



Ensayo de dímero D de Diazyme

Configuración

El reactivo del ensayo de dímero D de Diazyme se suministra con la siguiente configuración:

N.º de catálogo	Tamaño del kit
DZ179A-K	R1: 1 × 20 mL R2: 1 × 8 mL

* Los calibradores y los controles se venden por separado.

Uso previsto

El ensayo de dímero D está diseñado para la determinación cuantitativa de productos de degradación de fibrinógeno/fibrina (dímero D) en plasma humano. La medición de dímero D resulta útil para detectar la presencia de coagulación intravascular y fibrinólisis. Para uso de diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

Información general

Tras la formación de trombos se suele producir una respuesta fibrinolítica inmediata. La generación resultante de plasmina provoca la liberación en el flujo sanguíneo de productos de degradación de fibrina, los cuales contienen principalmente dímero D¹.

Principio del ensayo

El ensayo de dímero D de Diazyme es un ensayo inmunoturbidimétrico mejorado con látex. Las proteínas de dímero D de la muestra se unen a los anticuerpos anti-dímero D específicos, recubiertos de partículas de látex, lo que causa la aglutinación. El grado de turbidez provocado por la aglutinación puede medirse ópticamente y resulta proporcional al volumen de dímero D de la muestra. El equipo Roche Modular P calcula la concentración de dímero D de la muestra de un paciente mediante la interpolación de la señal obtenida de una curva de calibración de 6 puntos.

Reactivo: soluciones de trabajo

Reactivo 1

100 mM de solución de tampón Tris, pH 8,2

Reactivo 2

Suspensión de partículas de látex recubiertas de anticuerpos monoclonales de ratón antihumano de dímero D (0,2%)

Precauciones

1. Como con cualquier procedimiento de ensayo diagnóstico, la interpretación de los resultados debe realizarse teniendo en cuenta los resultados del resto de las pruebas y el estado clínico del paciente.
2. No utilice los reactivos, el calibrador y los controles después de la fecha de caducidad indicada en el embalaje externo. Se recomienda recalibrar el ensayo y utilizar controles con cada lote nuevo de reactivos.
3. Las muestras que contienen material de procedencia humana deberían manipularse como muestras potencialmente infecciosas con procedimientos de laboratorio seguros como los que se describen en Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (HHS número [CDC] 93-8395). Evite la ingestión y el contacto con la piel y los ojos.
4. Si desea obtener información de seguridad adicional relacionada con el almacenamiento y la manipulación de este producto, consulte la hoja de datos de seguridad del material de este producto. Para obtener una hoja de datos de seguridad (MSDS), póngase en contacto con nuestro departamento de atención al cliente a través del 858-455-4768.
5. No mezcle reactivos de diferentes lotes.

Advertencias

El reactivo contiene < 0,1% de azida sódica, NaN₃, a modo de conservante. La azida sódica puede reaccionar con los tubos de plomo o cobre y formar azidas metálicas altamente explosivas. Al eliminar los residuos, lave la zona con una gran cantidad de agua para evitar la creación de azidas.

Manipulación de reactivos

1. El reactivo R1 se suministra listo para su uso.
2. Mezcle cuidadosamente el reactivo R2 antes de utilizarlo y una vez a la semana a partir de entonces.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

Los reactivos, calibradores y controles del ensayo de dímero D deben conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. **NO DEBEN CONGELARSE.** Los reactivos, calibradores y controles se mantienen estables si se conservan como se especifica hasta la fecha de caducidad de la etiqueta. Las botellas de reactivo abiertas se mantienen estables durante 4 semanas si se conservan en el compartimento refrigerado del analizador Roche Modular P.

Obtención y preparación de las muestras

Para el ensayo de dímero D pueden utilizarse muestras de plasma con concentración de citrato de sodio 0,109 M (~3,2%). Mezcle la muestra invirtiéndola suavemente antes de proceder a su centrifugación. Centrifugue y separe el plasma lo antes posible después de su obtención. Las muestras pueden almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C si se van a analizar durante los próximos 4 días y durante 3 meses si se conservan a -20 °C. Para descongelar las muestras, déjelas equilibrar a temperatura ambiente y mézclelas bien antes de utilizarlas. Una vez descongelada, una muestra no puede volverse a congelar para un análisis posterior.

Materiales suministrados

Consulte el apartado "Reactivos: soluciones de trabajo" para conocer los reactivos necesarios.

Materiales necesarios (pero no suministrados)

- Los controles para validar el rendimiento del ensayo de dímero D de Diazyme se suministran por separado (n.º cat. DZ179A-CON).
- Los calibradores para el ensayo de dímero D de Diazyme se suministran por separado (n.º cat. DZ179A-CAL).
- Se requiere solución salina al 0,9% como calibrador 0.
- Equipo general de laboratorio
- Equipo Roche Modular P

Procedimiento del ensayo

Consulte la hoja de aplicación del equipo Roche Modular P para obtener instrucciones detalladas.

Calibración

Para la calibración se requieren solución salina al 0,9% y cinco niveles de calibrador de dímero D (n.º cat. DZ179A-CAL). Los valores de calibración específicos del lote se indican en el Certificado de análisis. Consulte la hoja de aplicación del equipo Roche Modular P para obtener instrucciones detalladas.

Frecuencia de calibración

La estabilidad de la calibración del ensayo de dímero D de Diazyme es de 4 semanas en analizadores Modular P. Además, se recomienda recalibrar el ensayo y utilizar controles con cada lote nuevo de reactivos. Los valores obtenidos deben encontrarse dentro de los límites definidos. Es responsabilidad de cada laboratorio establecer las medidas correctivas que deben adoptarse si los valores están fuera de los límites.

Control de calidad

Se recomienda a los laboratorios utilizar el juego de controles para dímero D de Diazyme, indicado en el apartado Materiales necesarios, para validar el rendimiento de los reactivos para dímero D. El juego de controles para dímero D puede solicitarse a Diazyme Laboratories (n.º cat. DZ179A-CON). El intervalo y los límites de control deben adaptarse a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los valores obtenidos deben encontrarse dentro de los límites definidos. Es responsabilidad de cada laboratorio establecer las medidas correctivas que deben adoptarse si los valores están fuera de los límites. Cada laboratorio debe adherirse a las directrices federales, estatales y locales referentes a la realización de pruebas con material de control de calidad.

Resultados

Los resultados se imprimen en µg/mL. Los resultados del ensayo de dímero D de Diazyme se expresan en µg/mL FEU (Unidades Equivalentes de Fibrinógeno).

Rango de referencia²

El intervalo de referencia se ha establecido en < 0,50 µg/mL FEU. Sin embargo, se recomienda que cada laboratorio establezca un rango de valores normales para la población de su región.

Limitaciones

1. El ensayo de dímero D de Diazyme no debe utilizarse para la exclusión de tromboembolismo venoso.
2. El ensayo de dímero D de Diazyme no se ha establecido para pacientes pediátricos.
3. En el caso de ensayos que utilizan anticuerpos de ratón, existe la posibilidad de interferencia por parte de anticuerpos anti-ratón humanos (HAMA) presentes en la muestra. El ensayo de dímero D de Diazyme ha sido formulado para minimizar esta interferencia; no obstante, las muestras de pacientes que han estado expuestos de forma regular a animales o productos de suero animal pueden contener anticuerpos heterofílicos que causen resultados erróneos.
4. Como con todos los inmunoensayos turbidimétricos con látex, las series analíticas del ensayo de dímero D de Diazyme deberían finalizarse llevando a cabo los pasos de lavado completo correspondientes. Consulte los manuales del equipo correspondiente para obtener más información.
5. Los reactivos, calibradores y controles del ensayo de dímero D de Diazyme deben conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. **NO DEBEN CONGELARSE.**

Características de rendimiento

A continuación figuran los datos de precisión, comparación de métodos, linealidad, LB/LD/LC e interferencia) que se han determinado con el equipo Roche Modular P.

Precisión

Estudio interno

La precisión del ensayo de dímero D de Diazyme se evaluó según la norma EP5-A del CLSI.

En el estudio, se utilizaron tres niveles de conjuntos de muestras de plasma citrado con 0,60 µg/mL, 2,41 µg/mL y 5,88 µg/mL FEU, respectivamente. La muestra de plasma con menor concentración no se modificó. A las otras dos muestras de plasma se añadió solución madre de dímero D en concentraciones específicas y se procedió a su análisis. También se analizaron tres niveles de controles de dímero D con 0,97, 2,99 y 7,47 µg/mL FEU, respectivamente, a razón de 2 series analíticas por día y duplicados durante 20 días de trabajo, con tres lotes de reactivo y tres lotes de calibradores. Los resultados combinados se muestran a continuación:

Precisión intraensayo de las muestras de plasma

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	240	240	240
Media (µg/mL FEU)	0,60	2,41	5,88
SD	0,03	0,05	0,08
CV%	5,0%	2,0%	1,4%

Precisión total de las muestras de plasma

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	240	240	80
Media (µg/mL FEU)	0,60	2,41	5,88
SD	0,04	0,07	0,19
CV%	6,2%	2,7%	3,2%

Precisión intraensayo de las muestras de control

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	240	240	240
Media (µg/mL FEU)	0,97	2,99	7,47
SD	0,03	0,05	0,11
CV%	2,9%	1,6%	1,4%

Precisión total de las muestras de control

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	240	240	240
Media (µg/mL FEU)	0,97	2,99	7,47
SD	0,04	0,08	0,27
CV%	4,4%	2,8%	3,6%

Estudio externo

La precisión del ensayo de dímero D de Diazyme también se evaluó en tres centros externos por parte de usuarios cualificados. En el estudio, se analizaron cuatro muestras de paciente distintas de plasma citrado con 0,36 µg/mL, 1,06 µg/mL, 3,53 µg/mL y 7,20 µg/mL FEU, respectivamente, a razón de 2 series analíticas por día durante más de 5 días de trabajo no consecutivos utilizando tres lotes de reactivo, tres lotes de calibradores, tres centros de pruebas clínicas distintos, tres usuarios distintos y tres equipos distintos. Los resultados se muestran a continuación:

Muestra	Intra-ensayo	Inter-ensayo	Inter-día	Inter-lote	Total	Media µg/mL FEU
	%CV	CV%	CV%	CV%	CV%	
1	8,9%	8,3%	7,6%	7,1%	11,5%	0,36
2	3,8%	3,6%	7,4%	8,3%	8,3%	1,06
3	2,9%	3,9%	3,1%	0,7%	4,7%	3,53
4	1,6%	3,1%	2,4%	1,5%	3,5%	7,20

Límites LB, LD y LC

Los valores de LB, LD y LC del ensayo de dímero D de Diazyme se determinaron según la norma EP17-A del CLSI. El LB se estableció en 0,06 µg/mL FEU; el LD se estableció en 0,09 µg/mL FEU. Para determinar el LC, se analizaron muestras con concentraciones medidas medias que oscilaban entre 0,02 y 0,93. Según el modelo ajustado de EP Evaluator 8, el valor de LC (concentración más baja para la que el CV es inferior al valor diana del 20%) es de 0,15 µg/mL FEU.

Linealidad

Se prepararon once niveles del conjunto de linealidad de dímero D diluyendo una muestra con 8,0 µg/mL FEU en solución salina según la norma EP6-A del CLSI y se analizaron en el equipo Modular P. El ensayo de dímero D de Diazyme es lineal desde 0,15 hasta 8,0 µg/mL FEU.

Comparación de métodos

Para demostrar la precisión, se evaluó el ensayo de dímero D de Diazyme mediante el análisis de plasma citrado individual procedente de la población objetivo prevista (UCI, obstetricia, traumatología, posoperatorio y quirófano) en comparación con un dispositivo de dímero D comercializado legalmente, tanto en las instalaciones del fabricante como en dos laboratorios clínicos externos. Se compararon un total de 128 muestras de plasma citrado (88 muestras únicas) con dímero D en concentraciones comprendidas entre 0,17 y 7,95 µg/mL FEU. Las pruebas de repetición se realizaron mediante análisis de regresión con la técnica Bootstrap con estratificación, tal como se indica a continuación:

Parámetro	Total de los 3 centros
Pendiente	0,979
IC al 95%	De 0,909 a 1,060
Intersección	-0,106
IC al 95%	De -0,260 a 0,026
R ²	0,939

El punto de decisión médica admite una desviación de -0,12 µg/mL FEU.

Interferencia

Las sustancias siguientes no interfieren con el ensayo en los niveles analizados (inferior al 10% de desviación):

Hemoglobina:	Hasta 500 mg/dL
Bilirrubina:	Hasta 40 mg/dL
Bilirrubina conjugada:	Hasta 40 mg/dL
Triglicéridos:	Hasta 1.000 mg/dL
Ácido ascórbico:	Hasta 176 mg/dL
Factor reumatoide:	Hasta 100 UI/mL
Heparina:	Hasta 1,5 UI/mL
HAMA:	Hasta 490 ng/mL

Referencias

1. BJH Guideline. British Journal of Haematology. 124, 15-25.
2. Alan H.B. Wu. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests. Fourth Ed. Saunders Elsevier, 11830 Westline Industrial Drive, St. Louis, Missouri 63146. 2006; 328-329

