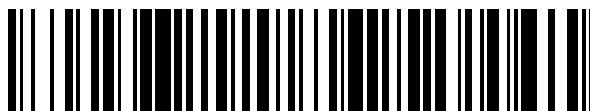


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 354**

51 Int. Cl.:

C07K 14/75 (2006.01)

G01N 33/96 (2006.01)

A61K 35/16 (2006.01)

G01N 33/86 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2008** **E 08008080 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2013** **EP 2000805**

54 Título: **Preparado líquido de dímero D estable**

30 Prioridad:

04.06.2007 DE 102007026153

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.10.2013

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS
PRODUCTS GMBH (100.0%)
GÖRZHÄUSER HOF, EMIL-VON-BEHRING-
STRASSE 76
35041 MARBURG, DE**

72 Inventor/es:

**PILGRIM, SABINE, DR. y
ZANDER, NORBERT, DR.**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 426 354 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Preparado líquido de dímero D estable

La invención se sitúa en el campo del diagnóstico de coagulación, y se refiere a un preparado líquido constituido por una matriz tampón que contiene dímero D, que es apropiado como material standard con fines de control y calibrado.

Dímero D es un parámetro de laboratorio significativo para la identificación de la activación de coagulación. El objetivo de la coagulación de la sangre es la formación de un coágulo de sangre (trombo), que debe mantener lo más reducida posible la pérdida de sangre mediante el cierre de la herida en caso de lesión. La transformación de fibrinógeno que se presenta en la sangre de forma ubicua en fibrina insoluble es un componente esencial de la formación del coágulo de sangre. El precursor de fibrina fibrinógeno es una glicoproteína dímica de gran molecularidad, que está constituida por tres pares de cadenas (cadenas α , β y γ), que están unidas entre sí mediante puentes disulfuro. La formación de fibrina se efectúa mediante una secuencia de procesos enzimáticos, proteolíticos. En primer lugar, la trombina disocia el fibrinopéptido A de las regiones N-terminales de las cadenas α , y después el fibrinopéptido B de las cadenas β de fibrinógeno, mediante lo cual se produce la DesAABB-fibrina en forma de monómero. Estos monómeros de fibrina solubles polimerizan espontáneamente para dar fibras largas, y finalmente para dar un retículo denso ramificado, siendo aún soluble esta forma de fibrina. Esta fibrina, aún relativamente inestable, se estabiliza finalmente mediante la actividad del factor de coagulación sanguíneo XIIIa (F XIIIa), reticulando en transversal F XIIIa en primer lugar las cadenas Y de fibrina para dar dímeros, y finalmente las cadenas α para dar polímeros. Como antagonista del sistema de coagulación sanguíneo actúa el sistema de fibrinólisis, cuya tarea es disolver de nuevo el coágulo de sangre y garantizar de este modo, por ejemplo, la recanalización del vaso sanguíneo. Durante la fibrinólisis se disocian mediante proteólisis tanto fibrinógeno, como también fibrina a través de plasmina, formándose diversos productos de disociación, ahora nuevamente hidrosolubles. Los productos de degradación de fibrinógeno y fibrina se diferencian. El mínimo producto de degradación específico de fibrina es el dímero D, que está constituido por dominios D unidos mediante enlace covalente mediante FXIIIa. Por lo tanto, el dímero D es apropiado como marcador de fibrinólisis, y constituye un parámetro diagnóstico significativo para la identificación de la activación de la coagulación. Por lo tanto, en el diagnóstico de la activación de la coagulación intravascular se emplean anticuerpos que identifican específicamente dímeros D. La determinación cuantitativa del antígeno del dímero D en muestras de plasma o suero aporta informaciones para la disgregación de trombosis venosa y embolia pulmonar, y se emplea para el diagnóstico de la coagulación intravascular diseminada.

En el estado de la técnica se conocen diversos procedimientos de ensayo para la identificación cuantitativa de dímero D en muestras de plasma o suero humanos. Los anticuerpos específicos del dímero D posibilitan tanto la aplicación de procedimientos químicos inmunológicos, como ensayo de aglutinación de látex, o de ensayo enzimático-inmunológico. En los diversos procedimientos de ensayo de dímero D es habitual emplear preparaciones que contienen dímero D de diferente concentración de antígeno de dímero D como controles o calibradores, conteniendo los controles para el intervalo de medida normal habitualmente menos de 0,5 mg/L de dímero D FEU, y conteniendo los controles para el intervalo de medida patológico más de 0,5 mg/L de dímero D FEU. FEU significa unidad equivalente de fibrinógeno, y es la unidad más común, utilizada mundialmente, para dímero D. 1 mg/L de dímero D corresponde en este caso a 2 mg/L de dímero D FEU, basándose la conversión en que a partir de una molécula de fibrinógeno se producen dos moléculas de dímero D, tras formación de fibrina y subsiguiente fibrinólisis.

Los controles o calibradores de dímero D para el control de calidad de ensayos de dímero D comerciales están constituidos habitualmente por una matriz de plasma, y se obtienen esencialmente a partir de plasma humano estabilizado, al que se añaden cantidades definidas de dímero D. Como es sabido, se puede obtener dímero D, por ejemplo, tratándose plasma humano con un activador de la coagulación, y finalmente con plasmina, mediante lo cual se desencadena en primer lugar la formación de fibrina, y a continuación la degradación de fibrina. Los dímeros D producidos en este plasma denominado de lisis de coágulo mediante la degradación de fibrina se pueden concentrar y purificar. Alternativamente, para la obtención de dímero D se puede polimerizar también fibrinógeno puro mediante adición de cloruro de calcio, F XIIIa y trombina para dar fibrina, que se degrada a continuación mediante incubación con plasmina.

La gran parte de estos controles o calibradores conocidos se liofiliza actualmente por motivos de estabilidad tras el envasado. No obstante, en principio también es posible obtener controles o calibradores de dímero D líquidos, no liofilizados, con suficiente estabilidad. Laboratorios Bio-Rad ofrece, por ejemplo, controles de dímero D líquidos a base de plasma humano (Liquichek™ D-Dimer Control, nivel 1, 2 y 3), cuyos períodos de ejecución se especifican con tres años. Otro producto líquido que contiene dímero D, en el que el dímero D se presenta en una matriz tampón estabilizada, disponía de un período de ejecución de 18 meses. En este caso, la estabilización se efectuó a través de estabilizadores generales, inespecíficos, como albúmina de vaca y aprotinina como inhibidor de proteasas de serina, como trombina o plasmina. Dempfle describe una preparación standard para ensayos de dímero D, que presenta una concentración de fibrinógeno fisiológica (Dempfle, C.-E-, D-dimer testing and venous thromboembolism: four view points. J Thromb Haemost 2005; 3: 377-9). No obstante, no son conocidos

estabilizadores o procedimientos específicos para dímero D, que son especialmente apropiados para la estabilización del analito en matriz líquida.

5 Por consiguiente, la tarea que motiva la invención consistía en poner a disposición un preparado que contiene dímero D y que dispone de una estabilidad suficiente en estado líquido, es decir, que garantiza una recuperación constante del analito dímero D.

El problema se soluciona mediante la puesta a disposición de un preparado según la reivindicación 1.

10 Es objeto de la invención un preparado constituido por una matriz tampón, que contiene dímero D y adicionalmente fibrinógeno en una concentración final de 0,1 g/L a 1 g/L, de modo especialmente preferente de 0,2 a g/L a 0,5 g/L. Se descubrió que mediante la adición de dímero D de fibrinógeno se obtienen preparados que garantizan una recuperación suficientemente constante de dímero D a una temperatura de almacenaje de 37°C hasta 24 horas, mientras que los preparados de dímero D a los que no se añade fibrinógeno, a una temperatura de almacenaje de 37°C ya después de 10 semanas, no posibilitan una recuperación aceptable de dímero D.

15 El preparado según la invención está constituido por una matriz tampón, y por ello se debe diferenciar de preparados que están constituidos esencialmente por una matriz de plasma. Los preparados basados en una matriz de plasma, que se emplean como calibradores o controles, están constituidos habitualmente por un plasma normal o deficiente, y por consiguiente contienen fibrinógeno endógeno. Un preparado según la invención basado en una matriz tampón está constituido esencialmente por una disolución tamponada, que no contiene fibrinógeno endógeno, y a la que se añade el analito dímero D, así como el fibrinógeno en forma purificada o parcialmente purificada. Para la obtención de la matriz tampón son apropiadas sobre todo sustancias que presentan un efecto tamponante en el intervalo de pH de 5 a 10. Por ejemplo son apropiados tampón fosfato, tampón acetato, tampón citrato, tampón arginina, tampón histidina y TRIS-tampón. Es especialmente preferente una matriz tampón con un valor de pH de aproximadamente 6 a 9.

25 El preparado según la invención, constituido por una matriz tampón, contiene dímero D en la pureza y concentración deseadas. En el caso del dímero D contenido en el preparado se trata de dímero D procedente de plasma de lisis de coágulo o de un producto de degradación de fibrinógeno puro, preferentemente humano, que se polimerizó, a modo de ejemplo, mediante adición de cloruro de calcio, F XIIIa y trombina para dar fibrina, y a continuación se degradó mediante incubación de plasmina, uroquinasa o elastasa, o una combinación de las mismas. La purificación o enriquecimiento de dímero D se puede efectuar mediante cualquier procedimiento que parezca apropiado al especialista. Según pureza del dímero D deseada se pueden aplicar procedimientos de purificación que posibilitan la separación de sustancias acompañantes, como hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos, proteínas y/u otras biomoléculas. Son ejemplos de procedimientos que, como es sabido, se emplean para la purificación de proteínas, procedimientos de separación cromatográficos, como la cromatografía de intercambio iónico, de filtración en gel, de interacción hidrófoba o de afinidad. Además, también se puede emplear la electroforesis en gel preparativa, la focalización isoelectrónica preparativa, la focalización cromatográfica, la precipitación y la ultracentrifugación para la purificación de proteínas a partir de una mezcla de proteínas. De modo preferente, el preparado según la invención contiene dímero D en una concentración final de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/L de dímero D FEU.

40 La adición de dímero D a la matriz tampón se puede efectuar, por ejemplo, también mezclándose un plasma de lisis de coágulo sin purificación o concentración adicional de dímero D con una disolución acuosa, tamponada. Debido al tratamiento del plasma de partida con un exceso de activador de coagulación y a la formación de fibrina conseguida de este modo, el plasma de lisis de coágulo ya no debería contener fibrinógeno endógeno. No obstante, en la práctica no se debe excluir que puedan estar contenidas trazas de fibrinógeno endógeno, que - en tanto sean identificables - no tienen una influencia decisiva sobre la estabilidad de un preparado según la invención, en un plasma de lisis de coágulo. Preferentemente, antes del mezclado se determina la concentración de dímero D del plasma de lisis de coágulo, y el plasma de lisis de coágulo se diluye con la disolución acuosa tamponada, de tal manera que en la matriz tampón resultante se alcanza la concentración de dímero D deseada. No obstante, la matriz tampón resultante no contendrá más de un 10 por ciento en volumen de plasma de lisis de coágulo. Por consiguiente, son objeto de la invención preparados que están constituidos por una matriz tampón, que contiene un 0 a un máximo de un 10 por ciento en volumen de plasma de lisis de coágulo. Según la invención son preferentes preparados que están constituidos por una matriz tampón, que contiene un máximo de un 5 por ciento en volumen, de modo especialmente preferente un máximo de un 1 por ciento en volumen, de modo muy especialmente preferente un máximo de un 0,5 por ciento en volumen.

55 La matriz tampón, que constituye un preparado según la invención, contiene además fibrinógeno de origen humano, animal (por ejemplo de vaca, caballo, gato, perro, conejo), o recombinante. En el caso del fibrinógeno contenido en la matriz tampón se trata preferentemente de fibrinógeno purificado, que es también adquirible comercialmente. La obtención de fibrinógeno puro se puede efectuar mediante cualquier procedimiento que parezca apropiado al especialista, que posibilita la purificación de fibrinógeno a partir del material crudo orgánico, en el que el fibrinógeno se presenta de manera natural, o se generó mediante técnica génica. Según pureza de fibrinógeno deseada se

5 pueden aplicar procedimientos de purificación que posibilitan la separación de sustancias acompañantes, como hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos, proteínas y/u otras biomoléculas. Las materias primas para la obtención de fibrinógeno pueden ser, por ejemplo, tejidos o líquidos corporales animales o humanos (por ejemplo sangre, plasma), restos o productos de lisis de cultivos celulares animales o humanos, o cultivos de células eucarióticas, o de microorganismos, como bacterias u hongos, que expresen fibrinógeno recombinante. Son ejemplos de procedimientos que se emplean, como es sabido, para la purificación de proteínas, procedimientos de separación cromatográficos, como la cromatografía de intercambio iónico, de filtración en gel, de interacción hidrófoba o de afinidad. Además, también se pueden emplear la electroforesis de gel preparativa, la focalización isoelectrónica preparativa, la focalización cromatográfica, la precipitación o el ultracentrifugado para la purificación de proteínas procedentes de una mezcla de proteínas. La matriz tampón, que constituye un preparado según la invención, contiene fibrinógeno en una concentración final de 0,1 g/L a 1 g/L, de modo especialmente preferente de 0,2 g/L a 0,5 g/L.

15 Preferentemente, la matriz tampón que constituye el preparado según la invención puede contener sustancias adicionales para la estabilización, como por ejemplo antioxidantes o agentes reductores para la inhibición de la degradación por oxidación, inhibidores de proteinasa para la inhibición de procesos proteolíticos, de modo especialmente preferente aprotinina, agentes quelatizantes para la disgregación de iones metálicos pesados, o bacteriostáticos y fungicidas para evitar el crecimiento microbiano, de modo especialmente preferente azida sódica. Se pueden reducir pérdidas de actividad debidas a efectos físicos, como adsorción, desnaturalización debida a superficies, desnaturalización por calor, secado, congelación y descongelación reiterada, por ejemplo, mediante adición de glicerina, hidratos de carbono, aminoácidos, polímeros hidrófilos o proteínas inertes, como albúmina de suero humana (HSA), albúmina de suero bovina (BSA) u ovoalbúmina. Además, un preparado según la invención puede contener también los denominados agentes de reposición de volumen, como por ejemplo poliglicerinas (Haemaccel®).

25 No obstante, incluso si la ventaja especial de un preparado según la invención consiste en ser especialmente estable en forma líquida, también es posible liofilizar el preparado con fines de almacenaje.

Otro objeto de la presente invención es el empleo de un preparado según la invención como control o calibrador en un procedimiento de ensayo, en especial en un procedimiento de ensayo inmuno-químico para la determinación cuantitativa de dímero D en muestras de suero o plasma humanas. De modo especialmente preferente se emplea un preparado según la invención para el control o calibrado de un procedimiento de ensayo de dímero D, en el que el antígeno de dímero D se identifica por medio del anticuerpo monoclonal 8D3 [anticuerpo 8D3 véase: Holvoet, P. et al. (1989) Binding properties of monoclonal antibodies against human fragment D-Dimer of cross-linked fibrin to human plasma clots in an in vivo model in rabbits. Thrombosis and Haemostasis 61(2): 307-313]. Preferentemente, a tal efecto se ponen a disposición varios preparados de diferente concentración de dímero D, para diferenciar nivel de dímero D normal (< 0,5 mg/L de FEU) y patológicamente elevado (> 0,5 mg/L de FEU).

35 La presente invención se refiere además a un procedimiento para la obtención de un preparado según la invención, que contiene dímero D. En el caso del procedimiento según la invención se mezcla una preparación de dímero D en matriz tampón líquida, por ejemplo dímero D purificado procedente de plasma de lisis de coágulo disuelto en una matriz tampón, con una disolución de fibrinógeno. En una forma de ejecución especialmente preferente, el preparado se incuba a +30 hasta +50°C tras el mezclado durante un intervalo de tiempo limitado. La incubación se efectúa de modo especialmente preferente a +37°C. Este paso de incubación ocasiona una estabilización del preparado líquido de dímero D. Esta incubación se efectúa preferentemente mediante incubación durante un intervalo de tiempo de 4 horas a 7 días, de modo especialmente preferente durante 12 horas hasta 3 días, antes de poder almacenar el preparado a la temperatura de almacenaje deseada (habitualmente en el armario refrigerante a +2 hasta +8°C) varios meses hasta el empleo siguiente.

45 Descripción de figuras

Figura 1

Estabilidad de dímero D en matriz tampón líquida sin fibrinógeno a diversas temperaturas de almacenaje (max, min: límites de tolerancia).

Figura 2

50 Estabilidad de dímero D en un preparado según la invención en matriz tampón líquida con 0,25 g/L de fibrinógeno a diferentes temperaturas de almacenaje (max, min: límites de tolerancia).

Figura 3

Estabilidad de dímero D en un preparado según la invención en matriz tampón líquida con 0,25 g/L de fibrinógeno sin preincubación a +37°C durante 1 semana (de -1 a 0), sino incubación a +2°C hasta +8°C, a diferentes temperaturas de almacenaje a continuación. El momento -1 semana corresponde al momento de la obtención y la determinación del valor teórico (valor teórico = línea discontinua).

5 **Figura 4**

Estabilidad de dímero D en un preparado según la invención en matriz tampón líquida con 0,25 g/L de fibrinógeno sin preincubación a +37°C durante 1 semana (de -1 a 0) a diferentes temperaturas de almacenaje a continuación. El momento -1 semana corresponde al momento de la obtención y la determinación del valor teórico (valor teórico = línea discontinua).

10 Los ejemplos descritos a continuación sirven para la explicación ejemplar de algunos aspectos de esta invención, y no se deben considerar limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1: obtención de un preparado de dímero D según la invención a pequeña escala

15 Para la obtención de dímero D se elaboró plasma de lisis de coágulo a partir de plasma normal humano mediante adición de trombina, y subsiguiente adición de uroquinasa. El plasma de lisis de coágulo obtenido de este modo contenía 1193 mg/l de dímero D FEU, y sirvió como preparación de dímero D para la obtención de los siguientes preparados a base de una matriz tampón.

Formulación 1: 3 mg/L de dímero D FEU

50 mM NaH₂PO₄

20 10 g/L de albúmina de suero bovina

0,1 % (v/v) Tween® 20

80 000 KIU/L de aprotinina

0,04 % (w/v) de azida sódica

pH 6,9

25 Formulación 2: 3 mg/L de dímero D FEU

50 mM NaH₂PO₄

10 g/L de albúmina de suero bovina

0,1 % (v/v) Tween® 20

80 000 KIU/L de aprotinina

30 0,04 % (w/v) de azida sódica

0,25 g/L de fibrinógeno humano, coagulable

(Sigma-Aldrich, nº de catálogo: F4883)

pH 6,9

35 Ambas formulaciones, con un volumen total de 0,15 L en cada caso, se diferenciaban sólo en que la formulación 2 según la invención contenía adicionalmente 0,25 g/L de fibrinógeno humano.

Ambos preparados se envasaron en recipientes de vidrio tras el mezclado de los componentes a temperatura ambiente, y se incubaron durante 3 días a +37°C. A continuación se almacenaron los preparados a +2°C hasta +8°C (temperatura de almacenaje deseada), o bien a +37°C (para la generación de plazos de estabilidad adelantados).

Tras intervalos de tiempo de almacenaje correspondientes, se determinó la concentración de dímero D con un ensayo de inmunturbidimetría reforzado con partículas de látex, que se basaba en el principio de aglutinación de látex a través del anticuerpo específico de dímero D 8D3 (Innovance® D-Dimer Test, Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, Alemania). Los resultados se representan en las figuras 1 y 2 (fig. 1: dímero D en matriz tampón líquida sin fibrinógeno (formulación 1); fig. 2: dímero D en matriz tampón líquida con fibrinógeno (formulación 2)).

Los estudios de estabilidad muestran inequívocamente que el preparado de dímero D que contiene fibrinógeno, durante un tiempo de almacenaje de 24 horas a +37°C, presenta una recuperación constante de su concentración de dímero D, si el intervalo de tolerancia inscrito entre los límites de tolerancia (max, min) se determina como criterio de aceptación. El respectivo intervalo de tolerancia (+/- 20 %) se determinó por medio de la concentración de dímero D recuperada tras la preincubación en el momento 0. En contrapartida, el preparado de dímero D sin fibrinógeno (fig. 1) no corresponde al intervalo de tolerancia para una estabilidad aceptable tras 10 semanas de tiempo de almacenaje a +37°C. Esto muestra que fibrinógeno prolonga la estabilidad de dímero D en la matriz tampón.

Ejemplo 2: obtención de preparados de dímero D a gran escala con y sin preincubación a +37°C

Para investigar el efecto de una preincubación del preparado según la invención a +37°C, se obtuvieron 10 L de un preparado de dímero D que contiene fibrinógeno según la formulación 2 (véase ejemplo 1). Una parte de este preparado se almacenó durante una semana a +2°C hasta +8°C tras el mezclado de los componentes a temperatura ambiente. Paralelamente se almacenó (preincubó) otra parte de este preparado durante una semana a +37°C. A continuación se almacenó respectivamente una parte de ambas cargas a +2°C hasta +8°C (temperatura de almacenaje deseada), o bien a +37°C (para la generación de plazos de estabilidad adelantados). Tras intervalos de tiempo de almacenaje correspondientes se determinó la concentración de dímero D (véase ejemplo 1). Los resultados se representan en las figuras 3 y 4.

Los resultados muestran que, tras preincubación del preparado de dímero D que contiene fibrinógeno en la matriz tampón a +37°C, la concentración de dímero D es ciertamente más reducida que en el momento de la obtención, pero tras la preincubación, la concentración de dímero D después de un intervalo de tiempo de 16 horas a +37°C desciende apenas en un 30 %, y a 4°C en un 2 % en comparación con el valor de partida (0 semanas) (fig. 4). Para el mismo preparado, pero sin preincubación, la concentración de dímero D tras un intervalo de 16 semanas a +37°C, descendió en un 54 %, y a 4°C descendió en un 14 % (fig. 3). Por consiguiente, un paso de preincubación a -37°C prolonga de modo claramente mensurable la estabilidad de preparados de dímero D que contienen fibrinógeno.

REIVINDICACIONES

- 1.- Preparado constituido por una matriz tampón, que contiene dímero D, caracterizado porque la matriz tampón contiene fibrinógeno en una concentración final de 0,1 g/L a 1 g/L, de modo especialmente preferente de 0,2 a g/L a 0,5 g/L.
- 5 2.- Preparado según la reivindicación 1, caracterizado porque el fibrinógeno es fibrinógeno humano o animal.
- 3.- Preparado según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el preparado es líquido.
- 4.- Preparado según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la matriz tampón contiene aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/L de dímero D FEU.
- 10 5.- Preparado según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque contiene adicionalmente una proteína inerte, preferentemente albúmina de suero de vaca, y/o un inhibidor de proteasa, y/o un detergente, y/o un aditivo con acción bactericida y/o fungicida, preferentemente azida sódica.
- 6.- Preparado según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la matriz tampón contiene un 0 a un máximo de un 10 por ciento en volumen de plasma de lisis de coágulo.
- 15 7.- Preparado según la reivindicación 6, caracterizado porque la matriz tampón contiene un máximo de un 5 por ciento en volumen, preferentemente un máximo de un 1 por ciento en volumen, de modo especialmente preferente un máximo de un 0,5 por ciento en volumen de plasma de lisis de coágulo.
- 8.- Empleo de un preparado que contiene dímero D según una de las reivindicaciones precedentes para el control o calibrado de procedimientos de ensayo para la determinación de dímero D.
- 20 9.- Empleo según la reivindicación 8 para el control o calibrado de procedimientos de ensayo basados en anticuerpos para la determinación de dímero D, en el que se emplea el anticuerpo dímero anti-D monoclonal 8D3.
- 10.- Procedimiento para la obtención de un preparado según la reivindicación 1, que contiene dímero D, caracterizado porque se mezcla una disolución de dímero D con una disolución de fibrinógeno acuosa, tamponada.
- 11.- Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque el preparado se incuba tras el mezclado durante un intervalo de tiempo limitado a 30 hasta 50°C, preferentemente a 37°C.
- 25 12.- Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque el preparado se incuba tras el mezclado durante 4 horas a 7 días, preferentemente durante 12 horas a 3 días, a 30 hasta 50°C.
- 13.- Empleo de fibrinógeno de origen humano o animal para la estabilización de un preparado, que está constituido por una matriz tampón que contiene dímero D.

Figura 1

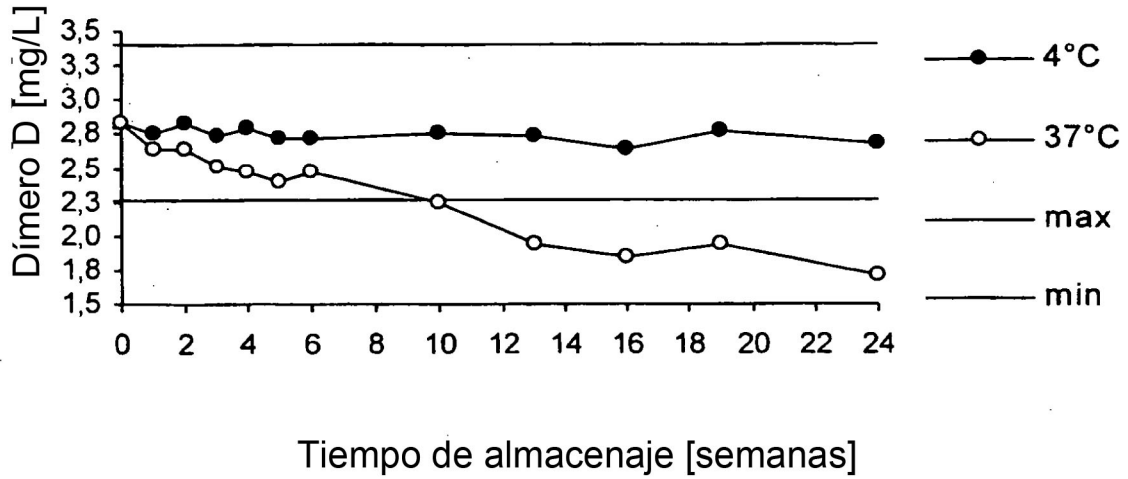


Figura 2

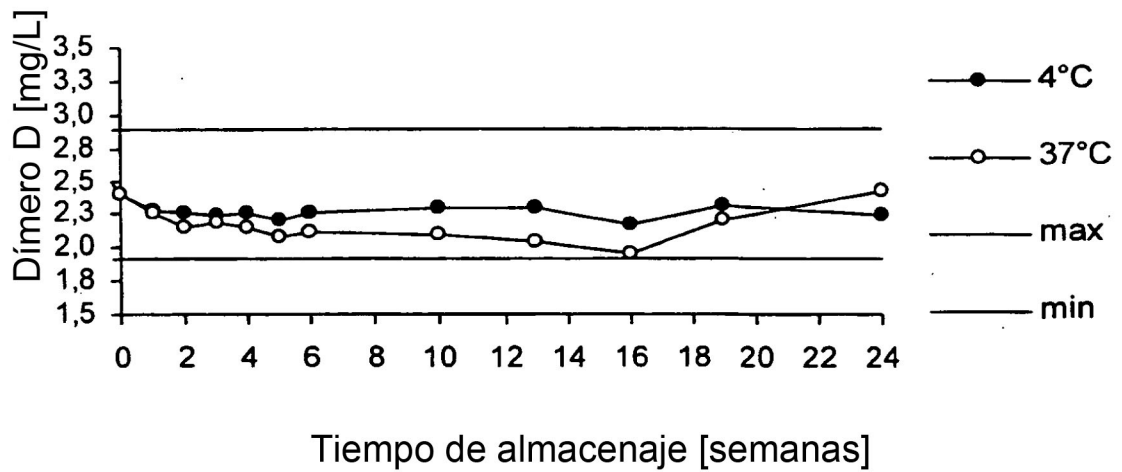


Figura 3

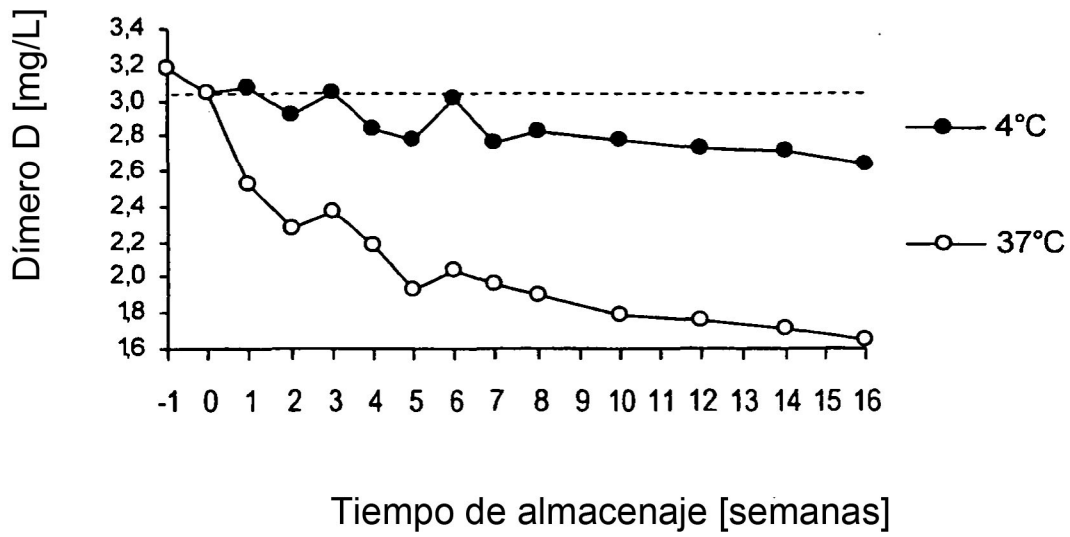


Figura 4

