

## Quantitative measurement of D-dimer in human plasma or serum

### IVD

Store 2 - 8°C.

### PRINCIPLE OF THE METHOD

D-dimer in the sample reacts with the anti-human D-dimer mouse monoclonal antibody-coated latex, resulting in agglutination and elevation of turbidity. The resulting turbidity changes are then measured using a spectrophotometer, allowing quantitative measurement of the D-dimer concentration in the sample.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

D-dimer is a type of fibrin degradation products (FDP) composed of stable fibrin degraded by plasmin. Stable fibrin is crosslinked by the action of coagulation factor XIII in the blood coagulation and fibrinolysis system. Various types of D-dimer molecules exist in the blood, including YY/DXD, YD/DY, DD/E and DD complex.

Increasing in the level of D-dimer in the blood proves thrombus production, as well as the efficacy of fibrinolysis. Increasing in the level of D-dimer is also known to be associated with various diseases, including malignant tumors, obstetric diseases, vascular lesions, and DIC (disseminated intravascular coagulation syndrome).

### REAGENTS

<b>Diluent (R1)</b>	Tris (hydroxymethyl aminomethane) buffer (pH 8.5)
<b>Latex (R2)</b>	Anti-human D-dimer mouse monoclonal antibody-coated latex (2.8 mg/mL)
<b>Optional</b>	Ref. 1709111 D-Dimer CAL (Calibrator)
<b>Optional</b>	Ref.1709114 D-Dimer Control

### PREPARATION

**Reagents:** Ready to use.

### PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found negative for the presence of HBsAg, HCV and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

The reagents contain Proclin 300 as a preservative. Therefore, if the reagents come in contact with skin or clothes, rinse immediately with plenty of water, and consult the doctor if skin irritation develops.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Frozen Latex and Diluent could change the functionality of the test. Protect the reagents from direct sunlight.

**Reagent deterioration:** Presence of particles and turbidity.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 570 nm filter (560 – 580 nm).

### SAMPLES

Serum or citrated plasma can be used. When using serum, whole blood should be collected with the specific tube for FDP containing thrombin and aprotinin.

Stable 1 day at 2-8°C and 1 month at -80°C.

Do not repeat the freeze-thaw cycle for samples.

### PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.

2. Assay conditions:

Wavelength : 570 nm (560-580 nm)  
 Temperature : 37 °C  
 Cuvette lighth path : 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

R1. Diluent (µL)	400
Calibrator or Sample (µL)	48

5. Incubate for 5 min at 37°C.

6. Pipette:

R2. Latex (µL)	400
----------------	-----

7. Mix and read the absorbance after 30 sec (A1) and 1,4 minutes (A2) of the R2 addition.

**Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ( $A_2 - A_1$ ) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the D-Dimer concentration of each calibrator dilution. D-Dimer concentration in the sample is calculated by interpolation of its ( $A_2 - A_1$ ) in the calibration curve.

### QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES

Normal Range

1.0 µg/mL or lower

There may be non-specific reaction or interfering reactions. When a plasma sample is inappropriately collected, false values which are higher than the actual values may be obtained. If measurement results appear unreliable, repeat the measurement (if necessary after dilution) or try another analytical measurement.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Measurement range:** Up to 60 µg/mL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit and measurement range depends on the sample to reagent / ratio, as well as the analyzer used. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- Limit detection:** Values less than 0,5 µg/mL give non-reproducible results.
- Sensitivity:**  $\Delta$  0.01-0.05/min per 10 µg/mL of D-Dimer.
- Accuracy:** Results obtained using this reagents (y) were compared to those obtained using a Latex turbidimetric method (x). 120 samples were assayed by both methods. The correlation coefficient (r) was 0.99 and the regression line equation  $y = 0.97x + 0.81$ .

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

Hemoglobin (500 mg/dL), bilirubin-C (21 mg/dL), bilirubin-F (17 mg/dL), and rheumatoid factors (500 IU/mL), do not interfere. Other substances may interfere.

### NOTES

Clinical diagnosis should be not made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

### BIBLIOGRAFIA

- 1) Endo Tet al. Rinsho Kensa Guide 2003; 698.
- 2) Takada A et al. Japanese Journal of Clinical Automation, 2005; 30:721.
- 3) Kikuchi M et al. Journal of the Japanese Society for Laboratory Hematology, 2005; 6: 349.

### PACKAGING

Ref.: 1709231

Cont.	R1. Diluent: 2 x 10 mL
	R2. Latex: 2 x 10 mL

**Determinación cuantitativa de Dímero-D en suero o plasma humano IVD**

Conservar a 2 - 8°C.

**PRINCIPIO DEL METODO**

El Dímero-D presente en la muestra del paciente reacciona con partículas de látex recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-Dímero-D humano, resultando en una aglutinación y aumento de la turbidez. Los cambios de turbidez resultantes se miden usando un espectrofotómetro, permitiendo una determinación cuantitativa de la concentración de Dímero-D en la muestra.

**SIGNIFICADO CLINICO**

El Dímero-D es un tipo de producto de degradación de fibrina (PDF) compuesto por fibrina estable degradada por plasmina. La fibrina estable sufre una conjugación cruzada por acción del factor de coagulación XIII en el sistema de fibrinólisis y coagulación sanguínea.

Existen varios tipos de Dímero-D en la sangre, incluyendo los complejos YY/DXD, YD/DY, DD/E y DD.

El aumento del nivel de Dímero-D en la sangre demuestra la producción de un trombo, así como la eficacia de fibrinólisis. El aumento del nivel de Dímero-D es también conocido por estar asociado a diversas enfermedades, incluyendo tumores malignos, las enfermedades obstétricas, lesiones vasculares, y CID (síndrome de coagulación intravascular diseminada).

**REACTIVOS**

<b>Diluyente (R1)</b>	Tampón Tris (hidroximetil aminometano) (pH, 8,5).
<b>Látex (R2)</b>	Partículas de látex cubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-Dímero-D humano (2.8 mg/mL)
<b>Opcional</b>	Ref: 1709111 Dímero-D CAL (calibrador)
<b>Opcional</b>	Ref: 1709114 Dímero-D Control

**PREPARACION**

**Reactivos:** Listo para el uso.

**PRECAUCIONES**

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

Debido a que los reactivos contienen Proclin 300, en caso de contacto con la piel o la ropa, lavar abundantemente con agua, y consultar al médico en caso de irritación de la piel.

**CONSERVACION Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

La congelación de los reactivos podría alterar la funcionalidad del ensayo. Proteger los reactivos de la luz solar directa.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:** Presencia de partículas y turbidez.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable a 37°C para lecturas a 570 (560-580nm).

**MUESTRAS**

Suero o plasma tratado con citrato de sodio. Cuando se usa suero, se debe recoger la sangre total con un tubo específico para PDF que contiene trombina y aprotinina.

Estable 1 día a 2-8°C o 1 mes a -80°C.

No congelar-descongelar las muestras más de una vez.

**PROCEDIMIENTO**

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 570 nm (560 – 580)

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

R1 Diluyente (µL)	400
Calibrador o muestra (µL)	48

5. Incubar durante 5 min a 37°C.

6. Pipetear:

R2 Látex (µL)	400
---------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia a los 30 segundos (A<sub>1</sub>) y a los 1.4 minutos (A<sub>2</sub>) de la adición del R2.

**Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.**

**CALCULOS**

Calcular la diferencia de absorbancias (A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de Dímero-D de cada dilución del Calibrador. La concentración de Dímero-D de la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) en la curva de calibración.

**CONTROL DE CALIDAD**

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del suero control de Dímero-D.

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 DE REFERENCIA**

Rango normal:

Hasta 1.0 µg /mL.

Puede haber una reacción no específica o reacciones interferentes. Cuando la muestra de plasma no se recoge apropiadamente, se pueden obtener falsos resultados mayores a los valores reales. Si se obtienen resultados dudosos, repetir la medida (en caso necesario después de una dilución), o intentar otra medida analítica.

**CARACTERISTICAS DEL METODO**

1. **Rango de medida:** Hasta 60 µg /mL, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. Muestras de concentraciones superiores deben diluirse 1/5 en NaCl 9 g/L y ensayarse nuevamente. La linealidad del ensayo depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.

2. **Límite de detección:** Valores por debajo de 0.5 µg /mL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Sensibilidad:** Δ 0.01-0.05/min por 10 µg/mL de Dímero-D.

4. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método turbidimétrico (x). 120 muestras se ensayaron con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0.99 y la ecuación de la recta de regresión  $y = 0.97x + 0.81$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

Bilirrubina-C (21 mg/dL), bilirrubina-F (17 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL), y factores reumatoides (500 UI/mL) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir<sup>4</sup>.

**NOTAS**

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

**BIBLIOGRAFIA**

- 1) Endo Tet al. Rinsho Kensa Guide 2003; 698.
- 2) Takada A et al. Japanese Journal of Clinical Automation, 2005; 30:721.
- 3) Kikuchi M et al. Journal of the Japanese Society for Laboratory Hematology, 2005; 6: 349.

**PACKAGING**

Ref.: 1709231

Cont.

R1. Diluyente: 2 x 10 mL

R2. Látex: 2 x 10 mL