

D-Dimer Turbidimetric



REF 3145005

1 x 54 mL

CONTENTS

R1.Reagent 1 x 48 mL

R2. Reagent 1 x 6 mL

CAL. 1 x 1 mL

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

D-Dimer Turbidimetric

Turbidimetría látex

FUNDAMENTO

Las partículas de látex sensibilizadas con anticuerpo monoclonal anti-D-Dímero de ratón aglutinan en presencia de plasmas humanos que contienen D-Dímero. El anticuerpo utilizado es altamente específico para la región del enlace cruzado del D-Dímero. La aglutinación de las partículas de látex es proporcional al D-Dímero presente en la muestra y puede ser medido por turbidimetría.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

R1 **Diluyente.** Tampón borato, 0,1 mol/L, pH 8,2.

R2 **Látex.** Partículas de látex sensibilizadas con anticuerpo monoclonal anti-D-Dímero, pH 8,2.

CAL **Calibrador.** Ref: 3945005 (2 x 1 mL). Solución liofilizada de D-Dímero humano altamente purificado. Contiene albúmina bovina, estabilizantes y conservantes.

Precauciones: Los reactivos del kit contienen azida sódica 0,95 g/L. Evitar contacto con piel y mucosas

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

R1 Listo para su uso.

R2 Listo para su uso. Mezclar suavemente antes de usar.

CAL Liofilizado. Disolver el contenido con exactamente **1,0 mL** de agua destilada. Tapar el vial y homogeneizar el contenido cuidadosamente. Dejar el vial a 15-25°C por unos 20-30 minutos antes de ser utilizado. No agitar.

Curva de Calibración (5 puntos): Preparar diluciones dobles del Calibrador en NaCl 9 g/L. Multiplicar la concentración del Calibrador por el correspondiente factor indicado en la tabla inferior para obtener la concentración de D-Dímero en cada punto de la curva.

Dilución	1:1	1:2	1:4	1:8
NaCl 9 g/L (µL)	--	200	200	200
D-Dimer CAL (µL)	400	200	200	200
	Mix and transfer			
Factor	1,0	0,5	0,25	0,125

Calibrador 0 µg/L: Preparar un tubo con NaCl 9 g/L.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Todos estos reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen bien cerrados a 2-8°C y se evita la contaminación durante su uso. No usar los reactivos una vez caducados.
- Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas y turbidez.
- Calibrador: la estabilidad una vez reconstituido es de: 2 días a 15-25°C, 15 días a 2-8°C y de 2 meses a -20°C.

MUESTRAS

Mezclar 9 vol. de sangre venosa con 1 vol. de tampón citrato trisódico. La recogida de muestras debe realizarse siguiendo las recomendaciones de los tests de homeostasis. Para más información referirse al documento de la CLSI H21-A5.

El plasma citrado es estable 4 días a 2-8°C, 1 mes a -20°C. **No congelar las muestras más de una vez!** Descongelar la muestras a 37°C y luego dejar atemperar a temperatura ambiente antes de ensayar. Las muestras descongeladas deben ser ensayadas en las siguientes 2 horas. (Nota 1)

EQUIPO ADICIONAL

- Baño termostático a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro termostaticable a 37°C con filtro de 405 nm.

PROCEDIMIENTO

Procedimiento preliminar

Precalentar el reactivo R1 y el fotómetro (portacubetas) a 37°C

Procedimiento analítico

- Ajustar el cero del instrumento a 405 nm con agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

Diluyente (R1)	800 µL
Muestra/Calibrador/Agua(Blanco)	25 µL
Látex (R2)	100 µL

- Mezclar bien y leer la absorbancia inmediatamente (A₁) y a los 2 minutos (A₂) de la primera lectura.

Cálculos

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂-A₁) de cada punto de la curva de calibración y representar los valores obtenidos frente a las concentraciones de D-Dímero de cada dilución del Calibrador. La concentración de D-Dímero en la muestra se calcula por interpolación de su (A₂-A₁) en la curva de calibración. (Nota 2)

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el D-Dimer Turbidimetric Control (Ref.: 3945010) para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES ESPERADOS

Muestras con una concentración de D-Dímero ≤250 ng/mL son consideradas normales. Está recomendado la utilización de un valor de cut-off de 250 ng/mL para la exclusión de VTE.(Nota 3) Cada laboratorio debería establecer los valores de referencia para una determinada población. Los valores de D-Dímero son más elevados durante el embarazo y en edades avanzadas.



SIGNIFICADO CLÍNICO

El D-Dímero es el último producto de degradación de la fibrina. Después de la formación inicial del coágulo de fibrina generado por la acción de la trombina sobre el fibrinógeno, el factor XIII une dos dominios D y genera un coágulo sólido. La plasmina degrada la fibrina entrelazada formando una variedad de subproductos solubles con distintos pesos moleculares. Todos estos productos de degradación contienen el dominio D Dímero.

El D-Dímero es una medida de la actividad fibrinolítica de la plasmina en la sangre. Su determinación se está convirtiendo en una herramienta generalizada para el diagnóstico de la trombosis y la monitorización de la terapia tromboembólica de la Coagulación Intravascular Diseminada (CID).

Niveles altos de D-Dímero se encuentran en cuadros clínicos de la Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETV) como el Embolismo Pulmonar (EP) y la Trombosis Venosa Profunda (TVP) y la DIC.

Otras condiciones pueden alterar los niveles de D-Dímero como el embarazo, cáncer, cirugías recientes, sangrado activo o reciente, hematomas, inflamación y enfermedades hepáticas.

Cuando los valores de D-Dímero se encuentran por debajo del valor de cut-off y van acompañados de un resultado de un pre-test de probabilidad clínica baja, una TVP de extremidades inferiores y un EP pueden ser excluidos con un valor predictivo negativo de aproximadamente un 95%.

El ensayo del D-Dímero puede ser de gran utilidad para el seguimiento de pacientes con una sospecha de padecer TVP.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

– **Límite de linealidad:** Hasta 2600 ng/mL, en las condiciones descritas en el ensayo. Las muestras con concentraciones superiores deberían diluirse 1:5 en NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. (Nota 4).

– **Límite de detección:** Valores ≤ 41 ng/mL dan resultados poco reproducibles.

– **Efecto prozona:** Concentraciones >44.000 ng/mL continúan dando resultados positivos. (Nota 5)

– **Precisión:**

	Intra-ensayo (n=10)			Inter-ensayo (n=10)		
Media (ng/mL)	297	421	976	297	421	976
CV (%)	3,1	2,4	1,3	2,3	2,4	1,9

– **Especificidad:** El anticuerpo monoclonal es específico para la región del enlace entrecruzado de los productos de degradación de la fibrina (Domino D-Dímero). No se ha observado ninguna reacción cruzada con fibrinógeno o fragmentos E. Se ha observado reacción cruzada a concentraciones superiores a los 10 $\mu\text{g/mL}$ en plasmas enriquecidos con fragmento D purificado. (Nota 8).

– **Interferencias:** Bilirrubina (40 mg/dL), hemoglobina (1700 mg/dL), lipemia (500 mg/dL) y factores reumatoideos (120 UI/mL), no interfieren. Otras sustancias podrían interferir. (Nota 9).

– **Comparación de métodos:** Se hizo un estudio de correlación con 50 plasmas con valores de D-Dímero comprendidos entre los 40 – 2000 $\mu\text{g/L}$ con el kit D-Dimer Turbidimetric de Linear (y) y el HemosIL® D-Dimer test (x). Los resultados obtenidos fueron los siguientes: r: 0,995, pendiente: 0,96 y punto de intercepción: 40,3.

NOTAS

1. Por a la falta de estabilidad del analito D-Dímero de las muestras de plasma, se deben mantener las muestras a 2-8°C.
2. Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Es recomendable utilizar una lectura a tiempo fijo. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
3. El diagnóstico clínico no puede realizarse con un solo resultado del test, debe ser integrado junto con datos clínicos y otras pruebas de laboratorio.
4. El límite de linealidad depende del ratio muestra:reactivo, también del analizador utilizado. Será mayor cuando menor sea el volumen de muestra, aunque la sensibilidad de la prueba se verá disminuida.
5. En analizadores automáticos con capacidad para el re-ensayo de muestras elevadas, realizar una dilución 1:10 de la muestra para obtener un rango del test de 26.000 ng/mL.
6. En analizadores automáticos, evitar la presencia de burbujas en las botellas de los reactivos ya que pueden interferir en un los resultados obtenidos.
7. Los niveles de D-Dímero pueden expresarse en ng FEU/mL. FEU son las siglas de Unidades Equivalentes de Fibrina. El factor de equivalencia entre las dos unidades es de aproximadamente 1 ng FEU/mL ~ 0,5 ng D-Dimer/mL.
8. En condiciones fisiológicas la presencia de la $\alpha 2$ -antiplasmina evita la formación del fragmento D a partir del fibrinógeno.
9. Aunque no se hayan observado reacciones cruzadas con anticuerpos anti-ratón humanos (HAMA), no se puede descartar una sobreestimación de los niveles de D-Dímero en alguna muestra.
10. Como aún no existe un estándar internacional de D-Dímero, se ha preparado un estándar interno siguiendo los criterios y recomendaciones propuestas por Nieuwenhuizen W. and Meijer Piet para la armonización de los resultados de D-dimer.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nieuwenhuizen W. A reference for harmonisation of D-Dimer assays, Thrombosis and Haemostasis. 1997; 77 (5): 1031-1033.
2. Mojca Stegnar. et al. Determination of D-Dimer by different quantitative assays. Biochemia Medica. 2008; 18 (2): 216-23.
3. Meijer Piet, et al. A model for the harmonization of test results of different quantitative D-Dimer methods. Thrombosis and Haemostasis. 2006; 95: 567-72.
4. Wilson David B. Evaluation of and automated Latex enhanced turbidimetric D-Dimer test. Am J Clinical Pathology 2003; 120:930-937.
5. Legnani C. et al. Different cut-off values of quantitative D-Dimer methods. Haematologica. 2008; 96 (6).
6. Kelly J. et al. Plasma D-Dimers in the diagnosis of venous thromboembolism. Arch intern Med. 2002;162:747-756.
7. Righini M. et al. Clinical usefulness of D-Dimer depending on clinical probability and cutoff value. Arch intern Med. 2004;164:2483-2487.
8. Wells Philip S. Evaluation of D-Dimer in the diagnosis of suspected Deep-Vein thrombosis. New England J of Med. 2003;349:1227-1235.
9. Soheir S. Adam, et al. D-Dimer antigen: current concepts and future prospects. Blood J. 2009;113 (13).
10. Greenberg CS, et al. Measurement of plasma fibrin D-Dimer levels with the use of a monoclonal antibody coupled to latex beads. Am J Clin. path. 1987; 87:94-100.
11. Brown Michael D. et al. Turbidimetric D-Dimer test in the diagnosis of pulmonary embolism: a Metaanalysis. Clinical chemistry 2003;49:1846-1853.
12. Gaffney PJ, et al. Monoclonal antibodies to crosslinked fibrin degradation products. British J. of Haematology. 1988;68:83-90.
13. CLSI Document H21-A5: Collection, Transposrt, and processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation assays; Approved Guideline Flth Edition.
14. Francalanci I. et al. D-dimer concentrations during normal pregnancy, as measured by ELISA. Thromb. Res. 1995; 78(5): 399-405.

T3145-02/1506
R1.cas

