



Diazyme Laboratories  
12889 Gregg Court  
Poway, CA 92064, USA  
Tel.: 858-455-4768 / Fax: 858-455-3701  
Email: [support@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com)  
Webová stránka:  
[www.diazyme.com](http://www.diazyme.com)

## Diazyme D-Dimer Assay

### Sestava

Reagencie pro Diazyme D-Dimer Assay jsou dodávány v těchto zabalených sestavách:

Katalogové číslo	Velikost
DZ179A-K	R1: 1x 20 mL R2: 1x 8 mL

\* Kalibrátory a kontroly jsou prodávány samostatně

### Použití

D-Dimer Assay slouží ke kvantitativnímu stanovení degradačních produktů fibrinogenu/fibrinu (d-dimer) v lidské plazmě. Stanovení d-dimeru se používá pro stanovení přítomnosti intravaskulární koagulace a fibrinolýzy. Slouží pouze k diagnostice *in vitro*.

### Základní informace

Po vzniku krevní sraženiny (thrombu) dochází za normálních podmínek k okamžité fibrinolytické odpovědi. Aktivace plazminu vede k uvolňování degradačních produktů fibrinu (které obsahují převážně d-dimer) do krevního oběhu<sup>1</sup>.

### Princip testu

Stanovení pomocí Diazyme D-Dimer Assay je založeno na imunoturbidimetrii s použitím latexu. Proteiny d-dimeru ve vzorku se váží ke specifické protilátce proti d-dimeru, která se nachází na povrchu latexových částic a dochází tak k aglutinaci. Hodnotu turbidity vyvolané touto aglutinací je přímo úměrná množství d-dimeru ve vzorku a lze ji stanovit pomocí optického měření. Zařízení Roche Modular P vypočítává koncentraci d-dimeru ve vzorku pacienta na základě vztažení naměřené hodnoty k šestibodové kalibrační křivce.

### Reagencie – pracovní roztoky

#### Reagencie 1

roztok 100 mM Tris pufru, pH 8,2

#### Reagencie 2

Suspence myších monoklonálních protilátek proti lidskému d-dimeru, které jsou navázány na latexové částice (0,2 %)

### Upozornění

- Jako v případě jiných diagnostických testů je třeba při interpretaci výsledku vzít do úvahy výsledky dalších testů a klinický stav pacienta.
- Nepoužívejte reagencie, kalibrátory, ani kontroly po uplynutí data expirace, které je vyznačené na štítku vnější krabičky. Pro každou novou šarži reagencí je nutné tuto metodu znovu zkalibrovat a použít kontroly.
- Ke vzorkům, které obsahují lidský materiál, by se mělo přistupovat jako k potenciálně infekčním a používat bezpečné laboratorní postupy, jakými jsou ty, které jsou popsány v Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicinských laboratořích) (HHS publikační číslo [CDC] 93-8395). Vyhněte se požití a kontaktu s kůží a očima.
- Další bezpečnostní informace týkající se skladování a manipulace tohoto produktu jsou uvedeny v jeho bezpečnostním listu. Pro získání bezpečnostního listu (MSDS) kontaktujte, prosím, distributora.
- Nesmíchejte reagencie různých šarží.

### Varování

Reagencie obsahuje < 0,1 % azidu sodného, NaN<sub>3</sub>, který slouží jako konzervační činidlo. Azid sodný může reagovat s olovem a mědí ve vodovodním potrubí a může tak dojít ke tvorbě vysoce výbušných azidů kovů. Při likvidaci vypláchněte velkým množstvím vody, aby se předešlo nahromadění azidu.

### Zacházení s reagencemi

- R1 je připravená k použití
- R2 před použitím jemně promíchejte a poté tak číňte jedenkrát za týden.

### Stabilita reagensů a skladování

Reagencie D-Dimeru Assay, kalibrátory a kontroly by měly být skladovány při teplotě 2–8 °C. **NEZAMRAZUJTE.** Jsou-li reagencie, kalibrátory a kontroly správně skladovány, jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku. Otevřené lahve jsou stabilní po dobu 4 týdnů, jsou-li skladovány v chlazeném oddělu analyzátoru Roche Modular P.

### Sběr vzorků a jejich příprava

Pro stanovení d-dimeru lze použít vzorky plazmy s 0,109M (~3,2 %) citrátem sodným. Před centrifugací vzorek otáčením jemně promíchejte. Co nejdříve od odběru vzorek zcentrifugujte a oddělte plazmu. Vzorky lze skladovat při 2–8 °C, jsou-li použity do 4 dnů, nebo až 3 měsíce, jsou-li skladovány při -20 °C. Vzorky rozmrazujte při pokojové teplotě a před použitím je pečlivě promíchejte. Jednou rozmražené vzorky již znovu nezmrázujte.

### Materiál, který je součástí balení

Viz kapitola „Reagencie – pracovní roztoky“ pro reagencie.

### Potřebný materiál, který není součástí balení

- Kontroly pro validaci účinnosti Diazyme D-Dimer Assay se dodávají zvlášť (katalog. č. DZ179A-CON)
- Kalibrátory pro Diazyme D-Dimer Assay se dodávají zvlášť (katalog. č. DZ179A-CAL)
- 0,9% roztok NaCl, který slouží jako kalibrátor 0
- Běžné laboratorní vybavení
- Zařízení Roche Modular P

### Postup metody

Pro podrobné pokyny viz aplikační list Roche Modular P.

### Kalibrace

Pro kalibraci je zapotřebí 0,9% roztok NaCl a pět hladin kalibrátorů d-dimeru (katalog. č. DZ179A-CAL). Hodnoty kalibrátorů pro danou šarži jsou uvedeny v certifikátu analýzy. Pro podrobné pokyny viz aplikační list Roche Modular P.

### Frekvence kalibrace

Kalibrace Diazyme D-Dimer Assay je v analyzátoru Modular P stabilní po dobu 4 týdnů. Tento test by měl být dále znovu zkalibrován spolu s proběhnutím kontrol pro každou novou šarži reagencí. Získané hodnoty by se měly nacházet v stanovených mezích. V každé laboratoři by mělo dojít k vytvoření nápravných opatření pro případ, že tyto hodnoty se budou nacházet mimo stanovené meze.

### Kontrola kvality

Doporučujeme, aby každá laboratoř používala sadu kontrol Diazyme D-Dimer, která je uvedena v kapitole „Potřebný materiál, který není součástí balení“ pro validaci účinnosti reagencí D-Dimer Assay. Sada kontrol pro d-dimer je dostupná od Diazyme Laboratories (katalog. č. DZ179A-CON). Interval kontrol a meze by měly být uzpůsobeny požadavkům každé laboratoře. Získané hodnoty by se měly nacházet v stanovených mezích. V každé laboratoři by mělo dojít k vytvoření nápravných opatření pro případ, že tyto hodnoty se budou nacházet mimo stanovené meze. Každá laboratoř by měla dodržovat federální, státní a místní pokyny pro testování materiálů kontroly kvality.

### Výsledky

Výsledky jsou zobrazeny v jednotkách µg/mL. Jednotky výsledku Diazyme D-Dimer Assay jsou µg/mL FEU (Fibrinogen Equivalent Units).

### Referenční rozmezí<sup>2</sup>

Referenční interval byl stanoven na < 0,50 µg/mL FEU. V každé laboratoři by však měly být stanoveny normální hodnoty pro populaci v daném regionu.

## Omezení

1. Diazyme D-Dimer Assay neslouží k vyloučení žilního tromboembolismu.
2. Diazyme D-Dimer Assay nebyl dosud ustanoven pro pediatrické pacienty.
3. V případě metod používajících myši protilátky existuje možnost výskytu interference díky lidským protilátkám ve vzorku proti myším antigenům.  
Diazyme D-Dimer Assay byl navržen tak, aby tato interference byla minimalizována, nicméně vzorky od pacientů, kteří jsou rutinně v kontaktu se zvířaty nebo produkty ze zvířecích sér, mohou obsahovat heterofilní protilátky, jež mohou zapříčinit chybné výsledky.
4. Jako v případě dalších imunoturbidimetrií s použitím latexu by měly pro použití Diazyme D-Dimer Assay následovat příslušné pečlivě promývací kroky. Další informace naleznete v manuálu přístroje.
5. Reagencie Diazyme D-Dimer Assay, kalibrátory a kontroly by měly být skladovány při teplotě 2–8 °C. **NEZAMRAZUJTE.**

## Charakteristiky testu

Data pro stanovení přesnosti, srovnání metody, linearitu, meze blanku (LOB)/meze detekce (LOD)/meze stanovitelnosti (LOQ) a interference získaná pomocí Roche Modular P jsou uvedena níže.

## Přesnost

### Interní studie

Přesnost Diazyme D-Dimer Assay byla vyhodnocena na základě návodu EP5-A Institutu standardů pro klinické laboratoře (Clinical Laboratory Standards Institute).

V této studii byly použity tři směsné vzorky citrátové plazmy, které obsahovaly 0,60 µg/mL, 2,41 µg/mL a 5,88 µg/mL FEU. Vzorek s nejnižší koncentrací nebyl upravován. Další dva vzorky plazmy byly obohaceny o d-dimer ze zásobního roztoku, aby dosáhly požadované koncentrace a poté byly zpracovány. Dále byly testovány tři hladiny kontroly d-dimeru obsahující 0,97, 2,99 a 7,47 µg/mL FEU pomocí dvou zpracování za den prováděných v duplikátech po dobu 20 pracovních dnů se třemi šaržemi reagentů a třemi šaržemi kalibrátorů. Kombinované výsledky jsou uvedeny zde:

### Přesnost vzorků plazmy v rámci zpracování

	Úroveň 1	Úroveň 2	Úroveň 3
N	240	240	240
Průměr (µg/mL FEU)	0,60	2,41	5,88
SD	0,03	0,05	0,08
CV%	5,0%	2,0%	1,4%

### Celková přesnost vzorků plazmy

	Úroveň 1	Úroveň 2	Úroveň 3
N	240	240	80
Průměr (µg/mL FEU)	0,60	2,41	5,88
SD	0,04	0,07	0,19
CV%	6,2%	2,7%	3,2%

### Přesnost vzorků kontroly v rámci zpracování

	Úroveň 1	Úroveň 2	Úroveň 3
N	240	240	240
Průměr (µg/mL FEU)	0,97	2,99	7,47
SD	0,03	0,05	0,11
CV%	2,9%	1,6%	1,4%

### Celková přesnost vzorků kontroly

	Úroveň 1	Úroveň 2	Úroveň 3
N	240	240	240
Průměr (µg/mL FEU)	0,97	2,99	7,47
SD	0,04	0,08	0,27
CV%	4,4%	2,8%	3,6%

## Externí studie

Přesnost Diazyme D-Dimer Assay byla také vyhodnocena zamýšlenými uživateli ve třech externích pracovištích. V této studii, byly vzorky o koncentraci 0,36 µg/mL, 1,06 µg/mL, 3,53 µg/mL a 7,20 µg/mL FEU od čtyř různých pacientů testovány v duplikátech pomocí dvou zpracování denně během 5 na sebe nenavazujících pracovních dnů a za použití tří šarží reagentů, tří šarží kalibrátorů, ve třech různých klinických testovacích pracovištích, tří různých obsluh a tří různých přístrojů. Výsledky jsou uvedeny zde:

Vzorek	v rámci zpraco	mezi zpra	mezi dny	mezi šar	celkem	průmě r
	CV%	CV%	CV%	CV%	CV%	µg/mL
1	8,9%	8,3%	7,6%	7,1%	11,5%	0,36
2	3,8%	3,6%	7,4%	8,3%	8,3%	1,06
3	2,9%	3,9%	3,1%	0,7%	4,7%	3,53
4	1,6%	3,1%	2,4%	1,5%	3,5%	7,20

## Mez blanku (LOB), mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ)

LOB, LOD, LOQ pro Diazyme D-Dimer Assay byly stanoveny podle CLSI EP17-A. LOB byla stanovena na 0,06 µg/mL FEU;

LOD byla stanovena na 0,09 µg/mL FEU; Pro stanovení LOQ byly zpracovány vzorky s průměrnou naměřenou koncentrací v rozmezí od 0,02 do 0,93. Pomocí proložení závislosti EP evaluátorem-8 byla určena LOQ (nejnižší koncentrace, pro kterou je variační koeficient (CV) nižší než 20 %) na 0,15 µg/mL FEU.

## Linearita

Jedenáct hladin sady linearitu d-dimeru bylo připraveno naředěním vzorku, který obsahoval 8,0 µg/mL FEU pomocí roztoku NaCl v souladu s návodem EP6-A Institutu standardů pro klinické laboratoře (Clinical and Laboratory Standards Institute) a otestováno na přístroji Modular P. Diazyme D-Dimer Assay je lineární v rozmezí od 0,15 do 8,0 µg/mL FEU.

## Srovnání metod

Pro otestování přesnosti Diazyme D-Dimer Assay bylo vyhodnoceno testování jednotlivých vzorků citrátové plazmy z cílové populace (jednotka intenzivní péče, porodnictví, traumatologie, pooperační péče a operační sál) a srovnáno se schváleným zařízením pro stanovení d-dimeru v místě výrobce a dvou externích klinických laboratořích. Byl srovnán celkový počet 128 vzorků citrátových plazem (88 unikátních vzorků) s koncentrací d-dimeru v rozmezí od 0,17 do 7,95 µg/mL FEU. Opakované testování, které bylo vyhodnocené bootstrapovou regresní analýzou se stratifikací, je uvedené níže:

Parametr	Celkem ze tří pracovišť
směrnice	0,979
95% CI	0,909 až 1,060
průsečík	-0,106
95% CI	-0,260 až 0,026
R <sup>2</sup>	0,939

Bias v okolí bodu pro lékařské rozhodování je -0,12 µg/ml FEU

## Interference

Následující látky v testovaných koncentracích neinterferují s metodou (bias méně než 10 %):

Hemoglobin:	do 500 mg/dL
Bilirubin:	do 40 mg/dL
konjugáty bilirubinu:	do 40 mg/dL
Triglyceridy:	do 1000 mg/dL
Kyselina askorbová:	do 176 mg/dL
Revmatoidní faktor	do 100 IU/mL
Heparin	do 1,5 IU/mL
HAMA	do 490 IU/mL

## Reference

1. Návody BJH British Journal of Haematology. 124, 15-25.
2. Alan H.B. Wu. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests. 4. edice. Saunders Elsevier, 11830 Westline Industrial Drive, St. Louis, Missouri 63146. 2006; 328-329



MDSS  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Německo

12889 Gregg Court  
Poway, CA 92064, USA  
Tel.: (858) 455-4754  
Fax: (858) 455-4750

