látex combinadas con un anticuerpo monoclonal altamente específico de dímeros D. Los XL-FDP presentes en una muestra de plasma se unen a las partículas revestidas de anticuerpo, lo que da como resultado una aglutinación visible que se produce cuando la concentración de dímeros D se sitúa por encima del umbral de detección de la prueba.

REACTIVOS

Composición

- Reactivo DIMERTEST® Látex: suspensión al 0,83% de partículas de látex revestidas con anticuerpo monoclonal murino de dímeros D, 10mg/ml de BSA y 0,1% de azida de sodio.
- Control Positivo DIMERTEST®: solución que contiene un fragmento purificado de dímeros D humanos, 5mg/ml de BSA y 0,1% de azida de sodio.
- Control Negativo DIMERTEST®: solución tampón (buffer) que contiene 5mg/ml de BSA y 0,1% de azida de sodio.
- Sustancia Tampón (Buffer) DIMERTEST®: solución tampón (buffer) de 10mM de fosfato conteniendo 0,1% de azida de sodio.

Advertencias y Precauciones

- Exclusivamente para el diagnóstico in vitro.
- Nocivo por ingestión (R22). Evítese el contacto con los ojos y la piel (S24/25). No tirar los residuos por el desagüe (S29). Úsese instrumentaria protectora adecuada (S36).
- ATENCIÓN: Todos los reactivos del DIMERTEST® Látex contienen azida de sodio (0,1%) como conservante. No los ingiera ni permita el contacto con la piel o las mucosas. La azida de sodio puede formar azidas explosivas en las cañerías metálicas. Use procedimientos de desecho apropiados.
- ATENCIÓN: El Control Positivo del DIMERTEST® Látex contiene componentes de origen humano. Cada donación individual de sangre destinada a la producción de este reactivo es sometida a análisis para detección del antígeno de la Hepatitis Bs, de anticuerpos anti-HCV, anti-HIV1 y anti-HIV2. Sólo las donaciones con resultados negativos son utilizadas. Como nunca se puede afirmar la ausencia completa de agentes infecciosos, todo material derivado de sangre humana debe ser tratado como potencialmente infeccioso y manipularse con el debido cuidado siguiendo las recomendaciones de precaución necesaria para materiales contaminantes.

Conservación y estabilidad

Conservación : Conservar entre 2°C y 8°C. NO CONGELE ESTE PRODUCTO.

Estabilidad: Verifique la fecha de caducidad en la etiquetas del embalaje externo y el frasco.

Indicación del deterioro del reactivo

La deterioración del reactivo se manifiesta por la incapacidad del Reactivo al Látex para aglutinarse con el Control Positivo, o por la aglutinación con el Control Negativo, o por la evidencia de contaminación microbiana.

OBTENCION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Se recomienda utilizar plasma proveniente de sangre entera anticoagulada con citrato de sodio. La utilización de EDTA y heparina dará como resultado un aumento de falsas reacciones positivas. Luego de la separación del plasma mediante centrifugación (1500 g durante 15 minutos a 4°C - 10°C), las muestras pueden ser analizadas directamente para detectar la presencia de XL-FDP. No se aconseja la defibrinación del plasma. Conservación/estabilidad del plasma : - 20°C: 2 semanas
Descongelar rápidamente las muestras a 37°C y centrifugar antes del análisis. Consulte la publicación NCCLS H21-A3 para mayor información acerca de la obtención, manipulación y conservación de las muestras⁴.

PROCEDIMIENTO

Materiales Suministrados

REF DLHK7 - DIMERTEST® Látex, Kit

Reactivo al Látex 1 x 2,0ml: Tapón blanco **Control Negativo** 1 x 0,6ml: Tapón negro

Control Positivo 1 x 0,6ml: Tapón amarillo **Buffer** 1 x 20,0ml

Placas de prueba x 10: con 8 pocillos, para la reacción de aglutinación

Agitadores x 60: para mezclar

Instrucciones de Uso

REF DLHR9 - DIMERTEST® Látex, Frasco

Reactivo al Látex 1 x 2,0ml: Tapón blanco

Instrucciones de Uso

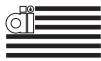
Pipetas de precisión y puntas - 20 µl y 100 µl

Tubos de ensayo de plástico y porta-tubos

Guantes desechables

Cronómetro o minutero

Gasa (para limpiar la punta del cuentagotas)



american diagnostica® DIMERTEST® Latex

ANWENDUNGSGEBIETE

Das DIMERTEST® Latex-Assay wurde zum schnellen qualitativen oder semiquantitativen Nachweis der zirkulierenden Derivate von kreuzvernetzten Fibrinsspaltprodukten (XL-FDP) in menschlichem Plasma entwickelt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Bei der Blutgerinnung wird Fibrinogen durch die Aktivierung von Thrombin zu Fibrin umgewandelt. Die dabei entstehenden Fibrinmonomere bilden durch Polymerisation ein lösliches Gel von nicht kreuzvernetztem Fibrin. Dieses Fibringel wird anschließend durch den durch Thrombin aktivierten Faktor XIII kreuzvernetzt und bildet ein unlösliches Fibringerinnsel. Durch die Bildung eines Fibringerinnsels wird die Bildung des wichtigsten fibrinolytischen Enzyms Plasmin ausgelöst.

Obwohl sowohl Fibrinogen als auch Fibrin durch das fibrinolytische Enzym Plasmin zu den entsprechenden Abbauprodukten gespalten werden, enthalten allein die Abbauprodukte von kreuzvernetztem Fibrin das D-Dimer¹⁻³. Kreuzvernetzte Fibrinsspaltprodukte (cross-linked fibrin degradation products; XL-FDP) sind somit spezifische Marker für die Fibrinolyse.

TESTPRINZIP

DIMEREST® Latex ist ein schnelles Agglutinationsassay, das mit Latexperlen arbeitet, die mit einem hochspezifischen monoklonalen Antikörper gegen D-Dimer beschichtet sind. Die im Plasma vorhandenen XL-FDP werden an die beschichteten Latexperlen gebunden, und wenn die Konzentration des D-Dimer über der Nachweischwelle für das Assay liegt, entsteht eine sichtbare Verklumpung.

REAGENZIEN

Zusammensetzung

- DIMEREST® Latex Reagens: 0,83 %ige Suspension von mit murinen monoklonalen Antikörpern gegen D-Dimer beschichteten Latexpartikel, 10 mg/ml BSA und 0,1 % Natriumazid.
- DIMEREST® positives Kontrollserum: Lösung mit gereinigtem menschlichem D-Dimer-Fragment, 5 mg/ml BSA und 0,1 % Natriumazid.
- DIMEREST® negatives Kontrollserum: Pufferlösung mit 5 mg/ml BSA und 0,1 % Natriumazid.
- DIMEREST® Puffer: eine 10-mM Phosphatpufferlösung mit 0,1 % Natriumazid.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur zur diagnostischen Verwendung in vitro.
- Gesundheitsschädlich beim Verschlucken (R22). Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden (S24/25). Nicht in die Kanalisaton gelangen lassen (S29). Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen (S36).
- ACHTUNG: Alle Reagenzien von DIMEREST® Latex enthalten Natriumazid (0,1 %) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken und nicht mit Haut oder Schleimhäuten in Kontakt bringen. Natriumazid kann in Abwasserrohren aus Metall explosive Azide bilden. Sorgen Sie für eine sachgemäße Entsorgung entsprechend den geltenden Richtlinien.
- ACHTUNG: Das positive Kontrollserum von DIMEREST® Latex enthält Bestandteile menschlicher Herkunft. Jede einzelne zur Produktion dieses Reagens bestimmte Blutkonserve wird auf das Vorhandensein von HBsAg und Antikörpern gegen HCV, HIV1 und HIV2 kontrolliert. Es werden nur Blutkonserven mit durchweg negativen Testresultaten verwendet. Trotz aller Vorsichtsmaßnahmen ist jedoch eine absolute Sicherheit vor möglichen Krankheitserregern niemals gegeben. Aus diesem Grund sind die Reagenzien als potentiell infektiös zu betrachten und unter Beachtung der geltenden Richtlinien für den Umgang mit biologischem Gefahrengut zu verwenden.

Lagerung und Haltbarkeit

Lagerung: Bei einer Temperatur von 2° C bis 8° C lagern. NICHT EINFRIEREN.
Haltbarkeit: Das Verfallsdatum ist auf der äußeren Verpackung und auf den Etiketten der Fläschchen aufgedruckt.

Hinweis zur Erkennung einer Aktivitätsminderung der Reagenzien

Ein Ausbleiben der Agglutination bei Untersuchung des positiven Kontrollserums mit dem Latexreagens oder eine Agglutination bei Untersuchung des negativen Kontrollserums sind ebenso wie eine mikrobielle Kontamination Zeichen für einen Aktivitätsverlust der Reagenzien des Kits.

GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Wir empfehlen die Verwendung von Plasma, das aus mit Zitrat als Antikoagulans versetztem Vollblut gewonnen wurde. Die Verwendung von EDTA und Heparin führt zu einem höheren Anteil von falsch positiven Reaktionen. Nach Abtrennung des Plasmas durch Zentrifugation (1500 g für 15 Minuten bei 4° C - 10° C) können die Proben unmittelbar auf das Vorhandensein von XL-FDP getestet werden. Ein Defibrinieren des Plasmas ist nicht zu empfehlen.

Lagerung und Haltbarkeit des Plasmas: 2 Wochen bei -20° C
Tauen Sie gefrorene Proben rasch bei 37° C auf, und zentrifugieren Sie sie vor Durchführung des Tests. In der Veröffentlichung H21-A3 der NCCLS finden Sie weitere Hinweise in bezug auf die Entnahme, Verarbeitung und die Lagerung von Proben⁴.

VERFAHREN

Mitgelieferte Materialien

REF DLHK7 - DIMEREST® Latex, Kit

Latexreagens	1 x 2,0 ml: Weißer Verschluss
Negatives Kontrollserum	1 x 0,6 ml: Schwarzer Verschluss
Positives Kontrollserum	1 x 0,6 ml: Gelber Verschluss
Puffer	1 x 20,0 ml
Testkärtchen	x 10: 8 Vertiefungen, für die Agglutinationsreaktion
Rührstäbchen	x 60: zum Mischen
Gebrauchsanweisung	

REF DLHR9 - DIMEREST® Latex, Fläschchen

Latexreagens 1 x 2,0 ml: Weißer Verschluss

Gebrauchsanweisung

Benötigte und nicht mitgelieferte Materialien

- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen - 20 µl und 100 µl
- Reagenzröhrchen aus Kunststoff und Halter
- Stoppuhr oder Zeitschaltuhr
- Einweghandschuhe
- Reinigungstücher (zum Abwischen der Spitzen der Tropfflaschen)

Wichtig!

- Bringen Sie die Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (zwischen 20° C und 25° C).
- Mischen Sie das Latexreagens unmittelbar vor der Verwendung durch Kippen des Behälters.
- Wischen Sie die Spitzen der Tropfflaschen vor jeder Verwendung mit einem Tuch trocken.
- Halten Sie die Tropfflaschen bei der Abgabe der Reagenzien vertikal.



Qualitatives Verfahren

- Markieren Sie oder notieren Sie sich die Positionen der Proben und der positiven und negativen Kontrollen, falls zutreffend.
- Halten Sie die Tropfflasche mit dem Latexreagens vertikal, und plazieren Sie einen Tropfen des Reagens in der gewünschten Vertiefung auf dem Testkärtchen.
- Pipettieren Sie genau 20 µl unverdünntes Plasma bzw. einen Tropfen Kontrollserum in derselben Vertiefung neben den Tropfen Latexreagens.
- Mischen Sie das Latexreagens und die Probe mit einem Rührstäbchen, bis sich das Latex gleichmäßig verteilt hat.
- Bewegen Sie das Testkärtchen vorsichtig für 3 min. hin und her.
- Prüfen Sie nach genau 3 min. unter einer starken Lichtquelle, ob eine Agglutination sichtbar ist. Achtung: Wenn Sie den Test später als nach 3 min. ablesen, könnte die Latexsuspension austrocknen und **irrtümlich ein Agglutinationsmuster zeigen. Wenn Sie einen entsprechenden Verdacht haben, müssen Sie die Probe noch einmal testen.**
- Entsorgen Sie das Testkärtchen und das Rührstäbchen über einen Behälter für biologisch kontaminiertes Material. Nicht wiederverwenden.

Semiquantitatives Verfahren

- Stellen Sie auf die folgende Weise eine Verdünnungsreihe des Testplasmas mit Puffer her:
Verdünnung 1:2 - 100 µl Plasma plus 100 µl Pufferlösung
Verdünnung 1:4 - 100 µl Verdünnung 1:2 plus 100 µl Pufferlösung
Verdünnung 1:8 - 100 µl Verdünnung 1:4 plus 100 µl Pufferlösung
- Testen Sie jede Verdünnung wie unter „Qualitatives Verfahren“ beschrieben.

Qualitätskontrolle

Bei jeder Testcharge sollten sowohl positive als auch negative Kontrollen mitgeführt werden, um die korrekte Funktion des Tests sicherzustellen. Die Kontrollseren werden in der gleich Weise wie die Patientenproben getestet. Im Falle des qualitativen Screeningverfahrens wird für ein positives Testresultat (Agglutination) das Plasma in Schritt 3-6 durch das DIMEREST® positive Kontrollserum ersetzt. Für ein negatives Testresultat (keine Agglutination) wird dementsprechend das Plasma in Schritt 3-6 durch das DIMEREST® negative Kontrollserum ersetzt. Bei Anwendung des semiquantitativen Verfahrens sollten Verdünnungsreihen des positiven Kontrollserums getestet werden. Das DIMEREST® Latex positive Kontrollserum besteht aus einer Lösung aus menschlichem D-Dimer in einer Konzentration von ca. 0,80 mg/l (800ng/ml).

RESULTATE

A. Qualitatives Assay

Im Falle des qualitativen Assayprotokolls sollten die Testresultate wie folgt ausfallen:

Unverdünntes Plasma D-Dimer (XL-FDP) Konzentration

Negativ	Geringer als 0,20 mg/l (200ng/ml)
Positiv	Größer als 0,20 mg/L (200ng/ml)

Achtung: Alle Werte in mg/l (ng/ml) sind Näherungswerte.

B. Semiquantitatives Assay

Die ungefähren Konzentrationen von XL-FDP mit der D-Dimer-Domäne in den jeweiligen Verdünnungen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Wie bei allen semiquantitativen Tests sind Schwankungen bezüglich Konzentration und Testresultat möglich.

Tabelle 1

Ungefährer Konzentrationsbereich D-Dimer (XL- FDP) mg/l (ng/ml)	Probenverdünnung			
	Unverdünnt	1:2	1:4	1:8
<0,20 (<200)	-	-	-	-
0,20 - 0,40 (200 - 400)	+	-	-	-
0,40 - 0,80 (400 - 800)	+	+	-	-
0,80 - 1,60 (800 - 1600)	+	+	+	-
1,60 - 3,20* (1600 - 3200*)	+	+	+	+

*+ = Agglutination, "- = keine Agglutination

* Konzentrationen von XL-FDP über 3,20 mg/l (3200 ng/ml) lassen sich durch weitere Verdünnungsreihen jenseits von 1:8 ermitteln.

EINSCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS

Eine klinische Diagnose sollte nicht allein aufgrund der Testresultate des DIMEREST® Latex Assays gestellt werden. Bei der Diagnosestellung sollten klinische Zeichen und weitere relevante Resultate von Labortests berücksichtigt werden.

ERWARTETE WERTE

Ein positives Testresultat und damit ein Hinweis auf eine aktive Fibrinolyse sollte sich bei dem DIMEREST® Latex Test dann einstellen, wenn der Spiegel von XL-FDP (D-Dimer) im Bereich des Schwellenwerts von ca. 0,20 mg/l (200 ng/ml) oder darüber liegt. Plasmaproben von gesunden Personen führen erwartungsgemäß zu negativen Resultaten, da die XL-FDP-Konzentrationen in ihrem Plasma unterhalb von 0,20 mg/ml (200 ng/ml) liegt. Da die Resultate jedoch durch eine Vielzahl von Variablen beeinflusst werden können, sollte jedes Labor seinen eigenen Normalbereich definieren.

Erhöhte Konzentrationen von XL-FDP (mit der D-Dimer-Domäne) wurden bei bestimmten Patienten durch eine Kombination von Immunpräzipitation und Gelelektrophorese nachgewiesen^{1-3,5,6}. Monoklonale Antikörper ermöglichen den spezifischen Nachweis der D-Dimer-Domäne⁷. D-Dimer-Assays auf der Basis von monoklonalen Antikörpern sind von besonders hohem diagnostischen Wert bei disseminierter intravaskulärer Gerinnung (DIC) sowie bei akuten Gefäßerkrankungen wie Lungenembolie (LE) und tiefer Venenthrombose (TVT). Diese Krankheitsbilder lassen sich durch eine klinische Untersuchung allein nur schwer diagnostizieren^{8,9}.

Die in einer Probe nachgewiesene Konzentration von XL-FDP hängt in vivo von verschiedenen voneinander abhängenden Faktoren ab, wie z. B. von der Schwere der thrombotischen Erkrankung, der Geschwindigkeit der Bildung von kreuzvernetztem Fibrin und von dem Zeitraum zwischen dem thrombotischen Ereignis und der Blutentnahme.

Ein erhöhter XL-FDP-Spiegel als Hinweis auf eine reaktive Fibrinolyse wurde darüber hinaus auch nach chirurgischen Eingriffen, Verletzungen und bei Sichelzellanämie, Lebererkrankungen, schweren Infektionen, Sepsis sowie bei entzündlichen und bösartigen Erkrankungen beobachtet^{10,11}. Die Konzentration von D-Dimer steigt auch während einer normalen Schwangerschaft; stark erhöhte Werte finden sich jedoch eher bei Komplikationen¹².

DIMEREST® Latex führt nicht zu Kreuzreaktionen mit Fibrinogen, durch Faktor XIIIa kreuzvernetztes Fibrinogen¹³ oder Abbauprodukten von Fibrinogen⁸.

SPEZIFISCHE DIAGNOSTISCHE AUSSAGEKRAFT

Plasmaproben von einhundertsechzig (170) als gesund eingestuftes freiwilligen Blutspendern wurden mit DIMEREST® Latex getestet. Bei einhundertzweiundsechzig (162) Proben fiel das Resultat negativ aus. Dies entspricht einer Spezifität von 95,3 % (162/170).

Anschließend wurden einhundertfünfundvierzig (145) Plasmaproben von Patienten mit einer sicher oder wahrscheinlich vorliegenden akuten thrombotischen Erkrankung mit DIMEREST® Latex und zum Vergleich mit einem weiteren Agglutinationsverfahren untersucht. Der Korrelationskoeffizient betrug r = 0,94, und die Regressionsgleichung war y = 1,19x.

Die Reproduzierbarkeit innerhalb eines Durchlaufs wurde für 10 Wiederholungsproben von 3 verschiedenen Plasmaproben mit verschiedenen Konzentrationen von XL-FDP bestimmt. Die Resultate waren für alle Wiederholungen äquivalent.

Die Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Durchläufen wurde für 10 Plasmaproben mit XL-FDP-Titern zwischen 1 und 16 bestimmt. Bei 10 Durchläufen waren die Abweichungen zwischen den wiederholten Bestimmungen dieser Proben nicht höher als ein Titer.

In einer Untersuchung von verschiedenen Antikoagulantien an 50 parallel getesteten mit Citrat, EDTA oder Heparin versetzten Plasmaproben betrug die Korrelation zwischen den mit DIMEREST® Latex ermittelten und den erwarteten Titern (basierend auf den ELISA XL-FDP-Werten) r = 0,91 für die mit Citrat versetzten Proben, r = 0,73 für die mit EDTA versetzten Proben und r = 0,78 für die mit Heparin versetzten Proben. Citrat ist somit das Antikoagulans der Wahl.

Bei der Untersuchung von Proben von Patienten mit rheumatoider Arthritis fand sich bei 17 Proben eine Agglutination mit DIMEREST® Latex. In allen 17 Proben ließ sich die Agglutination durch Hinzufügen eines für D-Dimer spezifischen monoklonalen Antikörpers (DD3B6/22), jedoch nicht durch einen nicht spezifischen monoklonalen Antikörper derselben Untergruppe (IgG_{2a}) hemmen. Man kann daher annehmen, daß DIMEREST® Latex unempfindlich gegen eine Störung durch Rheumafaktor ist.

Proben mit potentiell störenden Substanzen in den folgenden Konzentrationen hatten bei der Untersuchung mit dem DIMEREST® Latex Test keinen Einfluß auf das Ergebnis des Assay:

Bilirubin	0,2 mg/mL	Hämoglobin	5,0 mg/mL
Lipide (Triglyzeride)	30 mg/mL	Protein (Gammaglobulin)	0,06 g/mL

BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIE / BIBLIOGRAFIA / LITERATUR

- Gaffney, P.J. Distinction between Fibrinogen and Fibrin Degradation Products in Plasma. Clin. Chim. Acta. 65 (1): 109-115; 1975.
- Lane, D.A. et al. Characterisation of Serum Fibrinogen and Fibrin Fragments Produced During Disseminated Intravascular Coagulation. Br. J. Haematol. 40 (4): 609-615; 1978.
- Whitaker, A.N. et al. Identification of D-dimer-E complex in Disseminated Intravascular Coagulation. Thromb. Res. 18 (3-4): 453-459; 1980.
- NCCLS Publication H21-A3 - Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays; Approved Guideline Third Edition; 1998.
- Graeff, H. et al. Detection and Relevance of Crosslinked Fibrin Derivatives in Blood. Semin. Thromb. Hemost. 8 (1): 57-68; 1982.
- Yoshioka, K. et al. Distinction between Fibrinogen and Fibrin Products Produced during Disseminated Intravascular Coagulation in Childhood. Eur. J. Pediatr. 138 (1): 46-48; 1982.
- Rylatt, D.B. et al. An Immunoassay for Human D-dimer using Monoclonal Antibodies. Thromb. Res. 31 (6): 767-778; 1983.
- Elms, M.J. et al. Rapid Detection of Cross-Linked Fibrin Degradation Products in Plasma using Monoclonal Antibody-Coated Latex Particles. Am. J. Clin. Pathol. 85 (3): 360-364; 1986.
- Whitaker, A.N. et al. Measurement of Cross-Linked Fibrin Derivatives in Plasma: an Immunoassay using Monoclonal Antibodies. J. Clin. Pathol. 37 (8): 882-887; 1984.
- Hunt, F.A. et al. Serum Crosslinked Fibrin (XDP) and Fibrinogen/Fibrin Degradation Products (FDP) in Disorders Associated with Activation of the Coagulation or Fibrinolytic Systems. Br. J. Haematol. 60 (4): 715-722; 1985.
- Smith, R.T. et al. Fibrin Degradation Products in the Postoperative Period. Evaluation of a New Latex Agglutination Method. Am. J. Clin. Pathol. 60 (5): 644-647; 1973.
- Nolan, T.E. et al. Maternal Plasma D-dimer Levels in Normal and Complicated Pregnancies. Obstet. Gynecol. 81 (2): 235-238, 1993.
- Greenberg, C.S. et al. Measurement of Plasma Fibrin D-dimer Levels with the Use of Monoclonal Antibody Coupled to Latex Beads. Am. J. Clin. Pathol. 87 (1): 94-100; 1987.

DIMEREST®, flag logo and american diagnostica® are registered trademarks of American Diagnostica Inc.

DIMEREST®, le nom de la société, american diagnostica®, et son logo, sont des marques déposées d'American Diagnostica Inc.

DIMEREST®, Flag logo e American Diagnostica® sono marchi registrati della Società American Diagnostica Inc.

DIMEREST®, vlag, logo en "american diagnostica" zijn geregistreerde trademarks van American Diagnostica Inc.

DIMEREST®, el logo tipo y el nombre american diagnostica® son marcas registrada de American Diagnostica Inc.

DIMEREST®, der Firmenname American Diagnostica® und sein Logo sind eingetragene Warenzeichen von American Diagnostica Inc.

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

Product / Produit / Prodotto / **REF DLHK7** DIMEREST Latex, Kit
Product / Producto / Produkt: 60 test kit / Trousse de 60 tests / kit da 60 test / Kit voor 60 tests / 60 dispositivos para prueba / Kit mit 60 Tests

REF DLHR9 DIMEREST Latex, Vial
Single vial latex reagent / Réactif au latex à usage unique / Fiala unica di reattivo Latex / Een flesje met latexreagens / Frasco simple con reactivo al látex / Latexreagens in einem Fläschchen

American Diagnostica Inc.
500 West Avenue
Stamford, CT 06902 USA
Tel: + 203.602.7777
Fax: + 203.602.2221
Email: adisupport@amdiag.com
Web: www.americandiagnostica.com

american diagnostica GmbH
Kaplaneigasse 35, D-64319 Pfungstadt, Germany



Symbols Key / Légendes des symboles / Chiave dei simboli / Symbolen / Símbolos claves / Schlüsselwörter

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

2°C - 8°C Store at 2°C to 8°C / Conserver à une température de 2°C à 8°C / Conservare tra 2°C e 8°C / Bewaren bij 2°C tot 8°C / Conservar 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 / Catalogus nummer / Número de Catálogo / Katalog-Nr

CE Mark / Marque CE / Marchio CE / CE-merk / Marcaje CE / CE-Siegel

European Authorised Representative / Représentant européen autorisé / Rappresentante autorizzato per l'Europa / Europees gevolmachtigd vertegenwoordiger / Representante Europeo Autorizado / Autorisierte Vertretung für Europa

Buffer / Tampon / Tampone / Buffer / Tampón / Puffer

Latex Reagent / Réactif au latex / Reattivo Latex / Latexreagens/ Reactivo al Látex / Latexreagens

Positive Control / Témoin positif / Controllo positivo / Positieve controle / Control positivo / Positives Kontrollserum

Negative Control / Témoin négatif / Controllo negativo / Negatieve controle / Control negativo / Negatives Kontrollserum