



Aplicación

El ensayo HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay (DTI) es un ensayo de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa del inhibidor directo de la trombina dabigatran en plasma humano citratado realizada en la familia de analizadores ACL TOP. El producto está indicado para la medición de los niveles de dabigatran activo en situaciones en las que se requiera dicha medición.^{1,2}

Principio

Los inhibidores directos de la trombina (DTI) son anticoagulantes que se unen a la trombina sin la mediación de la antitrombina. El etxelato de dabigatran es un profármaco que, una vez absorbido en el tracto gastrointestinal, se convierte en su forma activa, dabigatran. El dabigatran es un DTI oral cuyo uso se ha aprobado como alternativa a la warfarina para varias indicaciones terapéuticas.

El ensayo de HemosIL DTI es una prueba de tiempo de trombina modificada (diluida) que se realiza en plasma citratado de pacientes. El plasma citratado del paciente se diluye con un pool de plasma normal DTI Plasma Diluent (incluido en el kit) para reducir las interferencias de variables preanalíticas. A continuación se añade a la muestra del paciente diluida una concentración fija de trombina bovina reconstituida, lo que activa la cascada de la coagulación y convierte el fibrinógeno en fibrina. El tiempo de coagulación asociado en segundos se mide en la familia ACL TOP. En la familia ACL TOP se traza una curva de referencia de dabigatran a partir de los resultados de tiempo de coagulación de un patrón de plasma de referencia conocido (HemosIL Dabigatran Calibrators). La concentración de dabigatran en las muestras de plasma de los pacientes se determina comparando los valores de tiempo de coagulación con la curva de referencia.

Composición

Cada ensayo de inhibidor directo de la trombina consta de:

DTI Thrombin Reagent (N.º de cat. 0020302810): 3 viales de 2 mL de una trombina bovina liofilizada (~1,5 UNH/mL) con albúmina bovina y tampón.

DTI Diluent Thrombin (N.º de cat. 0020302820): 3 viales de 2,2 mL de una solución con tampón y neutralizante de heparina.

DTI Plasma Diluent (N.º de cat. 0020302830): 3 viales de 2 mL de plasma humano liofilizado con tampón, estabilizantes y conservantes.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

DTI Thrombin Reagent contiene material bovino. Todos los animales donantes pertenecían a manadas libres de encefalopatía espongiiforme bovina. El ganado fue sometido a una inspección veterinaria antes y después de su sacrificio, y determinó que aparentemente estaban libres de material infeccioso o contagioso. No obstante, el material debe tratarse como potencialmente infeccioso.

EDTI Plasma Reagent utiliza material humano. El material humano utilizado en este producto se analizó mediante métodos aprobados por la FDA y se determinó que no era positivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), para anticuerpos anti-VHC ni para anticuerpos anti-VIH 1 y 2. Manipúlelo como potencialmente infeccioso.

El reactivo de inhibidor directo de la trombina y el diluyente de plasma no están clasificados como peligrosos.

- Clase de peligro: **ninguna**
- Frases de riesgo: **ninguna**
- Frases de seguridad: **ninguna**

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación

DTI Thrombin Reagent: Pipete 2 mL de DTI Thrombin Diluent en un vial de DTI Thrombin Reagent. Vuelva a tapar el vial y mueva este en círculos suavemente. Asegúrese de que el producto se reconstituya por completo. Mantenga el reactivo a 15-25 °C durante 30 minutos e inviértalo para mezclarlo antes del uso. No lo agite.

DTI Diluent Thrombin: Preparado para el uso con el reactivo de trombina de IDT.

DTI Plasma Diluent: Disuelva el contenido de cada vial en 2 mL de agua destilada tipo CLSI o equivalente.³ Vuelva a tapar el vial y homogeneice suavemente. Asegúrese de que el producto se reconstituya por completo. Mantenga el diluyente de plasma a 15-25 °C durante 30 minutos e inviértalo para mezclarlo antes del uso. No lo agite.

Método de ensayo

Consulte el manual del operador o el manual de aplicación o referencia del instrumento IL correspondiente para obtener instrucciones completas sobre el procedimiento del ensayo.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Cuando se conservan a 2-8 °C, el reactivo y los diluyentes contenidos en viales que no se hayan abierto son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial.

DTI Thrombin Reagent: El reactivo reconstituido es estable: 48 horas a 2-8 °C en el vial original cerrado, 6 horas en analizadores de la familia ACL TOP a 15 °C en el vial original o 30 días a -20 °C en el vial original cerrado (el producto solamente puede descongelarse una vez).

DTI Plasma Diluent: El reactivo reconstituido es estable: 48 horas a 2-8 °C en el vial original tapado, 6 horas en analizadores de la familia ACL TOP a 15 °C en el vial original o 30 días a -20 °C en el vial original cerrado (el producto solamente puede descongelarse una vez).

Para obtener una estabilidad óptima, retire los reactivos del sistema y consérvelos a 2-8 °C en los viales originales tapados.

NOTA: La baja humedad relativa se asocia a un aumento de la evaporación de los reactivos contenidos en viales no tapados, lo que puede reducir su estabilidad cuando se conservan en analizadores. Para obtener una estabilidad óptima en el analizador, la temperatura y la humedad del laboratorio deben estar controladas.

Otención y preparación de las muestras

Se recogen nueve partes de sangre venosa recién extraída en una parte de citrato de trisodio. Consulte el documento H21-A5 del CLSI para obtener instrucciones sobre la recogida, manipulación y conservación de muestras.⁴

Reactivos adicionales y plasmas de control

Lo siguiente no se suministra con el kit y debe adquirirse por separado:

	N.º de cat.
Dabigatran Calibrators	0020013400
Controles de dabigatran	0020013500
Cleaning agent	0009832700
Diluyente de factores	0009757600

Control de calidad

SPara realizar un programa completo de Control de Calidad, se recomienda el uso de controles normales y anormales.⁵ Los controles de HemosIL adecuados para este programa son Dabigatran Low Control y Dabigatran High Control. Cada laboratorio deberá establecer su propia media, su propia desviación estándar y un programa de control de calidad para monitorizar los análisis realizados en él. Los controles deberán analizarse al menos una vez cada turno de 8 horas siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio. Consulte Westgard et al para identificar y resolver situaciones fuera de control.⁶

Resultados

Los resultados del ensayo de IDT se informan en ng/mL. Para obtener más información, consulte el manual del operador del instrumento.

Limitaciones / Interferencias

Las muestras con exceso de hemólisis, amarilleo o lipemia no deben utilizarse. Los resultados del ensayo de IDT en la familia ACL TOP no se ven afectados por la hemoglobina a niveles inferiores a 300 mg/dL, por los triglicéridos a niveles inferiores a 873 mg/dL, por la bilirrubina a niveles inferiores a 40 mg/dL ni por la heparina no fraccionada o de peso molecular bajo a niveles inferiores a 2,2 U/mL.

Valores esperados

El perfil farmacocinético predecible del dabigatran respalda un régimen de dosis fija sin la necesidad de una monitorización periódica de la coagulación. El fabricante del dabigatran ha medido los niveles máximo y mínimo (pico y valle) de la concentración plasmática de dabigatran en algunos ensayos clínicos, y ha establecido que dichos niveles dependen del régimen de dosis fija.⁷

Características técnicas

Precisión

La precisión se determinó utilizando 3 lotes de plasma en modelos representativos de la familia ACL TOP (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS y ACL TOP 300 CTS). La precisión se evaluó conforme a las pautas CLSI EP05-A2⁸, durante 20 días, procesando 2 series al día y 2 réplicas por serie para cada nivel de muestra (n=80/instrumento/lote), utilizando un lote específico de reactivo de IDT y muestras tanto normales como anormales. A continuación se incluyen los datos de las pruebas realizadas con un instrumento, el lote de reactivo y el lote de plasma representativos.

Familia ACL TOP	Media (ng/mL)	% de CV (intraserial)	% de CV (total)
Dabigatran Low Control	45	2,2	3,6
Dabigatran High Control	196	1,8	4,1
Muestra clínica	123	2,0	3,4
Internal Control 1	77	2,8	4,2
Internal Control 2	505	3,5	5,4
Internal Control 3	957	2,3	4,2
Internal Control 4	2035	3,1	4,3

Correlación Sistema:	n	Pendiente (IC del 95 %)	Intersección (IC del 95 %)	r	Método de referencia
Familia ACL TOP	147	1,002 (de 0,987 a 1,016)	12,01 (de 5,64 a 18,38)	0,996	Inhibidores de la trombina Hemoclot en la familia ACL TOP

Se realizó una comparación de métodos entre el ensayo HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay y el kit de inhibidores de la trombina Hemoclot (Hyphen Biomed) conforme a las pautas EP09-A3, en 147 muestras (102 muestras de pacientes de dabigatran sin adulterar y 45 muestras a las que se les había añadido dabigatran), en un modelo representativo de la familia ACL TOP.

Linealidad:

Sistema	Linealidad
Familia ACL TOP	20 ng/mL-2000 ng/mL

Límite de detección:

Sistema	Límite de detección
Familia ACL TOP	2 ng/mL