

Indagine sulla modalità di refertazione dell'esame D-dimero nei laboratori nazionali e indicazioni per una sua armonizzazione

Giuseppe Lippi¹, Benedetto Morelli², Armando Tripodi³

¹Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology, Academic Hospital of Parma

²Hemostasis and Thrombosis Center, General Hospital of Legnano (MI)

³Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, Department of Clinical Sciences and Community Health, IRCCS Cà Granda Maggiore Hospital Foundation and University of Milan, Milan

ABSTRACT

A survey on D-dimer test reporting in Italian laboratories and some suggestions for its harmonization. D-dimer assessment represents a cornerstone in the diagnostic approach and therapeutic management of several thrombotic disorders, namely venous thromboembolism and disseminated intravascular coagulation. Nevertheless, this test is still plagued by an insufficient degree of analytical and post-analytical standardization. In particular, despite the existence of national guidelines, result reporting is quite heterogeneous. A specific on-line, 5-item questionnaire was disseminated to the SIBioC members to obtain a picture of the current national situation. As regards to the units, a modest prevalence (53%) of D-dimer unit (DDU) over fibrinogen equivalent unit (FEU) (47%) was found. The most widespread measurement unit was "ng/mL" (60%), followed by "µg/L" (18%), "mg/L" (15%) and "µg/mL" (6%). The vast majority of laboratories (90%) did not use an age-adjusted cut-off. The data distribution did not differ among different types of healthcare settings (i.e., general hospital, university hospital or private facilities). The use of at least 16 different unit approaches for D-dimer emerged from the survey is quite alarming and calls for a standardization, using a single result reporting as <age-adjusted µg/L FEU>.

INTRODUZIONE

Il termine D-dimero è genericamente riferibile a un discreto numero di peptidi derivanti dalla degradazione di un coagulo di fibrina stabilizzata. A differenza dei prodotti di degradazione di fibrina/fibrinogeno (FDP), che aumentano in circolo per effetto diretto dell'azione della plasmina sia sul fibrinogeno che sulla fibrina solubile, il D-dimero si genera solo quando la cascata coagulativa e la fibrinolisi sono contestualmente attivate (1). In sintesi, a seguito dell'attivazione della cascata coagulativa, il fibrinogeno è convertito in fibrina dalla trombina, in un processo che prevede il clivaggio dei fibrinopeptidi A e B. I monomeri di fibrina così generati si aggregano a formare una rete labile, che è successivamente stabilizzata dal fattore XIII attivato (FXIIIa), mediante formazione di legami covalenti agli estremi carbossi-terminali di unità di fibrina monomeriche adiacenti. Questo processo determina la generazione di legami "cross-link", che garantiscono la stabilità del coagulo. La successiva attivazione della fibrinolisi comporta la

degradazione plasmina-mediata della rete di fibrina stabilizzata, con generazione di prodotti di degradazione della fibrina contenenti dimeri D (D-D). Conseguentemente, mentre la presenza in circolazione di FDP riflette un processo aspecifico di degradazione contestuale di fibrinogeno (fibrinogenolisi primaria) e fibrina (fibrinolisi), un aumento della concentrazione di D-dimero in circolo riflette un'attivazione contestuale di cascata coagulativa e fibrinolisi, rappresentando pertanto un indice molto più specifico di un processo trombotico (2).

Sulla base del meccanismo descritto in precedenza, il D-dimero viene oggi considerato il biomarcatore elettivo per la diagnosi di esclusione dei processi tromboembolici localizzati o sistemici. Congiuntamente all'utilizzo di "score" clinici e alla diagnostica per immagini, la sua determinazione rappresenta un cardine diagnostico nella diagnosi di trombosi venosa profonda ed embolia polmonare, coagulazione intravascolare disseminata (CID), trombosi retiniche e altre patologie trombotiche (3-8). Recentemente, la determinazione del

Corrispondenza a: Giuseppe Lippi, U.O. Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Via Gramsci 14, 43126 Parma. Tel. 0521703050, Fax 0521703791, E-mail gliippi@ao.pr.it, ulippi@tin.it

Ricevuto: 14.01.2015

Revisionato: 27.02.2015

Accettato: 03.03.2015

D-dimero è stata anche proposta nella valutazione del rischio di recidiva tromboembolica (9), nella stratificazione del rischio embolico nei pazienti con fibrillazione atriale (10) e nella diagnostica della dissecazione aortica (11).

Malgrado il ruolo del D-dimero nel percorso diagnostico-terapeutico delle patologie descritte in precedenza sia oggi indiscusso, alcuni aspetti di natura prevalentemente analitica contribuiscono a ridurre l'accuratezza diagnostica. Come detto, il D-dimero non è una singola molecola, quanto piuttosto una miscela di peptidi caratterizzati dalla presenza del dimero D. Questa spiccata eterogeneità ha rappresentato un grosso ostacolo nel processo di standardizzazione, giacché i calibratori dei differenti metodi (oggi rappresentati quasi esclusivamente da metodiche immunoenzimatiche e immunoturbidimetriche) e i materiali di controllo differiscono considerevolmente, al punto da rendere scarsamente confrontabili i risultati ottenuti con differenti metodi commerciali (12, 13). Un secondo aspetto rilevante è rappresentato dal fatto che il D-dimero viene generato in corso di eventi apparentemente non trombotici; pertanto la sua specificità per il tromboembolismo venoso, seppure superiore a quella degli FDP, rimane limitata. Nella fattispecie, concentrazioni elevate si riscontrano costantemente in pazienti con infezioni sistemiche o localizzate, neoplasie maligne, fibrillazione atriale, sindrome coronarica acuta, patologie renali e/o epatiche (14), così come in gravidanza (15).

Malgrado la Società Internazionale di Trombosi ed Emostasi (ISTH) abbia creato un comitato *ad hoc* per l'armonizzazione della determinazione del fibrinogeno e dei suoi prodotti di degradazione, comprendente anche indicazioni in merito alla nomenclatura da utilizzare (16), non sono state prodotte raccomandazioni specifiche relative alla standardizzazione dell'unità di misura. Il risultato del D-dimero può quindi essere espresso (in relazione alla calibrazione dei singoli metodi) in unità di D-dimero (DDU) o unità fibrinogeno-equivalenti (FEU). A rendere ancora più complesso lo scenario, concorre il fatto che il biomarcatore può essere espresso con una molteplicità di unità di misura (ng/mL, mg/L, µg/L, ecc.).

Un ulteriore elemento di criticità è rappresentato dal fisiologico invecchiamento del sistema emostatico nel suo complesso (17), che si riflette non solo in un aumento del rischio trombotico in parallelo con l'età (18), ma anche in un progressivo incremento della concentrazione del D-dimero, soprattutto al di sopra dei 50 anni (19). Questa evidenza ha supportato una serie di studi clinici, che hanno confermato come l'utilizzo di cut-off diagnostici incrementali in funzione dell'età rappresenti un elemento fondamentale per aumentare la specificità diagnostica di questo biomarcatore per diagnosi e valutazione prognostica dei pazienti con tromboembolismo venoso (20-22).

La spiccata eterogeneità nella modalità di refertazione dei valori del D-dimero ha importanti ricadute in termini di rischio clinico, poiché la refertazione dei risultati dello stesso paziente può

avvenire con una molteplicità di unità di misura, complicando l'interpretazione longitudinale e confondendo i clinici per il numero elevato di modalità utilizzate per esprimere i risultati dell'esame. Malgrado SIBioC abbia recentemente prodotto un documento di consenso, in cui si consiglia di riportare i risultati del D-dimero in termini di µg/L FEU e di utilizzare un cut-off aggiustato per età al di sopra dei 50 anni, utilizzando preferibilmente la formula [cut-off, µg/L FEU] = [età in anni] x 10 (23), non esistono indicazioni in merito a come tali raccomandazioni siano state recepite sul territorio nazionale. Analogamente a una precedente iniziativa del "College of American Pathologists" (CAP) (24), abbiamo quindi promosso la disseminazione tra i soci di uno specifico questionario, volto a ottenere un quadro attuale della refertazione dei risultati del D-dimero.

MATERIALI E METODI

Gli aspetti principali inseriti nel questionario riguardavano la collocazione del laboratorio nell'ambito del Sistema Sanitario Nazionale (struttura ospedaliera non universitaria, struttura ospedaliera universitaria, struttura privata), l'espressione dei risultati in DDU o FEU, l'unità di misura ("ng/mL", "g/mL", "mg/L", "g/L", "µg/L", "µg/mL, altro), così come l'uso di un cut-off fisso o aggiustato per età.

Il questionario è stato elaborato e distribuito mediante piattaforma "Google drive" (Google Inc.). Il sondaggio è stato aperto "on-line" il 24 novembre 2014 e diffuso da una "newsletter" a tutti i soci SIBioC. L'indagine è stata chiusa il 10 gennaio 2015. La frequenza delle risposte ai diversi quesiti è stata analizzata mediante test del chi-quadro, utilizzando il programma statistico Analyse-it.

RISULTATI

Dati generali

Si sono ottenute 133 risposte al questionario, il maggior numero da laboratori in strutture ospedaliere non universitarie (85; 64%), seguiti da laboratori in strutture private (32, 24%) e laboratori in strutture universitarie (16, 12%).

Espressione dei risultati

Il risultato delle risposte alla prima domanda del sondaggio in merito all'espressione dei risultati D-dimero in DDU o FEU evidenziava una modesta prevalenza di DDU (53%) rispetto a FEU (47%). Questo dato è in contrapposizione con quello ottenuto nel questionario del CAP, in cui l'utilizzo di FEU era prevalente (59%). La distribuzione di risposte in relazione alla tipologia della struttura non ha raggiunto significatività statistica ($P=0,26$) (Figura 1).

Unità di misura

Le risposte alla seconda domanda del sondaggio relativa all'unità di misura del D-dimero sono riassunte

nella Figura 2. Rispetto al sondaggio del CAP (24), in cui il 50% dei partecipanti indicava l'uso di "ng/mL", seguito da "g/mL" (28%), "mg/L" (20%) e "g/L" (2%), è interessante notare come anche in Italia prevalga in larga misura l'utilizzo di "ng/mL". Anche in questo caso, malgrado una tendenza al maggior uso di "ng/mL" nei laboratori collocati in strutture universitarie (75%), la distribuzione di risposte in relazione alla tipologia della struttura non raggiungeva una significatività statistica (P=0,86).

Impiego di cut-off fisso o aggiustato per età

A differenza delle indicazioni emanate da SIBioC (23), la stragrande maggioranza dei laboratori (90%) ha dichiarato di non utilizzare un cut-off aggiustato per età. Un confronto diretto con l'indagine del CAP non è possibile, in quanto questo quesito non era presente nel questionario statunitense. La distribuzione delle risposte in relazione alla tipologia della struttura non aveva significatività statistica (P=0,86).

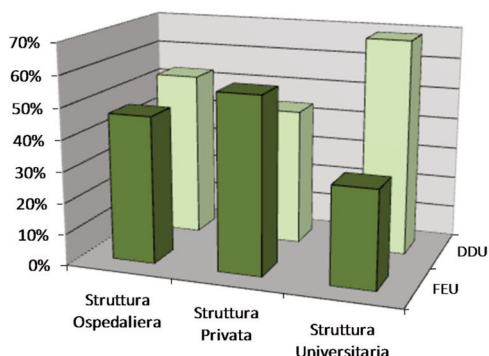


Figura 1
Risposte al quesito relativo alla refertazione dei valori in unità D-dimero equivalenti (DDU) o unità fibrinogeno equivalenti (FEU) in funzione della tipologia dei laboratori.

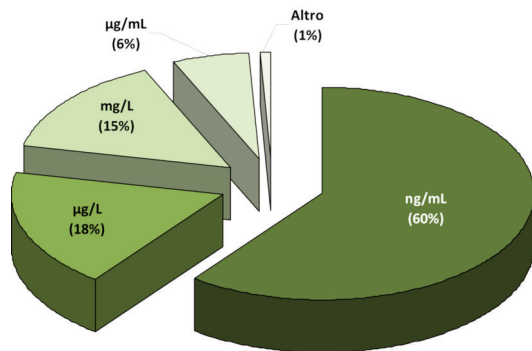


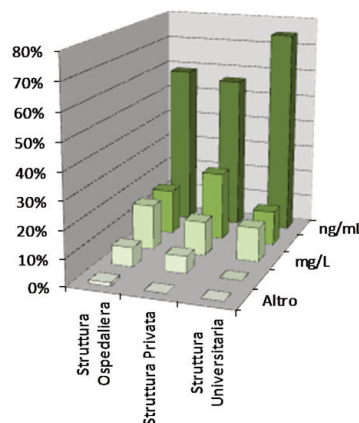
Figura 2
Risposte al quesito relativo alla unità di misura utilizzata per la refertazione del D-dimero.

DISCUSSIONE

Malgrado appaia oggi indiscutibile che la maggior parte degli errori di laboratorio emerge dalla fase preanalitica (25), problemi nella fase post-analitica (segnalazione dei valori critici e interpretazione dei risultati degli esami) possono rappresentare una causa altrettanto importante di rischio clinico (26).

Nella fattispecie, l'uso di almeno 16 differenti unità di misura del D-dimero emerso dai risultati di questo sondaggio (2 tra FEU e DDU; 4 tra "ng/mL", "µg/L", "mg/L" e "µg/mL"; 2 tra "cut-off" fisso o aggiustato per età) è particolarmente allarmante. Un esempio paradigmatico è il possibile uso di DDU o FEU (dove FEU = ½ DDU) in due laboratori appartenenti alla stessa organizzazione. Quando un paziente viene trasferito da una struttura che referta il D-dimero in FEU a un'altra che usa DDU (anche utilizzando la stessa unità di misura, come ad es., "ng/mL"), il risultato numerico del secondo laboratorio è il doppio del primo (400 ng/mL FEU = 800 ng/mL DDU). Ciò può essere fuorviante per i clinici, che non sono obbligatoriamente a conoscenza della mancata standardizzazione nella modalità di refertazione di questo analita. Lo scambio di un risultato in DDU con quello in FEU e viceversa può comportare un giudizio fuorviante sulla cinetica del marcatore e anche generare misure terapeutiche inopportune. Anche se l'uso di unità di misura differenti può apparire meno critico, giacché il risultato numerico in "µg/L" è uguale a quello in "ng/mL" mentre i valori in "µg/L" sono 1000 volte quelli in "mg/L" o in "µg/mL", anche in quest'ambito il questionario ha evidenziato una totale assenza di standardizzazione.

Un altro aspetto importante riguarda l'aumento età-dipendente dei valori di D-dimero. Malgrado le indicazioni in favore dell'utilizzo di un cut-off aggiustato in base all'età (20, 23), il quadro che emerge da questa indagine dimostra che la stragrande maggioranza dei laboratori italiani che hanno risposto al questionario ancora ignora le indicazioni correnti e continua a utilizzare un cut-off fisso, limitando così il potere



diagnostico dell'esame, soprattutto la sua specificità.

In conclusione, alla luce dei risultati emersi da questo studio, sembra oggi irrinunciabile un'opera volta a promuovere una maggiore armonizzazione delle modalità di refertazione del D-dimero. In accordo alle evidenze e alle linee guida correnti, la modalità di refertazione preferibile dovrebbe basarsi sull'utilizzo di un cut-off in $\mu\text{g/L}$ FEU, aggiustato per età.

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Lippi G, Cervellin G, Franchini M, et al. Biochemical markers for the diagnosis of venous thromboembolism: the past, present and future. *J Thromb Thrombolysis* 2010;30:459-71.
- Tripodi A. Il D-dimero nella pratica di laboratorio. *Biochim Clin* 2012;36:196-203.
- Bates SM, Jaeschke R, Stevens SM, et al; American College of Chest Physicians. Diagnosis of DVT: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141(2 suppl):e351S-418S.
- Lippi G, Cervellin G, Casagrande I, et al. D-dimer testing for suspected venous thromboembolism in the emergency department. Consensus document of AcEMC, CISMEL, SIBioC, and SIMeL. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:621-8.
- Franchini M, Lippi G, Manzato F. Recent acquisitions in the pathophysiology, diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. *Thromb J* 2006;4:4.
- Dentali F, Squizzato A, Marchesi C, et al. D-dimer testing in the diagnosis of cerebral vein thrombosis: a systematic review and a meta-analysis of the literature. *J Thromb Haemost* 2012;10:582-9.
- Karska-Basta I, Kubicka-Trzaska A, Pogrzebielski A, et al. A new insight into retinal vein occlusion pathogenesis. *Klin Oczna* 2013;115:269-74.
- Lippi G, Franchini M, Targher G, et al. Help me, Doctor! My D-dimer is raised. *Ann Med* 2008;40:594-605.
- Palareti G, Cosmi B, Legnani C, et al; DULCIS (D-dimer and ULtrasonography in Combination Italian Study) Investigators. D-dimer to guide the duration of anticoagulation in patients with venous thromboembolism: a management study. *Blood* 2014;124:196-203.
- Danese E, Montagnana M, Cervellin G, et al. Hypercoagulability, D-dimer and atrial fibrillation: an overview of biological and clinical evidence. *Ann Med* 2014;46:364-71.
- Salvagno GL, Targher G, Franchini M, et al. Plasma D-dimer in the diagnosis of acute aortic dissection. *Eur Heart J* 2008;29:1207.
- Dempfle CE. D-dimer: standardization versus harmonization. *Thromb Haemost* 2006;95:399-400.
- Tripodi A, Chantarangkul V. Performance of quantitative D-dimer methods: results of the Italian external quality assessment scheme. *J Thromb Haemost* 2007;5:184-5.
- Lippi G, Bonfanti L, Saccenti C, et al. Causes of elevated D-dimer in patients admitted to a large urban emergency department. *Eur J Intern Med* 2014;25:45-8.
- Lippi G, Montagnana M. D-dimer testing in pregnancy: clinically useful, but at what cost? *Ann Intern Med* 2008;148:484.
- Medved L, Weisel JW; Fibrinogen and Factor XIII Subcommittee of Scientific Standardization Committee of International Society on Thrombosis and Haemostasis. Recommendations for nomenclature on fibrinogen and fibrin. *J Thromb Haemost* 2009;7:355-9.
- Favaloro EJ, Franchini M, Lippi G. Aging hemostasis: changes to laboratory markers of hemostasis as we age - a narrative review. *Semin Thromb Hemost* 2014;40:621-33.
- Montagnana M, Favaloro EJ, Franchini M, et al. The role of ethnicity, age and gender in venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis* 2010;29:489-96.
- Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, et al; Prolong Investigators. Sex, age and normal post-anticoagulation D-dimer as risk factors for recurrence after idiopathic venous thromboembolism in the Prolong study extension. *J Thromb Haemost* 2010;8:1933-42.
- Schouten HJ, Geersing GJ, Koek HL, et al. Diagnostic accuracy of conventional or age adjusted D-dimer cut-off values in older patients with suspected venous thromboembolism: systematic review and meta-analysis. *Br Med J* 2013;346:f2492.
- Legnani C, Cini M, Cosmi B, et al. Age and gender specific cut-off values to improve the performance of D-dimer assays to predict the risk of venous thromboembolism recurrence. *Intern Emerg Med* 2013;8:229-36.
- Lippi G, Favaloro EJ, Cervellin G. A review of the value of D-dimer testing for prediction of recurrent venous thromboembolism with increasing age. *Semin Thromb Hemost* 2014;40:634-9.
- Lippi G, Cervellin G, Casagrande I, et al. Documento di consenso di "Academy of Emergency Medicine and Care", Comitato Italiano per la Standardizzazione dei Metodi Ematologici e di Laboratorio, SIBioC - Medicina di Laboratorio e Società Italiana di Medicina di Laboratorio sull'utilizzo del dosaggio del D-dimero per il sospetto di tromboembolismo venoso in condizioni di urgenza. *Biochim Clin* 2014;38:136-8.
- Olson JD, Cunningham MT, Higgins RA, et al. D-dimer: simple test, tough problems. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:1030-8.
- Favaloro EJ, Meijer P, Jennings I, et al. Problems and solutions in laboratory testing for hemophilia. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:816-33.
- Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory reporting of hemostasis assays: the final post-analytical opportunity to reduce errors of clinical diagnosis in hemostasis? *Clin Chem Lab Med* 2010;48:309-21.