

KIT DE AGLUTINACIÓN EN LÁTEX PARA DETERMINAR EL DíMERO-D

Reactivo diagnóstico para la evaluación cualitativa o semicuantitativa rápida de los derivados en circulación de los productos de degradación de la fibrina entrecruzada (PDFE) en el plasma humano.

REF	Cont.	
T9515707	1 x 2,7 ml	Látex para dímero-D
	1 x 25 ml	Tampón para dímero-D
	1 x 0,5 ml	Control positivo
	1 x 0,5 ml	Control negativo
	5 piezas	Tarjetas de prueba
	50 piezas	Bastoncillos mezcladores

Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro* profesional.

INFORMACIÓN GENERAL

Método: Aglutinación en látex
 Temperatura: 37 °C
 Muestra: Plasma con citrato de sodio

Número de pruebas
 80 pruebas método manual

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

Látex para dímero-D:

Suspensión de microesferas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales murinos contra el dímero-D, 10 mg/ml de BSA y azida sódica al 0,1%.

Tampón para dímero-D:

10 mM de solución tampón fosfatada con azida sódica al 0,1%

Control positivo:

Solución que contiene fragmento purificado de dímero-D humano, 5 mg/ml de BSA y azida sódica al 0,1%.

Control negativo:

Solución tampón que contiene 5 mg/ml de BSA y azida sódica al 0,1%.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Látex para dímero-D: Listo para usar. ¡Mezclar mediante inversión inmediatamente antes de usar!

Tampón para dímero-D: Listo para usar.

Control positivo: Listo para usar.

Control negativo: Listo para usar.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN DE LOS REACTIVOS

Condiciones: proteger de la luz; cerrar inmediatamente después de usar

Conservación: a 2 - 8 °C

El reactivo se ha deteriorado cuando el reactivo de látex no consigue realizar la aglutinación con el control positivo, cuando se produce aglutinación con el control negativo o cuando se observa contaminación microbiológica.

RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se recomienda utilizar plasma anticoagulado con citrato de sodio. La utilización de EDTA y heparina dará lugar a una mayor cantidad de reacciones positivas falsas. Tras separar el plasma por centrifugación (1500 g durante 15 minutos a 4 - 10 °C), las muestras se pueden analizar directamente para detectar la presencia de PDFE. Se recomienda desfibrinar el plasma.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Estabilidad: 2 semanas a -20 °C

Descongelar rápidamente a 37 °C las muestras congeladas y centrifugar antes de proceder al análisis.

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

No se ha observado ninguna interferencia en el ensayo en látex para el dímero-D de Dialab con muestras enriquecidas que contienen posibles sustancias causantes de interferencias a las concentraciones siguientes:

Bilirrubina	0,2 mg/ml
Triglicéridos	30 mg/ml
Hemoglobina	5,0 mg/ml
Proteínas	0,06 mg/l

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS MANUAL

Deje que los viales alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos. Antes de usar, se debe secar la punta de los cuentagotas con un paño. Los cuentagotas deben estar en posición vertical al dispensar las gotas de reactivo.



Método cualitativo:

Coloque en una tarjeta de prueba	Muestra	Ctrl. pos.	Ctrl. neg.
Muestra	20 µl	-	-
Ctrl. pos.	-	1 gota	-
Ctrl. neg.			1 gota

Coloque en una zona cercana de cada círculo:

Látex para dímero-D	1 gota	1 gota	1 gota
---------------------	--------	--------	--------

Mezcle el reactivo de látex y la muestra (control) con un mezclador hasta que el látex se haya distribuido de forma uniforme. Sacuda la tarjeta de prueba suavemente con la mano durante 3 minutos exactos.

A exactamente los 3 minutos, compruebe la aglutinación bajo una fuente de luz potente.

Nota: Si la lectura de la prueba se retrasa más de 3 minutos, la suspensión en látex puede secarse y dar lugar a un patrón de aglutinación falso. Si se sospecha lo anterior, vuelva a analizar la muestra.

En el protocolo de ensayo cualitativo, se debe obtener el siguiente patrón de resultados:

Plasma sin diluir	Concentración del dímero-D (PDFE)
Negativo	Menos de 0,20 mg/l (200 ng/ml)
Positivo	Más de 0,20 mg/l (200 ng/ml)

Nota: todos los valores en mg/l (ng/ml) son aproximados.

Método semicuantitativo

Prepare diluciones en serie del plasma de prueba con el tampón según lo siguiente:

dilución 1:2 - 100 µl de plasma más 100 µl de solución tampón

dilución 1:4 - 100 µl dilución 1:2 más 100 µl de solución tampón

dilución 1:8 - 100 µl dilución 1:4 más 100 µl de solución tampón

Las concentraciones aproximadas de PDFE, que contienen el dominio del dímero-D, para la dilución de las muestras se indican en la tabla 1. Al igual que en todas las pruebas semicuantitativas, se espera cierta variabilidad en la respuesta a la dosis.

Tabla 1

Rango aproximado del dímero-D (PDFE) mg/l (ng/ml)	Dilución de la muestra			
	Sin diluir	1:2	1:4	1:8
<0,20 (<200)	-	-	-	-
0,20 - 0,40 (200 - 400)	+	-	-	-
0,40 - 0,80 (400 - 800)	+	+	-	-
0,80 - 1,60 (800 - 1600)	+	+	+	-
1,60 - 3,20* (1600 - 3200*)	+	+	+	+

"+" = aglutinación, "-" = sin aglutinación

*Las concentraciones de PDFE mayores de 3,20 mg/l (3200 ng/ml) se pueden calcular mediante diluciones adicionales superiores a 1:8

VALORES PREVISTOS

Al utilizar el látex para dímero-D de Dialab, se debería obtener un resultado positivo, indicativo de fibrinólisis activa, cuando las concentraciones de los PDFE (dímero-D) sean iguales o mayores que unos 0,20 mg/l (200 ng/ml). Se espera que las muestras de plasma extraídas de personas sanas proporcionen resultados negativos puesto que sus concentraciones plasmáticas de PDFE son típicamente inferiores a 0,20 mg/l (200 ng/ml). Debido a numerosas variables que pueden influir en los resultados, cada laboratorio debe determinar su propio rango de valores normales.

Se han observado concentraciones altas de PDFE (que contienen el dominio del dímero-D) en pacientes mediante una combinación de inmunoprecipitación y electroforesis en gel. Los anticuerpos monoclonales permiten la detección específica del dominio del dímero D. Los anticuerpos monoclonales basados en pruebas de dímero D tienen una gran utilidad diagnóstica en la coagulación intravascular diseminada (CID) y la vasculopatía aguda, incluida la embolia pulmonar (EP) y la trombosis venosa profunda (TVP), enfermedades difíciles de detectar con fiabilidad mediante exploración clínica.

La cantidad de PDFE detectada en una muestra depende de diversos factores interrelacionados *in vivo*, como la gravedad del episodio trombótico, la velocidad de formación de fibrina entrecruzada y el tiempo que transcurre desde el episodio trombótico hasta que se extrae sangre del paciente.

También se han observado concentraciones altas de PDFE como indicador de fibrinólisis reactiva en procedimientos quirúrgicos, traumatismos, anemia deprecocítica, hepatopatía, infección grave, septicemia, inflamación y tumores malignos. La concentración del dímero D también aumenta durante los embarazos normales, pero las concentraciones muy altas pueden estar relacionadas con complicaciones.

El látex para dímero-D de DIALAB no reacciona de forma cruzada con el fibrinógeno, el fibrinógeno entrecruzado con el factor XIIIa ni los productos de degradación del fibrinógeno.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El ensayo de detección del dímero-D es un ensayo de aglutinación rápida en el que se utilizan microesferas de látex acopladas a un anticuerpo monoclonal muy específico del dímero-D. Los PDFE presentes en la muestra de plasma se unen a las esferas de látex recubiertas, lo que provoca una aglutinación fácil de ver cuando la concentración del dímero-D es superior al umbral de detección del ensayo.

REPERCUSIONES DIAGNÓSTICAS

Durante la coagulación sanguínea, el fibrinógeno se convierte en fibrina mediante la activación de la trombina. Los monómeros de fibrina resultantes se polimerizan para formar un gel soluble de fibrina no entrecruzada. A continuación, este gel de fibrina se convierte en fibrina entrecruzada mediante el factor XIII activado por la trombina y forma un coágulo de fibrina insoluble. Al formarse el coágulo de fibrina, se desencadena la



producción de plasmina, principal enzima de lisado de coágulos.

La enzima fibrinolítica plasmina rompe tanto el fibrinógeno como la fibrina, lo que da lugar a productos de degradación, pero solo productos de degradación de la fibrina entrecruzada que contiene dímero-D. Por lo tanto, los productos de degradación de la fibrina entrecruzada (PDFE) son un marcador específico de la fibrinólisis.

El diagnóstico clínico no se debe basar exclusivamente en el resultado del ensayo en látex para dímero-D de DIALAB; también se deben evaluar los signos clínicos y otra información analítica relevante al decidir el diagnóstico.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

ESPECIFICIDAD

Se analizó el plasma procedente de 170 donantes voluntarios, aparentemente sanos, con el ensayo en látex para dímero-D de DIALAB. Se obtuvo un resultado negativo en 162 de las muestras, lo que equivale a una especificidad del 95,3% (162/17).

PRECISIÓN

Precisión intraensayo

Se determinó la reproducibilidad intraensayo en 10 repeticiones de 3 muestras de plasma que contenían distintas concentraciones de PDFE. Los resultados fueron equivalentes en todas las repeticiones.

Precisión interensayo

Se determinó la reproducibilidad interensayo en 10 muestras de plasma con titulaciones de PDFE que oscilaban entre 1 y 16. En las 10 repeticiones, las muestras no variaron en más de una titulación.

COMPARACIÓN DE MÉTODOS

Se analizaron 145 muestras de plasma pertenecientes a pacientes que sufrían episodios trombóticos, o que tenían una gran probabilidad de sufrírselos, con el ensayo en látex para el dímero-D de DIALAB y con otro método de aglutinación de referencia. El coeficiente de correlación fue $r = 0,94$, y la ecuación de regresión, $y = 1,19x$.

En un estudio de anticoagulación con 50 muestras de plasma citratadas, con EDTA y con heparina, en paralelo, la correlación entre las titulaciones obtenidas con el ensayo en látex para el dímero-D de DIALAB y las titulaciones previstas (en función de los valores de PDFE de ELISA) fue $r = 0,91$ para las muestras citratadas, $r = 0,73$ para las muestras con EDTA y $r = 0,78$ para las muestras con heparina. El citrato es el anticoagulante elegido.

CONTROL DE CALIDAD

Para controlar la calidad de la prueba, se deben utilizar los controles positivos y negativos incluidos en el kit. Los controles se analizan de la misma forma que las muestras de los pacientes.

AVISOS Y PRECAUCIONES

1. Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Nocivo en caso de ingestión; evite el contacto con la piel y los ojos; no lo vacíe en desagües; lleve ropa protectora adecuada.
3. Precaución: todos los reactivos del ensayo en látex para el dímero-D de DIALAB contienen azida sódica (al 0,1%) como conservante. No lo ingiera ni lo ponga en contacto con la piel o las membranas mucosas. La azida sódica puede formar azidas explosivas en tuberías metálicas. Utilice procedimientos de desecho adecuados.
4. Todas las unidades del plasma original usadas para preparar este producto han sido analizadas con un método aprobado por la FDA con el fin de detectar la posible presencia de anticuerpos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de tipo I y tipo II, el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y el virus de la hepatitis C (VHC); todos los análisis fueron negativos (no se mostraron reactivos de forma repetida). No obstante, ninguna prueba puede garantizar plenamente que los productos derivados de sangre humana no transmitan enfermedades contagiosas. Al igual que con todos los materiales de origen humano, este producto se debe manipular como material contagioso potencial.

GESTIÓN DE LOS RESIDUOS

Remítase a la normativa local.

REFERENCIAS

1. Gaffney, P.J. Distinction between Fibrinogen and Fibrin Degradation Products in Plasma. Clin.Chim Acta. 65 (1): 109–115; 1975
2. Rylatt, D.B. et al. An Immunoassay for human D-Dimer using Monoclonal Antibodies. Thromb. Res. 31 (6):767–778; 1983
3. Whitaker, A.N. et al. Identification of D-Dimer-E complex in Disseminated Intravascular Coagulation. Thromb. Res. 18(3–4):453–459; 1980
4. Yoshiaka, K. et al. Distinction between Fibrinogen and Fibrin Products produced during Disseminated Intravascular Coagulation in Childhood. Eur. J. Pediatr. 138 (1):46-48; 1982
5. NCCLS Publication h21-A3 – collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance of coagulation assays; Approved guideline Third Edition; 1998
6. Elms, M.J. et al. Rapid Detection of Cross-Linked Fibrin Degradation Products in Plasma using Monoclonal Antibody-Coated Latex Particles. Am. J. Clin. Pathol. 85(3):360–364; 1986
7. Lane, D.A. et al. Characterisation of Serum Fibrinogen and Fibrin Fragments Produced during Disseminated Intravascular Coagulation. Br. J. Haematol. 40(4); 609–615; 1978
8. Smith, R.T. et al. Fibrin Degradation Products in the postoperative period. Evaluation of a New Latex Agglutination Method. Am. J. Clin. Pathol. 60 (5): 644–647; 1973.



DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch – technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.

A – 2351 Wiener Neudorf Austria
IZ-NÖ Süd, Hondastrasse, Objekt M55

Phone: ++43 (0) 2236 660910-0

Fax: ++43 (0) 2236 660910-30

E-Mail: office@dialab.at