



## Liatest® D-DI

### Determinación inmunoturbidimétrica del dímero D

- Contenido del kit:
- 6 viales de Reactivo 1 (Buffer)
- 6 viales de Reactivo 2 (Latex)

(REF 00515)

Agosto 2012



Español

## 1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

El kit STA® - Liatest® D-DI está diseñado para la determinación cuantitativa del dímero D en el plasma por el método de inmunoturbidimétrico (9) en los analizadores STA®-R, STA Compact® y STA Satélite®. El ensayo STA® - Liatest® D-DI puede ser usado como ayuda en el diagnóstico de las trombosis venosas profundas (TVP) y el tromboembolismo pulmonar (TEP) (12, 16, 18).

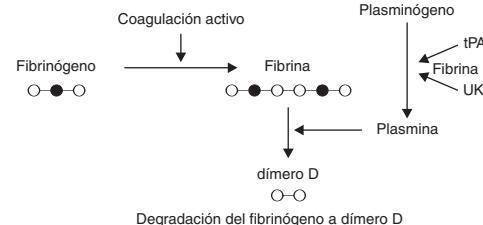
## 2/ SUMARIO

### Fibrinólisis

La degradación específica de la fibrina (e.j.: fibrinólisis) es el mecanismo de respuesta a la formación de fibrina (1).

La plasmina es la enzima fibrinolítica derivada del plasminógeno inactivo. El plasminógeno es convertido en plasmina por los activadores plasminogénicos. Los principales activadores plasminogénicos son el activador del plasminógeno de tipo tisular (tPA) y la pro-urokinasa, que es activada en uroquinasa (UK) por diferentes sistemas, entre ellos el sistema de contacto de la coagulación (2).

En el torrente sanguíneo, la plasmina es rápida y específicamente neutralizada por la  $\alpha_2$ -antiplasmina (2), restringiendo así su actividad fibrinolítica, y localizando la fibrinolisis sobre el coágulo de fibrina. En el coágulo de fibrina la plasmina degrada la fibrina en varios productos, para los cuales se han desarrollado anticuerpos específicos, que no reconocen el fibrinógeno (3). La presencia de estos diversos productos de la degradación de la fibrina, entre los cuales el dímero D es el producto terminal, es probable que el sistema fibrinolítico esté en acción como respuesta a la activación coagulatoria.



### Aplicaciones Clínicas

#### - Coagulación intravascular diseminada (CID)

En la CID el sistema fibrinolítico es activado y, consecuentemente, aumenta el nivel de dímero D. La dosificación del dímero D puede ayudar al diagnóstico de CID (11).

#### - Trombosis

Un nivel normal de Dímero D es un elemento importante en el diagnóstico de exclusión de una trombosis venosa profunda o del tromboembolismo pulmonar (4, 5, 8). Sin embargo, se recomienda efectuar la valoración del Dímero D antes de iniciar cualquier tratamiento anticoagulante (14).

Se ha reportado en diversos estudios que utilizan el STA® - Liatest® D-DI, que con un valor umbral (cut-off) de 0,50 µg/ml (FEU), el valor predictivo negativo (VPN) de exclusión de la trombosis varía entre 95 % y 99 % (3, 13, 15, 17).

- Resultados de los estudios con TVP: número total de pacientes estudiados = 636, de los que 224 pacientes presentaron una TVP documentada por puntuación de probabilidad clínica + Sonografía Doppler, VPN = 95 a 100 % (intervalo de confianza 95 %).

- Resultados de los estudios con TEP: número total de pacientes estudiados = 590, de los cuales 233 pacientes presentaron un TEP documentada por puntuación de probabilidad clínica + escintigrafía y/o angiografía; VPN = 98 a 100 % (intervalo de confianza 95 %).

En los estados trombóticos, tras suspender el tratamiento anticoagulante se puede observar un incremento de los niveles del dímero D. Este aumento parece constituir un riesgo de recusión especialmente en las trombosis idiopáticas. Así mismo, ciertos autores consideran que hay que tener en cuenta la evolución de los niveles de dímero D en el seguimiento terapéutico de dichos pacientes (10).

- Activación de estados de coagulación

El nivel de Dímero D aumenta durante la activación de estados de coagulación, dado que dichos estados generan la producción de trombina, seguida por la formación de fibrina, y llevan a la fibrinolisis, siendo esta última con mayor frecuencia reactiva.

Así, el incremento de los niveles del dímero D se observa en las siguientes situaciones (11): períodos postoperatorios, cáncer, hemorragias, patologías infecciosas graves.

## 3/ PRINCIPIO DEL TEST

Esta determinación se basa en el aumento de la turbidez de una suspensión de micropartículas de látex medida mediante fotometría. Cuando las microesferas del látex, sobre cuya superficie se han fijado por covalentemente anticuerpos específicos del dímero D, se mezcla con el plasma, cuyo nivel de dímero D se desea estudiar, la reacción antigeno-anticuerpo que ocurre provoca la aglutinación de las microesferas. Este fenómeno conduce al aumento de la turbidez de la mezcla de reacción y por lo tanto a un aumento de la absorbancia del medio. La magnitud de este aumento es función de la cantidad del dímero D contenida en el plasma en estudio.

## 4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Cada estuche de STA® - Liatest® D-DI contiene una hoja con código de barras. Este código de barras contiene las siguientes informaciones: número de lote, referencia del kit, referencia de los reactivos, fecha de caducidad, parámetros para la calibración de la dosificación.

### • Reactivo 1: vial de 5 ml de tampón Tris.

• **Reactivo 2:** vial de 6 ml de suspensión de micropartículas de látex recubiertas con dos tipos de anticuerpos monoclonales de ratón anti-dímero D humano (BD2 y 2.1.16) y posteriormente estabilizados (con albúmina bovina).

Estos reactivos contienen azida sódica (< 1 g/ml) como conservante. Es preciso eliminar con precaución los reactivos que contienen azida sódica. Si estas soluciones se vierten en el desagüe del lavabo, enjuagar con abundante agua para evitar la formación de azidas metálicas que, si están concentradas, pueden provocar explosiones.

Algunos reactivos de este kit contienen productos de origen humano y/o animal. Cuando se han utilizado productos de origen humano y/o animal, se debe tener en cuenta la presencia del antígeno HBs de los anticuerpos anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2 con los correspondientes análisis. Sin embargo, ningún test puede garantizar de manera absoluta la ausencia de agentes infecciosos. Por eso, estos reactivos de origen biológico han de ser manipulados con las precauciones habituales, ya que se trata de productos potencialmente infecciosos.

## 5/ PRECAUCIONES

El estuche intacto se debe conservar a 2-8 °C. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. Estos reactivos sólo deben ser utilizados por personal autorizado del laboratorio. Utilizar únicamente reactivos de un mismo kit o de un mismo lote. Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente.

El estuche STA® - Liatest® D-DI está diseñado para los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar estos reactivos. Antes de cualquier utilización, leer con atención el "Manual del Operador" del instrumento utilizado. Tener cuidado en el manejo de estos reactivos y las muestras.

## 6/ OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

La obtención de la muestra debe ajustarse a las recomendaciones para las pueblas de hemostasia.

- Obtención: 9 vol. de sangre por 1 vol. de citrato trisódico 0,109 M.
- Centrifugación: 15 minutos a 2000-2500 g.
- Conservación del plasma: 8 horas a 20 ± 5 °C  
1 mes a -20 °C. Atemporar la muestra a 37 °C, el tiempo necesario y suficiente para que la descongelación sea completa.

## 7/ PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS REACTIVOS

### • Preparación

Dejar que los Reactivos 1 y 2 se establezcan durante 15 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C). Antes de utilizarlos, homogeneizarlos suavemente evitando que se formen burbujas. Poner un STA® - mini Reducer nuevo (REF 00797) y la cápsula operculada.

### • Conservación

Conservados a 2-8 °C en su embalaje original, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.

Una vez abiertos, los Reactivos 1 y 2 con un STA® - mini Reducer y la cápsula operculada son estables 15 días en STA-R®, STA Compact® y STA Satélite®.

## 8/ REACTIVOS Y MATERIALES AUXILIARES

- STA® - Owren-Koller (REF 00360).
- STA® - Liatest® Control [N] + [P] (REF 00526).
- STA-R®, STA Compact® o STA Satélite®.
- STA® - mini Reducer (REF 00797).
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

## 9/ PROCEDIMIENTO

### 9.1. Calibración

Los reactivos están precalibrados; esta calibración previa es válida para todos los estuches de un mismo lote.

Para introducir la curva de calibración en el aparato, pasar el código de barras impreso en la hoja por delante del lector de códigos de barras del aparato. Una vez realizada la dosificación del dímero D de dos controles, uno normal (STA® - Liatest® Control [N]) y otro anormal (STA® - Liatest® Control [P]), la calibración será válida para todo el lote. La curva de calibración se puede ver en la pantalla del instrumento con la ayuda del menú "Calibración" (ver el "Manual del Operador").

## 9.2. Plasmas a analizar

Los plasmas a testar han de estar sin diluir. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del instrumento utilizado). Seleccionar el(s) test(s) a efectuar en los plasma de pacientes.

### 9.3. Controles

Los controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Utilizar el kit STA® - Liatest® Control [N] + [P]. Preparar estos controles y transferir la información contenida en los códigos de barras impreso en su respectivo inserto al instrumento. Estos controles se utilizan han de estar sin diluir.

### 9.4. Dosificación

Para la realización de la dosificación, seguir uno de los dos protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento.

El aparato lleva a cabo automáticamente la dosificación del Dímero D de los plasmas a probar a 540 nm a medida que se van introduciendo las muestras. Si cualquiera de los resultados del paciente queda fuera del rango de trabajo de la dosificación, el instrumento evaluará automáticamente la muestra empleando una dilución apropiada, siempre que esta opción haya sido introducida en la configuración de la prueba (ver el "Manual del Operador").

## 10/ RESULTADOS

El nivel de dímero D (µg/ml) de las muestras analizadas aparece en tiempo real en la pantalla del aparato (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente. Los niveles de dímero D se expresan en **unidades equivalentes de fibrinógeno (FEU)**.

Por definición, una FEU es la cantidad de fibrinógeno inicialmente presente que lleva al nivel observado de dímero D. La cantidad actual de dímero D es aproximadamente la mitad de un FEU. Por ejemplo, un valor de 0,50 µg/ml FEU es aproximadamente 0,25 µg/ml (dímero D actual).

Si el aparato señala que los resultados obtenidos para los controles se sitúan fuera del intervalo de valores indicado en la hoja incluida en el estuche, es preciso asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, calibración, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

## 11/ LIMITACIONES

• Es posible que se subestime el nivel de dímero D de los plasmas especialmente turbios (el valor de la absorbancia a 540 nm del plasma diluido al 1/6 en STA® - Owren-Koller debe ser inferior a 0,35).

• Las concentraciones de productos de degradación del fibrinógeno mayores de 15 µg/ml pueden llevar a una sobre estimación de los niveles de dímero D.

• La presencia del factor reumatoide a concentraciones superiores a 50 UI/ml puede hacer que se sobreestime el nivel de dímero D.

• Se ha demostrado que la hemoglobina, la bilirrubina conjugada, la bilirrubina no conjugada, las heparinas no fraccionadas y las heparinas de bajo peso molecular no interfieren con la determinación si sus concentraciones son inferiores, respectivamente, a 2 g/l, 290 mg/l, 200 mg/l, 2 UI/ml y 2 UI anti-Xa/ml. Análisis efectuados conforme a la guía EP7-A2 de CLSI (21).

• La presencia de anticuerpos anti-albúmina bovina y/o anti-ratón en ciertos sujetos puede hacer que se sobreestime el nivel de dímero D.

## 12/ VALORES NORMALES

Generalmente, el valor plasmático del dímero D en el adulto es inferior a 0,50 µg/ml (FEU) (6).

Con la edad y durante el embarazo se observa un aumento del valor de dímero D (6, 7, 11).

## 13/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

### • Umbral de detección

El límite de detección se estableció según la guía EP17-A de la CLSI (20). El límite de detección en el STA-R®, STA Compact® y STA Satélite® es de 0,27 µg/ml (FEU).

### • Intervalo de medición

El intervalo de medición de este método está entre 0,27 y 4,00 µg/ml (FEU). Sin embargo en caso de uso del procedimiento con dilución automática de la muestra, el rango de ensayo corregido es en efecto, hasta 20 µg/ml (FEU). Si el procedimiento sin dilución es usado, el rango de ensayo es 0,27 a 4,00 µg/ml.

### • Efecto Hook

No se ha observado efecto Hook. Los niveles de dímero D de todos los plasmas analizados conteniendo niveles de dímero D tan altos como 500 µg/ml (FEU) se encontraron por encima del límite del rango de trabajo del ensayo de 4 µg/ml (e.j.: > 20 µg/ml debido a la dilución).

### • Especificidad

La valoración STA® - Liatest® D-DI no es sensible al fibrinógeno y al fragmento E. Una actividad cruzada se observa con el fragmento D. Sin embargo, este no tiene efecto debido a que *in vivo* en condiciones fisiológicas, la presencia de  $\alpha_2$ -antiplasmina se opone a la producción del fragmento D a partir del fibrinógeno.

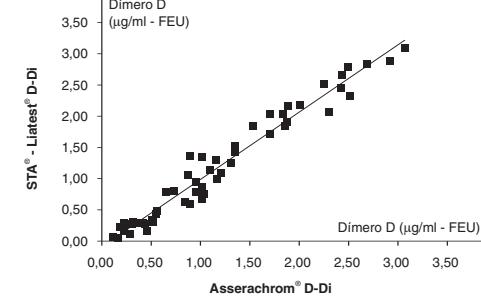
## • Precisión

Se desarrollaron estudios de precisión según la guía EP5-A2 de la CLSI (19), (20 días, 2 corridas por día) en el STA-R®. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio	
Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2
0,67	2,20	0,67	2,20
0,042	0,049	0,049	0,085

## • Comparación de datos

Un estudio de correlación en 53 plasmas en los cuales el nivel de dímero D estaba en el rango < 0,27 - 3,09 µg/ml (FEU) se ha llevado a cabo con los kits STA® - Liatest® D-DI y Aserachrom® D-DI, este último kit de referencia para exclusión de trombosis. Los resultados obtenidos son los siguientes:  $r = 0,98$ , pendiente = 1,08 e intercepto = -0,088.



## BIBLIOGRAFÍA

- FRANCIS C.W., MARKHAM R.E., MARDELL V.J.: "Demonstration of in situ fibrin degradation in pathologic thrombi". *Blood* 63, 5, 1216-1224, 1984.
  - BACHMANN F.: "Fibrinolysis" in "Thrombosis and Haemostasis", Verstraete M., Vermeylen J., Lijnen H.R., Arnout J., Leuren: International Society on Thrombosis and Haemostasis and Leuven University Press, 227-265, 1987.
  - SORIA C., SORIA J., MIRSHAMI MC., MIRSHAMI M., LU H., FAIVRE R., NEUHART E., BOUCHEIX C.: "The measure of D-dimers and its clinical interest". *Sang Thromb Haemost*, 71, 1, 310-319, 1989.
  - HARRISON K.A., HAIRE W.D., PAPPAS A., PURCELL G.L., PALMER S., HOLDEMAN K.P., FINK L.M., COOPER D., STANLEY D.: "A useful tool for evaluating suspected pulmonary emboli". *J. Nucl. Med.* 34, 6, 896-898, 1993.
  - BOUNAMEAUX H., DE MOERLOOSE P., PERRIER A., REBER G.: "Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview". *Thromb. Haemostasis*, 71, 5, 581-586, 1994.
  - GRANISANTE C., FIOTTI N., CATTIN L., DA COL P.G.: "Fibrinogen, D-dimer and thrombin-antithrombin complexes in a random population sample: relationships with other cardiovascular risk factors". *Thromb. Haemostasis*, 71, 5, 587-591, 1994.
  - FRANCALANCI I., COMEGLIOL P., ALESSANDRO LIOTTA A., CELLA A.P., FEDRI S., PARTELLI E., TOLLO G., PRISANDI D.: "D-dimer concentrations during normal pregnancy, as measured by ELISA". *Thromb. Haemost* 78, 5, 399-405, 1995.
  - BOUNAMEAUX H.: "Hypercoagulable states of acute venous thrombosis and pulmonary embolism". In: *Hypercoagulable states*, Seghers M.J., Samama M.M., Hecker S.P., Boca Raton: CRC Press, 129-137, 1996.
  - OGER E., LEROY C., BRESSETTE L., NONENT M., LE MOIGNE E., BIAZIAS E., AMIRAL J., GRIMAUX M., CLAVIER J., ILL P., ABGRALL J.F., MOTTERIE R.: "A new rapid and quantitative D-dimer test in patients with suspected pulmonary embolism". *Am. J. Res. Crit. Care Med.*, 156, 1-6, 1998.
  - KEVORIAN J.-P., APARICIO C., MAZOYER E., BONNIN P., DUET M., WARNET A., ELKHARRAT D., BEAUFILS P., DROUET L., SORIA J., SORIA C.: "A new clinical interest for D-dimers determination: follow up of patients with deep vein thrombosis". *Thromb. Haemost.*, 105, 45-47, 2002.
  - LECOURVOISIER C., TOULON P.: "Intérêt des dosages des D-dimères dans le diagnostic d'exclusion de l'embolie pulmonaire". *Ann. Biol. Clin.*, 59, 6, 693-700, 2001.
  - AGUILAR C., MARTINEZ A., MARTINEZ A., DEL RIO C., VASQUEZ M., RODRIGUEZ F.J.: "Diagnostic value of D-dimers in patients with low clinical pretest probability". *Thromb. Res.*, 105, 47-52, 2002.
  - COUTURIARD E., KEARON C., BATES S.M., GINSBERG J.S.: "Decrease in sensitivity of D-dimer for acute venous thromboembolism after starting anticoagulant therapy". *BloodCoag. Fibrinolysis*, 13, 241-246, 2002.
  - SCHUTGENS R.E.G., HAAS F.J.L.M., GERRITSSEN W.B.M., VAN DER HORST F., NIEUWENHUIS H.K., BIESCH D., VAN DER PLAS M.: "The usefulness of five D-dimer assays in the exclusion of deep venous thrombosis". *Arch. Intern. Med.*, 162, 93-97, 2002.
  - KULSTAD E.B., KULSTAD C.E., LOVELL E.O.: "A rapid quantitative turbimetric D-dimer assay has high sensitivity for detection of pulmonary embolism in the ED". *American Journal of emergency medicine*, 22, 2, 111-114, 2004.
  - PALUD L., LAURENT M., GUERET P., MEUNIER C., GARIN E., BENOIT P.O., BELLEGUIC C., BERNARD DU HAUT CILLY F., ALMANGE C., DAUBERT J.C.: "Intérêt de l'association du dosage des D-dimères et de l'évaluation de la probabilité clinique dans une stratégie diagnostique non invasive de l'embolie pulmonaire". *Arch. Intern. Med.*, 164, 93-97, 2004.
  - RATHBUN S.W., WHITSETT T.L., RASPBORG G.I.: "Negative D-dimer result to exclude recurrent deep venous thrombosis". *Ann. Intern. Med.*, 141, 11, 839-846, 2004.
  - CLSI Document EP5-A2 : "Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline". Second Edition, 24, 25, 2004.
  - CLSI Document EP17-A : "Protocol for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline". First Edition, 24, 34, 2004.
  - CLSI Document EP7-A2 : "Interference testing in clinical chemistry; approved guideline". Second Edition, 25, 25, 2005.
- Los cambios significativos son indicados por las líneas punteadas en el margen.
- DIAGNOSTIC STAGO S.A.S.  
9 rue des Frères Chausson  
92600 Asnières sur Seine (France)  
+33 (0)1 46 88 20 20  
webmaster@stago.com
- Las informaciones y las imágenes contenidas en este documento están protegidas por copyright y otros derechos de propiedad intelectual. © 2012 Diagnostic Stago, todos derechos reservados. Los logotipos y/o los nombres de los productos de Diagnostic Stago son marcas registradas.