

D-Dimer Latex



Latexagglutinationstest zur Bestimmung zirkulierender Derivate vernetzter Fibrin-Abbauprodukte (XL-FDP) in humanem Plasma



GA Generic Assays GmbH
Ludwig-Erhard-Ring 3
15827 Blankenfelde-Mahlow OT Dahlewitz
Deutschland

Telefon: +49 33708 9286 0
Fax: +49 33708 4417 25

info@genericassays.com
www.genericassays.com



1 Zweckbestimmung

Der D-Dimer Latex ist ein qualitativer und semi-quantitativer Immunoassay zur Bestimmung von zirkulierenden Derivaten vernetzter Fibrin-Abbauprodukte (XL-FDP) in humanem Plasma. Der D-Dimer Latex dient zur Unterstützung bei der Diagnose von embolischen und thrombotischen Ereignissen in Verbindung mit anderen klinischen und laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen.

Der Immunoassay ist für den manuellen professionellen *in-vitro* diagnostischen Gebrauch bestimmt.

2 Diagnostische Bedeutung

Während der Blutgerinnung wird Fibrinogen durch die Aktivierung von Thrombin in Fibrin umgewandelt. Die entstehenden Fibrin-Monomere polymerisieren zu einem flüssigen Gel aus nicht-vernetztem Fibrin. Dieses Fibrin-Gel wird anschließend durch von Thrombin aktiviertem Faktor XIII in vernetztes Fibrin umgewandelt und bildet einen unlöslichen Fibrin-Pfropf. Die Produktion von Plasmin, dem wichtigsten fibrinolytischen Enzym, wird durch die Bildung eines Fibrin-Pfropfes ausgelöst.

Fibrinogen und Fibrin werden beide durch das fibrinolytische Enzym Plasmin gespalten; nur bei der Spaltung von vernetztem Fibrin entstehen D-Dimere als eines der Abbauprodukte. Daher sind vernetzte Fibrin-Abbauprodukte (XL-FDP) ein spezifischer Marker für eine Fibrinolyse.

3 Testprinzip

Der Agglutinationstest ist ein immunologisches Verfahren zur Bestimmung spezifischer Antigene. Latexpartikel sind mit antigen-spezifischen Antikörpern beschichtet. Sind spezifische Antigene in der Patientenprobe vorhanden, binden sie an die Antikörper und führen zur sichtbaren Agglutination der Latexpartikel.

4 Testkomponenten

Komponente	Beschreibung
50 (100) Bestimmungen	
Latexreagenz A LATEX 1 x 1,0 (2,0) mL	Latexpartikel beschichtet mit monoklonalen Antikörper gegen D-Dimer (gebrauchsfertig, enthält Natriumazid)
Negativkontrolle N CONTROL - 1 x 0,5 (1,0) mL	Lösung mit humanem Plasma (gebrauchsfertig; enthält Natriumazid)
Positivkontrolle P CONTROL + 1 x 0,5 (1,0) mL	Lösung mit humanem Plasma (gebrauchsfertig; enthält Natriumazid)
Probenverdünner B BUF 1 (2) x 10 mL	Lösung (gebrauchsfertig; enthält Natriumazid)
Agglutinationsplatte 1 Stück	-
Einmalrührstäbchen 50 (100) Stück	-
Gebrauchsanweisung 1 Stück	-

5 Zusätzlich benötigtes Material

- Übliche Laborausrüstung
- Präzisionspipeten (5 – 1000 µL) und Einwegpipettenspitzen
- Probenröhrchen zur Herstellung von Verdünnungen und Probenrack
- Starke Lichtquelle
- Optional: Schüttler
- Stoppuhr

6 Lagerung und Haltbarkeit

Nach Erhalt müssen alle Testkomponenten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden, vorzugsweise in der Originalverpackung des Kits. Bei sachgemäßer Lagerung in den Originalbehältern sind alle Komponenten bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach Anbruch und sachgemäßer Lagerung bei 2 °C bis 8 °C sind alle Komponenten mindestens 3 Monate haltbar.

7 Allgemeine Hinweise

Dieses Produkt ist nur für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt. Die Gebrauchsanweisung ist vor Anwendung sorgfältig zu lesen. Sie gilt nur für das vorliegende Produkt mit der angegebenen Zusammensetzung. Die Gebrauchsanweisung muss strikt befolgt werden, um zuverlässige Testergebnisse zu gewährleisten. Abweichungen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Komponenten dürfen nicht durch Testreagenzien anderer Chargen oder anderer Hersteller ausgetauscht werden.

Kontaminationen der Reagenzien müssen durch Anwendung aseptischer Techniken bei der Entnahme von Aliquots aus den Fläschchen vermieden werden. Nach Gebrauch müssen die Reagenzienfläschchen wieder fest mit den zugehörigen Deckeln verschlossen werden.

Kreuzkontaminationen von Proben oder Reagenzien können zu widersprüchlichen Testergebnissen führen und müssen durch Anwendung konsistenter Pipettier-techniken vermieden werden.

8 Vorbereitung

8.1 Vorbereitung von Reagenzien

Alle Komponenten müssen vor Gebrauch für mindestens 30 min auf Raumtemperatur (RT: 18 °C bis 25 °C) gebracht werden. Flüssige Reagenzien und Suspensionen müssen zur Homogenisierung gut durchmischt werden.

8.1.1 Latexreagenz

Das Latexreagenz ist gebrauchsfertig. Es muss zur Homogenisierung geschüttelt und gut durchmischt werden. Nicht vortexen! Bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C kann es zu einer leichten Sedimentation kommen. Das Latexreagenz darf nicht eingefroren werden. Es darf nicht verwendet werden, wenn Trübungen auftreten, da dies auf eine Degradierung oder Kontamination hinweisen kann.

8.1.2 Kontrollen

Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden. Kontrollen müssen in jedem Testansatz mitgeführt werden. Alternativ können Laboratorien auch eigene Kontrollen validieren und verwenden.

8.1.3 Probenverdünner

Der Probenverdünner ist gebrauchsfertig.

8.1.4 Agglutinationsplatte

Die Agglutinationsplatte nach jedem Gebrauch gut mit Wasser abspülen und mit einem fusselfreien Tuch trocknen.

8.2 Vorbereitung der Proben

8.2.1 Probenmaterial

Die Verwendung frischer Citratplasma-proben aus venös entnommenem Blut wird empfohlen. Der Einsatz von EDTA oder Heparin Plasma erhöht die Anzahl falsch positiver Ergebnisse.

Nach Gewinnung von Plasma durch Zentrifugieren (1500 g für 15 Minuten bei 4 °C bis 10 °C), können die Proben direkt auf das Vorhandensein von XL-FDP getestet werden. Defibrinieren der Plasma-proben wird nicht empfohlen.

Ikterische, lipämische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben sollten nicht verwendet werden. Unlösliche Bestandteile sollten durch Zentrifugation aus der Probe entfernt werden. Die Proben dürfen nicht thermisch inaktiviert werden.

8.2.2 Probenverdünnung

Zur qualitativen Auswertung werden Proben unverdünnt eingesetzt. Für die semi-quantitative Auswertung werden die Proben 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 usw. in Probenverdünner verdünnt:

1:2 Verdünnung: 100 µL Probe + 100 µL Probenverdünner,

1:4 Verdünnung: 100 µL 1:2 Verdünnung + 100 µL Verdünner,

1:8 Verdünnung: 100 µL 1:4 Verdünnung + 100 µL Verdünner, etc.

8.2.3 Probenlagerung

Eine längere Lagerung der Proben bis zu zwei Wochen erfordert -20 °C. Mehrmaliges Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden. Zur Mehrfachverwendung sollten die Proben aliquotiert und bei -20 °C aufbewahrt werden. Eingefrorene Proben rasch bei 37 °C auftauen und vor der Untersuchung zentrifugieren.

9 Durchführung

9.1 Ablaufschema

Die angegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen müssen eingehalten und starke Zeitverschiebungen beim Pipettieren von Proben und Reagenzien vermieden werden.

Schritt	Beschreibung
1. Zugabe des Latexreagenz	Zugabe von je 20 µL der gebrauchsfertigen Latexreagenz in die Felder der Agglutinationsplatte
2. Zugabe der Kontrollen und Proben	Zugabe von 20 µL der gebrauchsfertigen Kontrollen und 20 µL der (un-) verdünnten Proben direkt neben das Latexreagenz
3. Mischen	Latexreagenz und Probe mit individuellen Rührstäbchen pro Feld großflächig vermischen.
4. Inkubation	Agglutinationsplatte vorsichtig mit der Hand in kreisenden Bewegungen für 3 min schwenken (alternativ: auf einem Schüttler bei 80 – 100 rpm)
5. Analyse	Sofortige Analyse unter starker Lichtquelle

10 Auswertung

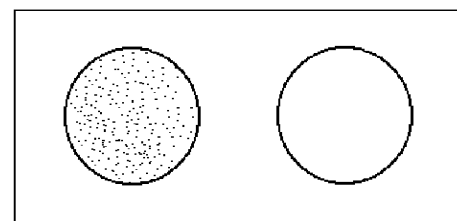
10.1 Metrologische Rückverfolgbarkeit

Der Immunoassay wurde internen Referenzproben kalibriert. Ergebnisse werden qualitativ oder semi-quantitativ als Titerstufen angegeben.

10.2 Auswertung

Eine Probe wird negativ bewertet, wenn die Suspension gleichförmig milchig bleibt und keine Agglutination eintritt.

Eine Probe wird positiv bewertet, wenn eine sichtbare Agglutination eintritt. Eine schwach reaktive Probe erzeugt eine sehr feine Körnung oder eine nur teilweise Verklumpung besonders im Randbereich. Zur genauen Auswertung sollte die Reaktion mit der Negativkontrolle verglichen werden.



Positive

Negative

10.3 Validitätskriterien

Ein Testlauf ist valide, wenn die nachfolgenden Validitätskriterien erfüllt sind:

- Die Negativkontrolle muss negativ bewertet sein.
- Die Positivkontrolle muss positiv bewertet sein.

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf nicht valide und muss wiederholt werden.

10.4 Problembehandlung

Im Falle eines invaliden Testlaufs sollten die Haltbarkeiten und Lagerungsbedingungen, die Inkubationszeiten und –temperaturen sowie die präzise Kalibrierung der Pipetten und aller anderen Geräte überprüft werden. Sollte sich kein Grund für den invaliden Testlauf finden, kontaktieren Sie bitte den Anbieter oder Hersteller des Produkts.

10.5 Referenzbereiche

Bei der qualitativen Durchführung erhält man folgende Ergebnisse: D-Dimer (XL-FDP)-Konzentration in unverdünntem Plasma:

Negativ: unter 0,20 mg/L (200ng/mL)

Positiv: über 0,20 mg/L (200ng/mL)

Hinweis: Alle Angaben in mg/L (ng/mL) sind Näherungswerte.

Der Titer einer Probe entspricht der höchsten Verdünnung, die noch eine sichtbare Agglutination zeigt. Näherungswerte der Konzentration von XL-FDP, das die D-Dimer-Domäne enthält, sind in Tabelle 1 für die einzelnen Probenverdünnungen angegeben. Wie bei allen semiquantitativen Tests ist mit einer gewissen Variabilität der Ergebnisse zu rechnen.

Ungefähre Konzentration an D-Dimer (XL-FDP) mg/L (ng/mL)	Probenverdünnung			
	unv.	1:2	1:4	1:8
< 0,2 (< 200)	-	-	-	-
0,2 – 0,4 (200 – 400)	+	-	-	-
0,4 – 0,8 (400 – 800)	+	+	-	-
0,8 – 1,6 (800 – 1600)	+	+	+	-
1,6 – 3,2* (1600 – 3200*)	+	+	+	+

“+” = Agglutination, “-” = Keine Agglutination

* Konzentrationen von XL-FDP über 3,2 mg/L (3200 ng/mL) können durch weitere Verdünnungen bestimmt werden.

Aufgrund der unterschiedlichen Prävalenzen in einzelnen Regionen sollte jedes Labor den Grenzwertbereich durch eigene Analysen verifizieren und ggf. anpassen.

10.6 Interpretation der Ergebnisse

Ein positives Ergebnis bestätigt die Anwesenheit spezifischer Antigene. Ein negatives Ergebnis bestätigt die Abwesenheit spezifischer Antigene.

Ein positives Ergebnis, das auf aktive Fibrinolyse hinweist, sollte sich im D-Dimer Latex-Test ergeben, wenn die XL-FDP (D-Dimer)-Konzentration größer oder gleich 0,20 mg/L (200 ng/mL) beträgt. Plasmaproben von Kontrollpersonen sollten ein negatives Ergebnis zeigen, da hier die XL-FDP-Konzentration normalerweise unter 0,20 mg/L (200 ng/mL) liegt. Da zahlreiche Umstände die Ergebnisse beeinflussen können, sollte jedes Labor seine eigenen Normalwerte ermitteln.

Erhöhte Konzentrationen an XL-FDP (das die D-Dimer-Domäne enthält) wurden bei Patienten nachgewiesen mit einer Kombination von Immunpräzipitation und Gelelektrophorese. Monoklonale Antikörper ermöglichen einen spezifischen Nachweis der D-Dimer-Domäne. Auf monoklonalen Antikörpern basierende Tests zum Nachweis von D-Dimer haben sich als wichtige diagnostische Hilfsmittel bei der disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC) und bei akuten Gefäßerkrankungen einschließlich Lungenembolie und tiefer Venenthrombose erwiesen, die allein durch klinische Untersuchungen schwer zu erkennen sind.

Die Konzentration von XL-FDP in einer Probe hängt in vivo von mehreren zusammenhängenden Faktoren ab, z. B. vom Schweregrad der thrombotischen Erkrankungen, von der Rate, mit der vernetztes Fibrin gebildet wird, und von der Zeit, die zwischen dem thrombotischen Ereignis und der Blutentnahme beim Patienten vergangen ist.

Über erhöhte Konzentrationen von XL-FDP als Zeichen einer reaktiven Fibrinolyse wurden auch nach Operationen oder Traumata, bei Sichelzellanämie, Lebererkrankungen, schweren Infektionen, Sepsis, Entzündungen und bösartigen Tumorerkrankungen berichtet. Die Konzentration von D-Dimer steigt auch im Lauf einer normalen Schwangerschaft an; sehr hohe Werte stehen allerdings im Zusammenhang mit Komplikationen

10.7 Einschränkungen der Methode

Die Reaktionszeit ist unbedingt einzuhalten. Überschreitet die Reaktionszeit 3 Minuten, so kann es durch Austrocknen des Reaktionsgemisches zu falsch positiven Ergebnissen kommen.

Die Interpretation der Testergebnisse muss stets im Zusammenhang mit dem klinischen Bild des Patienten erfolgen. Eine Diagnose sollte nicht allein auf den Ergebnissen einer individuellen diagnostischen Methode erfolgen, sondern immer unter Berücksichtigung aller klinischen und laboratoriumsmedizinischen Befunde erstellt werden. Zur Bestätigung sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden

11 Leistungsmerkmale

11.1 Analytische Leistungsmerkmale

11.1.1 Analytische Sensitivität und Spezifität

Die analytische Sensitivität beträgt 200 ng/mL.

Die analytische Spezifität wurde durch Zugabe potenziell interferierender Substanzen zu Proben untersucht. Ein signifikanter Einfluss von Bilirubin (bis 0,2 mg/mL), von Hämoglobin (bis 5,0 mg/mL), von Triglyceriden (bis 30 mg/mL) und von Serumproteinen (Gammaglobulin bis 0,06 g/mL) auf die Messergebnisse konnte nicht nachgewiesen werden.

Der D-Dimer Latex zeigt keine Kreuzreaktionen mit Fibrinogen, durch Faktor XIIIa vernetztem Fibrinogen oder Fibrinogen-Abbauprodukten.

11.1.2 Präzision

Die Präzision der Messergebnisse wurde durch die Bestimmung der Intra- und Interassay Varianz durch Analyse mehrerer Proben mit unterschiedlichen Antigenaktivitäten ermittelt. Bei semi-quantitativer Bewertung wurden keine Unterschiede von mehr als einer Titerstufe beobachtet.

11.2 Diagnostische Leistungsmerkmale

11.2.1 Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Plasmaproben von 170 gesunden Blutspendern wurden mit dem D-Dimer Latex-Test untersucht. 162 Proben zeigten ein negatives Ergebnis, was einer Spezifität von 95,3 % entspricht.

145 Plasmaproben von Patienten, die mit Sicherheit oder großer Wahrscheinlichkeit an einer thrombotischen Erkrankung leiden, wurden mit dem D-Dimer Latex-Test und einer anderen, ebenfalls auf Agglutination beruhenden Referenzmethode untersucht. Der Korrelationskoeffizient lag bei $r = 0,94$ und die Regressionsgleichung war $y = 1,19x$.

In einer Studie mit 50 Plasmaproben, die parallel mit Citrat, EDTA und Heparin antikoaguliert wurden, zeigten sich Korrelationskoeffizienten zwischen den Ergebnissen des D-Dimer Latex-Testes und erwarteten Titern (bestimmt mit einem XL-FDP ELISA) von $r = 0,91$ (Citratplasma), $r = 0,73$ (EDTA-Plasma) und $r = 0,78$ (heparinisiertes Plasma). Daher bevorzugt Citrat als Antikoagulant verwendet.

12 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Das Produkt ist ausschließlich zur *in vitro* Diagnostik und nur für die Anwendung durch qualifiziertes, autorisiertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen. Alle Testkomponenten und menschliche Proben sollten als potenziell gefährlich mit entsprechender Vorsicht behandelt werden. Gute Laborpraxis (GLP) und alle relevanten Vorschriften sollten eingehalten werden.

Sollte das Produkt beschädigt oder die Produktinformationen einschließlich der Etikettierung falsch oder fehlerhaft sein, kontaktieren Sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten.

Da das Produkt potenziell gefährliche Materialien enthält, sollten die folgenden Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden: Beim Umgang mit Kitmaterial oder Proben nicht rauchen, essen oder trinken. Direkten Kontakt mit Kitmaterial oder Proben durch das Tragen von Schutzhandschuhen, Laborkittel und Schutzbrille vermeiden. Niemals Material mit dem Mund pipettieren. Verschüttetes Material sofort aufnehmen und die betroffene Oberfläche gründlich mit einem Dekontaminationsmittel reinigen. Nach Gebrauch gründlich Hände waschen.

Einige Reagenzien enthalten Natriumazid (< 0,1 %) als Konservierungsmittel und dürfen nicht verschluckt werden oder mit Haut oder Schleimhaut in Berührung kommen. Der möglichen Bildung von Schwermetallaziden in der Drainage ist durch ausreichende Spülung mit Wasser vorzubeugen.

Die Angaben im Sicherheitsdatenblatt zu möglichen Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung großer Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie sind zu beachten.

Jeder schwerwiegende Vorfall im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats zu melden, in dem der Benutzer und / oder der Patient ansässig sind.

13 Entsorgung

Zur Dekontamination und Entsorgung müssen die Empfehlungen der CDC sowie die jeweils geltenden lokalen und nationalen Richtlinien und gesetzlichen Vorschriften eingehalten werden. Proben, potentiell kontaminierte Materialien und infektiöse Abfälle müssen, z. B. durch Autoklavieren für 20 min bei 121 °C, dekontaminiert werden.

14 Referenzen

- 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.

15 Symbole

	Hersteller
	CE-Konformitätskennzeichnung
	Nicht zur patientennahen Diagnostik
	<i>In vitro</i> Diagnostikum
	Artikelnummer
	Unique device identifier
	Chargennummer
	Begrenzung der Lagertemperatur
	Verwendbar bis
	Arbeitsanleitung beachten
	Ausreichend für n Bestimmungen
	Nicht wiederverwenden
	Achtung
	Biologisches Risiko
	Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen
	Latexreagenz
	Negativkontrolle
	Positivkontrolle
	Probenverdünner

16 Änderungen

Änderungen in vorliegender Gebrauchsanweisung

Aktuelle Version	003/09.2022
Zusammenfassung der Änderungen	Redaktionelle Änderungen in allen Kapiteln