D-dimer
(Quantitative Turbidimetric Immunoassay)

REF	Content
PT50556	R1 1 × 30 ml, R2 1 × 10 ml

کاربرد:

اندازه‌گیری میزان D-dimer در پلاسما.

اهمیت بالینی:

هر مونومر فیبرین شامل دو دُمین D، که هر کدام در یکی از انتهاهای مولکول قرار می‌گیرند و یک دُمین مرکزی E است. پلیمریزه شدن مونومرهای فیبرین در نتیجه اتصال دومین های D انتهایی مونومرهای مختلف به یکدیگر (اتصال انتها به انتهای مونومرها) صورت گرفته و منجر به تشکیل فیبرین نا محلول یا لخته فیبرینی می‌شود. به عبارت دیگر بخش‌های D- دایمر در نتیجه تشکیل اتصال عرضی (Cross-linkage) دمین‌های D رشته‌های فیبرین مختلف تشکیل می‌شوند که به وسیلهٔ فاکتور XIIIa کاتالیز می‌شود. در تشکیل پلیمرهای فیبرینی علاوه بر اتصال انتها به انتهای مونومرها، اتصالات جانبی بین دُمین میانی E یک مونومر با دُمین‌های D مونومرهای دیگر نیز تشکیل می‌شود که باعث ایجاد شبکه فیبرینی می‌گردد. بنابراین، تشخیص D- دایمر در پلاسما تنها موید شکسته شدن یا لیز شدن فیبرین های Cross-link شده است.

فرآیند فیبرینولیز عبارت است از حل شدن (تجزیه شدن) کنترل شده لخته ها که در هنگام بهبودی زخم‌ها صورت می‌گیرد. علاوه براین، فرآیند فیبرینولیز در هنگام تشکیل لخته نیز به میزان محدودی و به عنوان مکانیسمی در جهت محدود کردن تشکیل لخته مازاد، انجام می‌شود. پلاسمین آنزیم اصلی دخیل در فرآیند فیبرینولیز است، این آنزیم باعث هیدرولیز پروتئولیتیک شبکهٔ فیبرینی و ایجاد محصولات محلول حاصل از تجزیه فیبرین یا FDP (Fibrin Degradation Products) با اندازه های مختلف می‌کند که شامل قطعات X، Y، E و D-دایمرهای D-D می‌باشند. افزایش میزان D-دایمر در خون نشان‌دهندهٔ تشکیل ترومبوس (لخته خونی غیرمتحرک در طول دیواره یک رگ خونی) و افزایش فیبرینولیز است. علاوه براین، بالا بودن سطح D-دایمر با بیماری‌های مختلفی مانند تومورهای بدخیم، عوارض زایمان، آسیب‌های عروقی و سندرم انعقاد درون عروقی منتشر (DIC) مرتبط است.

اساس آزمایش:

در این روش کمپلکس‌های D-دایمر موجود در نمونه با آنتی‌بادی های منوکلونال موشی ضد D-دایمر انسانی، که بر روی ذرات لاتکس تثبیت شده‌اند واکنش می‌دهند که این واکنش منجر به تجمع (Agglutination) آنها و افزایش کدورت (توربیدیتی) می‌شود. میزان افزایش کدورت ایجاد شده که متناسب با غلظت D-دایمر موجود در نمونه است، به وسیله اسپکترومتر سنجیده می‌شود.

ترکیب معرف ها:

Component	Ingredients
R1 D-dimer Buffer Solution 1	2-Amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol buffer solution (pH 8.5)
R2 D-dimer Latex Reagent 2	Anti-human D-dimer mouse monoclonal antibody-coated latex

نکات ایمنی و هشدارها:

1- از این کیت تنها برای مصرف در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌توان استفاده نمود.

2- در معرف‌های این کیت از **Proclin 300** به عنوان مادهٔ نگهدارنده (Preservative) استفاده شده است، لذا به هیچ عنوان از دهان برای کار با پیپت استفاده نشود و از تماس مستقیم محلول‌ها با دست و چشم‌ها خودداری شود و در صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شسته شود.

3- کلیه هشدارهای معمول آزمایشگاه، در هنگام کار با محلول‌ها رعایت گردد.

شرایط نگهداری و پایداری معرف ها:

معرف‌ها در صورتی‌که در دمای 10°C - 2 به دور از نور مستقیم نگهداری شوند تا پایان تاریخ انقضاء درج شده بر روی برچسب کیت پایدار و قابل استفاده خواهند ماند. از آلوده شدن معرف‌ها و نگهداری آنها در دمای انجماد یا در معرض نورمستقیم خودداری شود.

آماده‌سازی معرف ها:

معرف‌های R1 و R2 به صورت مایع و آماده مصرف می‌باشند.

معرف R2 را از قبل از شروع به کار کمی به آرامی تکان دهید.

جمع‌آوری، آماده‌سازی و نگهداری نمونه‌ها:

نوع نمونه:

پلاسمای سیتراته (لوله درب آبی)

نکته: نمونه‌ها باید سریعا بعد از جمع‌آوری سانتریفیوژ شده و در همان روز مورد سنجش قرار بگیرند. در غیر این‌صورت نمونه‌ها را حداکثر برای یک روز در دمای 8 °C - 2 و یا یک ماه در دمای 20°C- قرار دهید.

- چرخه Freeze - Thaw هر نمونه تنها یک بار انجام شود.

- قبل از انجام آزمایش اجازه دهید دمای نمونه‌ها به دمای اتاق برسد.

روش کار:

مواد و لوازم مورد نیاز:

1 - محلول‌های کار (معرف‌ها)

2 - تجهیزات معمول مورد استفاده در آزمایشگاه

3 – کالیبراتور و کنترل‌های D-دایمر شرکت پیشتاز طب جهت کالیبراسیون و کنترل.

روش انجام آزمایش:

این محصول بر روی انواع دستگاه‌های اتوآنالیزر قابل نصب و استفاده است. پارامترهای مورد نیاز برای استفاده در اتوآنالایزرهای مختلف موجود بوده، که در صورت نیاز می‌توانید آن را از بخش فنی شرکت پیشتاز طب درخواست نمایید.

منحنی واکنش: Increasing

	بلانک	کالیبراتور/ استاندارد	نمونه
معرف 1	900	900	900
کالیبراتور/ استاندارد		30	
نمونه			30
پس از مخلوط نمودن معرف شماره 1 و نمونه ، 5 دقیقه دردمای 37 c° انکوبه نمایید و سپس معرف شماره 2 را اضافه نمایید			
معرف 2	300	300	300
پس از اضافه نمودن معرف شماره 2 بلافاصله اولین جذب نوری را می گیریم (*I). سپس 5 دقیقه بعد دومین جذب نوری را می گیریم (*II).			

محاسبات:

اختلاف جذب‌های *I و *II را برای کالیبراتور، کنترل و نمونه‌ها در طول موج 546 nm محاسبه نمایید. با استفاده از رابطه زیر غلظت D- دایمر در کنترل ها و نمونه‌ها را تعیین نمایید.

$$\mathbf{D-dimer\ (\mu g/mL)} = \frac{\mathbf{\Delta A\ Control/Sample}}{\mathbf{\Delta ACal}} \times \mathbf{Conc.\ Cal(\mu g/mL)}$$

شرکت پیشتاز طب زمان، آدرس: ایران، تهران، شهرک گلستان، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک 1، **تلفن**:021-42197000
کد پستی:1467613741،**فکس**:021-42197007، **پست الکترونیکی**:info@pishtazteb.com

ویرایش آبان ماه1400

دامنه مرجع:	≤ 0.5 µg/ml

بهتر این است که هر آزمایشگاه با توجه به اطلاعات آماری بیماران دامنه مرجعی مختص به خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج این تست باید با تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته‌ها به‌طور همزمان بررسی شوند.

ویژگی و کارایی کیت:

1- دامنه اندازه‌گیری (Linearity):

این کیت توانایی اندازه‌گیری مقدار D- دایمر در محدوده 0.2 – 12 µg/mL را دارا است.

2- حداقل میزان قابل اندازه‌گیری:

حداقل میزان D- دایمر قابل اندازه‌گیری به وسیله این کیت 0/2 µg/mL می‌باشد.

3- حساسیت:

1) میزان تغییرات جذب معرف بلانک: ≤ 0/01/min

2-حساسیت: میزان تغییرات جذب D-دایمر به ازاء 10 µg/mL: برابر با 0/01 – 0/05/min می‌باشد.

4- صحت:

مقادیر مورد نظر در محدوده 115% - 85 مقدار مورد نظر قرار می‌گیرند.

5- میزان دقت (Precision):

Intra-assay (n = 20)			
	Mean (µg/ml)	SD (µg/ml)	CV%
نمونه 1	3/43	0/10	2/92
نمونه 2	10/08	0/16	1/58

Inter-assay (n = 20)			
	Mean (µg/ml)	SD (µg/ml)	CV%
نمونه 1	3/30	0/17	5/2
نمونه 2	9/54	0/30	3/1

6- محدودیت‌ها و تداخلات:

بیلی‌روبین آزاد تا غلظت 17 mg/dL، بیلی‌روبین کونژوگه تا غلظت 21mg/dL، هموگلوبین تا غلظت 500 mg/dL، فاکتور روماتوئید تا 500 IU/mL و کدورت ناشی از فرمازین تا 1960 واحد موجب تداخلی در نتیجهٔ آزمایش نمی‌شوند.

7- مقایسه روش‌ها (Accuracy):

از مقایسه بین کیت D- دایمر شرکت پیشتاز طب (y) با یک کیت تجاری معتبر (x)، نتایج زیر به دست آمد:

y = 0.97x + 0.81, r = 0.99

منابع:

1- Riley R. S., et al, (2016), Widely Used Types and Clinical Applications of D-dimer Assay, Lab Medicine, 47:2; 90–102.

2- Burtis, C. A., et al, (2012), Tietz textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th edition, Elsevier.

3- Akemi Takada et al, (2005), Japanese Journal of Clinical Laboratory Automation, 30, 721.

4- Miyuki Kikuchi et al., (2005), Journal of the Japanese Society for Laboratory Hematology, 6, 349.

شرکت پیشتاز طب زمان، آدرس: ایران، تهران، شهرک گلستان، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک 1، **تلفن**:42197000-021

کد پستی:1467613741،**فکس**:42197007-021، **پست الکترونیکی**:info@pishtazteb.com

ویرایش آبان ماه1400