

USO DE LA PRUEBA

Dímero-D en prueba rápida en sangre total/plasma, es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de D-dímero humano en sangre o plasma como ayuda en el diagnóstico de la Coagulopatía Intravascular Diseminada (DIC), trombosis venosa profunda (TVP) y embolia pulmonar (PE).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

D-dímero (o dímero D) es un producto de degradación de la fibrina (o FDP), un pequeño fragmento de proteína presente en la sangre después de que un coágulo de sangre se degrada por fibrinólisis. Se denomina así porque contiene dos fragmentos D reticulados de la proteína de fibrina.^{1,2} La concentración de dímero-D se puede determinar mediante un análisis de sangre para ayudar a diagnosticar la trombosis. Desde su introducción en la década de 1990, se ha convertido en una importante prueba realizada en pacientes con sospecha de trastornos tromboticos. Aunque un resultado negativo prácticamente excluye la trombosis, un resultado positivo puede indicar trombosis, pero no descarta otras causas potenciales. Su principal uso, por tanto, es excluir la enfermedad tromboembólica cuando la probabilidad es baja. Además, se utiliza en el diagnóstico del trastorno Coagulopatía Intravascular Diseminada.^{3,4} Dímero-D en prueba rápida en sangre total/plasma, es una prueba simple que utiliza una combinación de partículas recubiertas de anticuerpo anti-D-dímero y reactivos de captura para detectar cualitativamente D-dímero en sangre o plasma total. El nivel mínimo de detección es de 500ng/mL.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Dímero-D en prueba rápida en sangre total/plasma, es un inmunoensayo cualitativo, basado en membrana para la detección de D-dímero en sangre total o plasma. La membrana está pre-recubierta con anticuerpos de captura específicos en las regiones de la línea de ensayo de la prueba. Durante la prueba, la muestra de sangre o plasma reacciona con la partícula recubierta con anticuerpos específicos. La mezcla migra hacia la parte superior sobre la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con anticuerpos de captura específicos sobre la membrana y generar una línea coloreada. La presencia de esta línea coloreada en la región específica de la línea de prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para servir como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea coloreada en la región de la línea de control indicando que se ha añadido el volumen adecuado de espécimen y se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS

El ensayo contiene partículas de oro coloidal conjugado con anticuerpo anti-D-dímero y anticuerpos de captura recubiertos sobre la membrana.

PRECAUCIONES

1. Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
2. No coma, beba ni fume en el área donde se manejan las muestras o kits.
3. Manipule todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos en todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
4. Use ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras son ensayadas.
5. Los tests usados deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
6. La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

ALMACENAMIENTO

1. Guárdelo en la bolsa sellada ya sea a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C).
2. La prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada.
3. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
4. **NO CONGELAR.**
5. No use después de la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE MUESTRAS

1. Dímero-D en prueba rápida en sangre total/plasma, (por punción venosa o con punta del dedo) o plasma.

Para recolectar **muestras de sangre total de lanceta**:

2. Lave la mano del paciente con jabón y agua tibia o limpie con un hisopo con alcohol. Deje secar.
3. Masajear la mano sin tocar el sitio de punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio o el dedo anular.
4. Perfore la piel con una lanceta estéril. Limpie el primer signo de sangre.
5. Frote suavemente la mano desde la muñeca a la palma hasta el dedo para formar una gota redondeada de sangre sobre el lugar de la punción.
6. Añadir la muestra de sangre total a la prueba usando **un tubo capilar**:
7. Toque el extremo del tubo capilar hasta la sangre hasta que esté lleno hasta aproximadamente 25µL. Evite las burbujas de aire.
8. Coloque el bulbo en el extremo superior del tubo capilar, luego exprima el bulbo para dispensar la sangre total al área del espécimen del casete de prueba.

Para recolectar **sangre total de la punción venosa**:

9. Recoja la sangre de la punción venosa con el tubo de anticoagulantes (EDTA, Heparina, Citrato y Oxalato) y úselo directamente para la prueba.
10. Separar el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Utilizar sólo muestras claras no hemolizadas.
11. Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de que las muestras hayan sido recolectadas. No deje las muestras a temperatura ambiente por periodos prolongados. Las muestras de plasma pueden almacenarse a 2-8°C durante un máximo de medio día. Para almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20°C. La sangre total recolectada por punción venosa debe ser almacenada a 2-8°C si la prueba debe ser ejecutada dentro de medio día de la recolección. No congelar los especímenes de sangre total. La sangre total recolectada por la punta del dedo debe ser probada inmediatamente.
12. Llevar las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y mezclados bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
13. DTA K2, Heparina sódica, Citrato sódico y Oxalato de potasio se pueden usar como anticoagulante para recolectar la muestra.

MATERIALES

Materiales proporcionados

• Casetes de prueba • Cuentagotas • Buffer

Materiales requeridos pero no proporcionados

• Contenedores para la colección de muestras • Centrifuga (solo para plasma) Lancetas (Para la sangre total) • Temporizador
• Tubos capilares heparinizados y bombilla dispensadora (Para la sangre total con los dedos).

INSTRUCCIONES DE USO

Deje que la prueba, la muestra, el buffer y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba.

1. Lleve la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y úselo en menos de una hora.
2. Coloque el casete sobre una superficie limpia y nivelada.

Para muestras de plasma:

Sostenga el gotero verticalmente y transfiera **1 gota de plasma** (aproximadamente **25µL**) al área de la muestra, luego agregue **2 gotas de buffer** (aproximadamente **80µL**) e inicie el temporizador.

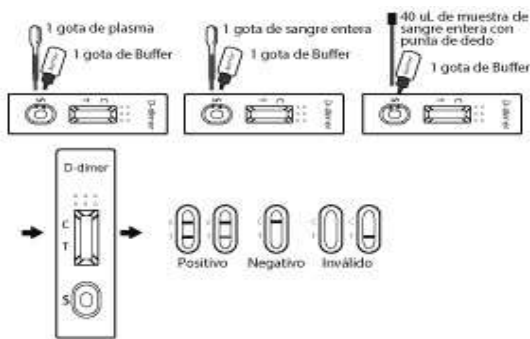
Para la muestra de sangre total con lanceta:

3. Sujete el gotero verticalmente y transfiera **1 gota de sangre total** (aproximadamente **25 µL**) al área de la muestra, luego agregue **2 gotas de buffer** (aproximadamente **80 µL**) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación. Para la **muestra de sangre total de lanceta:**

4. Para usar un tubo capilar: Llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente **25 µL de muestra de sangre total con punta de dedo a la zona del espécimen** del casete de prueba, luego agregue **2 gotas de buffer** (aproximadamente **80 µL**) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación.

Leer los resultados a los **10 minutos**. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Nota: Se sugiere no utilizar el buffer, después de 30 días de haber abierto el vial.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

POSITIVO: * Una línea coloreada en la región de la línea de control (C) y la presencia de una línea coloreada en las regiones de la línea de prueba indica un resultado positivo. Esto indica que la concentración de D-dímero está por encima del nivel mínimo de detección. *NOTA: La intensidad del color en la región de la línea de prueba variará dependiendo de la concentración de D-dímero presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba se debe considerar positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T). Esto indica que la concentración de dímero-D está por debajo de los niveles mínimos de detección.

INVALIDO: La línea de control no aparece. El insuficiente volumen de muestra o las técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para el fallo de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

Se incluye un control de procedimiento en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la región de línea de control (C) se considera un control interno de procedimiento. Confirma suficiente volumen de muestra, membrana adecuada y correcta técnica de procedimiento. Los estándares de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos sean probados como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y para verificar el funcionamiento apropiado de la prueba.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Dímero-D es para uso diagnóstico in vitro solamente. Esta prueba debe utilizarse para la detección de Dímero-D únicamente en muestras de sangre o plasma. Ni el valor cuantitativo ni la velocidad de aumento en Dímero-D pueden ser determinados por esta prueba cualitativa.

2. Dímero-D solo indicará el nivel cualitativo del Dímero-D en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de la Coagulopatía Intravascular Diseminada (DIC), la Vena Profunda Trombosis (TVP) y embolismo pulmonar (EP).

3. La sensibilidad de las pruebas rápidas inmunológicas es menor (valor predictivo negativo = 85,7%) para los pacientes con probabilidad de pre-prueba moderada o alta para el infarto tromboembólico (puntaje de Wells alto) que para los pacientes con probabilidad pretest baja (puntuación de Wells baja, predictiva negativa valor = 99,5%). Por lo tanto, para una probabilidad pretest moderada y alta se recomienda un examen ecográfico independientemente del resultado de la prueba rápida.

4. Dímero-D, no puede detectar menos de 500 ng/ml de dímero-D en los especímenes. Un resultado negativo en cualquier momento no excluye la posibilidad de Coagulopatía Intravascular Diseminada (DIC), Trombosis Vetea Profunda (TVP) y Embolismo Pulmonar (PE).

5. Pueden producirse falsas lecturas negativas si la muestra se toma demasiado pronto después de la formación del trombo, si la prueba se retrasa durante varios días o si la muestra se toma demasiado después de la aparición del infarto tromboembólico porque la concentración de D-dímero puede disminuir a valores normales después de una semana. Además, un tratamiento con anticoagulantes antes de la recolección de muestras puede hacer la prueba negativa, ya que impide la extensión del trombo.^{3,4}

6. Como con todas las pruebas diagnósticas, todos los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica disponible para el médico. Utilice la "puntuación de Wells" para DVT resp. PE, Ultrasonido, laboratorio cuantitativo Dímero-D resultados etc.²

7. Algunos especímenes que contienen títulos inusualmente altos de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide (RF) pueden afectar los resultados esperados. Incluso si los resultados de la prueba son positivos, la evaluación clínica adicional debe considerarse con otra información clínica disponible para el médico.

8. Existe una ligera posibilidad de que algunas muestras de sangre total con una viscosidad muy alta o que se hayan almacenado durante más de 2 días puedan no funcionar correctamente en el casete de prueba. Repita el ensayo con una muestra de plasma del mismo paciente utilizando un nuevo casete de prueba.

El hematocrito de la sangre total debe estar entre el 25% y el 65%.

REFERENCIAS

1. Adam SS, Key NS, Greenberg CS (March 2009). "D-dimer antigen: current concepts and future prospects". Blood 113 (13): 2878-2887. doi:10.1182/blood-2008-06-165845. PMID 19008457
2. Fritscher, Claudia (2007): Bedeutung der D-dimer Untersuchung in der Diagnostik der tiefenBeinvenenthrombose, LaborAktuell Nr.7/2007, 1-8.
3. Dempf e, Carl-Erik (2005): Bestimmung des D-dimer-Antigens in der klinischen Routine, DeutschesÄrztblatt Jg. 102, Heft 7, 18. Februar 2005: A428-A432.
4. Blackwell Publishing Ltd. (2004): The diagnosis of deep vein thrombosis in symptomatic outpatients and the potential for clinical assessment and D-dimer assays to reduce the need for diagnostic imaging, British Journal of Haematology, 124, 15-25.