

VERSIÓN PARA EQUIPOS ALINITY Ci 2 DE ABBOTT

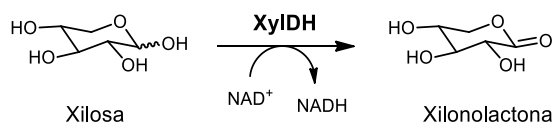


DESCRIPCIÓN:

Xylossay® es un método fiable y automatizable para la cuantificación de la xilosa presente en orina. **Xylossay®** es el método recomendado para la detección de xilosa tras la administración de **LacTEST 0,45 g**.

PRINCIPIO DEL MÉTODO:

La enzima xilosa deshidrogenasa (XylDH)¹ cataliza la oxidación específica de xilosa para formar xilonolactona². Puesto que XylDH es una enzima NAD⁺ dependiente, esta reacción requiere una reducción concomitante del cofactor a NADH:



La formación de NADH puede ser espectrofotométricamente detectada y cuantificada mediante el incremento de la absorbancia a 340 nm en la reacción. De esta forma, los incrementos de absorbancia serán directamente proporcionales a la cantidad de xilosa presente en la muestra.

COMPONENTES DEL KIT:

Xylossay® se suministra en formato de 120 determinaciones de xilosa. Cada kit contiene un vial de cada uno de los siguientes componentes:

VIAL	CONTENIDO Y FORMATO	CANTIDAD
Marrón	Tampón fosfato, 50 mM, pH 8,0 (Solución)	22 mL
Naranja	β -Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD ⁺) (Liofilizado)	66,34 mg \pm 12%
Morado	D-Xilosa Deshidrogenasa (Liofilizado)	0,6 mg \pm 10%
Rosa	Calibrador: D-(+)-Xilosa (Solución)	2 mL; 3,75 mg/dL \pm 5%.

1. Sánchez-Moreno, I. et al. *J. Biotechnol.* (2016) 234:50-57.
2. Stephens, C. et al. *J. Bacteriol.* (2007) 189: 2181-2185.

EQUIPO ADICIONAL NO SUMINISTRADO:

La preparación de los reactivos requiere el empleo de micropipetas o sistemas que permitan dispensar los volúmenes especificados. Los agitadores vórtex pueden ser utilizados cuando se indica. Controles de cuantificación de xilosa.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS:

IMPORTANTE: la preparación de los reactivos debe realizarse en el siguiente orden:

1. Disolver el contenido del vial morado (Xilosa Deshidrogenasa, liofilizado) en **10 mL** de tampón (Tampón fosfato 50 mM pH 8,0; vial marrón). Mezclar suavemente para evitar pérdida de actividad en la enzima resuspendida. Siempre que sea posible, mantener en frío durante su uso. Esta disolución será el **REACTIVO 2**.
2. Añadir 2 mL de tampón (Tampón fosfato 50 mM pH 8,0; vial marrón) al vial que contiene el NAD⁺ liofilizado (vial naranja) y agitar vigorosamente hasta su completa disolución (se pueden utilizar agitadores vórtex).
3. Añadir la totalidad de los 2 mL de NAD⁺ disuelto (vial naranja + tampón) dentro del vial de tampón (vial marrón). De esta forma el vial marrón contendrá **12 mL** de tampón más NAD⁺ a la concentración apropiada. Mantener en frío siempre que sea posible. Esta disolución será el **REACTIVO 1**.
4. La solución de xilosa (Calibrador; Solución estándar de xilosa, vial rosa) está lista para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD:

Xylossay® debe ser almacenado entre 4° y 8°C hasta su utilización, siendo estable en estas condiciones durante al menos 18 meses. Una vez preparados los REACTIVOS 1 y 2 tienen una vida útil de al menos 39 días cuando se mantienen a temperaturas de entre 4 y 10°C (estabilidad a bordo de equipos automáticos). Tanto el REACTIVO 1 como el REACTIVO 2 pueden ser congelados a -20°C sin pérdida alguna de su actividad. Ambos reactivos pueden ser congelados-descongelados durante al menos 6 veces sin alterar su funcionamiento.

IMPORTANTE: para utilizar los reactivos congelados, se debe esperar a su completa descongelación (a temperatura ambiente). Una vez descongelados en su totalidad deben agitarse para una completa homogeneización antes de usar.

PROTOCOLO DE ENSAYO:

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: La recogida de muestras de orina debe realizarse siguiendo estrictamente las especificaciones indicadas en la ficha técnica de **LacTEST 0,45 g**. Se recomienda la centrifugación de las muestras de orina (según protocolo establecido en cada laboratorio) para eliminar cualquier posible precipitado que pueda interferir en el ensayo. Toda muestra que haya sido congelada debe ser agitada para su homogeneización después de la descongelación.

PARÁMETROS: longitud de onda 340 nm, empleando la temperatura definida en el equipo por defecto (generalmente 37°C). La aplicación instrumental para el ensayo se debe diseñar siguiendo las siguientes especificaciones.

CALIBRACIÓN Y PROCEDIMIENTOS DE CONTROL: La calibración de la determinación de xilosa en los equipos analizadores (**CAL**) se debe realizar utilizando la solución estándar de xilosa suministrada con el kit (Calibrador, vial rosa) como referencia de concentración

(3,75 mg/dL). Para el control de la calibración y la cuantificación de xilosa se recomienda usar al menos dos niveles de control acreditados y validados: uno bajo, con concentraciones de xilosa de entre 0,8 y 3 mg/dL, y uno alto, con concentraciones de xilosa de entre 5 y 8 mg/dL. Estos controles no se incluyen en el kit, se deben adquirir de forma independiente.

PROTOCOLO ESTÁNDAR DE ENSAYO:

Los volúmenes mostrados pueden ser escalados siempre que se mantenga la proporción final de los mismos.

Reactivo	Blanco	Muestra	CAL
Agua destilada	100 µL	85 µL	85 µL
REACTIVO 1	60 µL	60 µL	60 µL
Muestra	-	15 µL	-
Calibrador	-	-	15 µL
Mezclar la reacción e incubar 5 min. (A1)			
REACTIVO 2	40 µL	40 µL	40 µL
Mezclar la reacción e incubar 5 min. (A2)			

NÚMERO FINAL DE MEDIDAS CON CADA KIT:

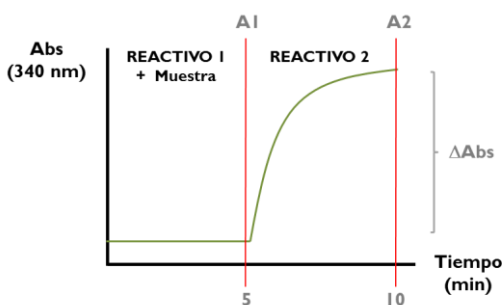
Debido al volumen muerto que por defecto tienen algunos equipos automáticos, el número de determinaciones puede verse reducido. Las siguientes fórmulas permiten calcular el número final de ensayos en función del volumen muerto:

$$REACTIVO 1 = \frac{(12 \text{ mL} - \text{Vol. muerto en mL}) \times 1000}{\text{Vol. REACTIVO 1 en ensayo } (\mu\text{L})}$$

$$REACTIVO 2 = \frac{(10 \text{ mL} - \text{Vol. muerto en mL}) \times 1000}{\text{Vol. REACTIVO 2 en ensayo } (\mu\text{L})}$$

CÁLCULOS:

Valores de Absorbancia (340 nm) por ensayo:



A1 = Absorbancia inicial de la mezcla REACTIVO 1 + Muestra (incubada 5 min).

A2 = Absorbancia final después de añadir REACTIVO 2 (incubado 5 min adicionales, tiempo total de reacción: 10 min).

Las diferencias entre los dos valores de Absorbancia serán proporcionales a la concentración de xilosa, la cual puede ser calculada utilizando la solución estándar de xilosa suministrada con el kit (solución estándar de xilosa, vial rosa):

$$\Delta \text{Absorbancia (340 nm)} = \Delta \text{Abs} = A2 - A1$$

$$\text{Concentración en Muestra} = [\text{Muestra}] \text{ (mg/dL)}$$

Concentración de xilosa (Calibrador) = 3,75 mg/dL

$$[\text{Muestra}] = \frac{\Delta \text{Abs (Muestra)}}{\Delta \text{Abs (Calibrador)}} \times 3,75 \text{ mg/dL}$$

La cantidad total de xilosa en la Muestra (mg) se calculará a partir del volumen total de orina recogida durante la prueba.

$$\text{Xilosa (mg)} = [\text{Muestra}] \times \text{Vol Muestra (dL)}$$

EJEMPLO:

Determinación de la cantidad total de xilosa en la muestra de orina de un paciente:

Volumen de Muestra (orina) = 557 mL = 5,57 dL

- **Ensayo Muestra:** A1 = 0,122

A2 = 0,146

$$\Delta \text{Abs (Muestra)} = 0,146 - 0,122 = 0,024$$

- **Ensayo Calibrador:** A1 = 0,0870

A2 = 0,166

$$\Delta \text{Abs (Calibrador)} = 0,166 - 0,0870 = 0,079$$

$$[\text{Muestra}] = \frac{0,024}{0,079} \times 3,75 \text{ mg/dL} = 1,139 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Xilosa (mg)} = 1,139 \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \times 5,57 \text{ dL} = 6,34 \text{ mg}$$

VALORES DE REFERENCIA

Valores normales en adultos:

Prueba	Xilosa en orina (mg)
LacTEST 0,45 g	≥ 19,18

Valores por debajo de 19,18 mg significan hipolactasia.

PARÁMETROS ANALÍTICOS:

Los parámetros analíticos de la aplicación de **Xylossay®** se determinaron en la validación de la técnica en tres equipos automáticos (Cobas c502 de Roche, ILab 600 de Werfen y Dimension Vista 1500 de Siemens). Además, se realizaron validaciones cruzadas en los equipos Cobas c701/702 de Roche, ADVIA 1800 / 2400 y Atellica de Siemens, Architect y Alinity de Abbott, AU5800 de Beckman Coulter, Vitros 5,1 FS de Ortho-Clinical Diagnostic y A15 / A25 de Biosystems.

Linealidad: hasta al menos 15 mg/dL en todos los casos.

Límite de detección: entre 0,13 y 0,49 mg/dL.

Reproducibilidad: Los coeficientes de variación entre muestras no deben superar el 15 %.

Exactitud: ≥ 88 %.

Arrastre: ≤ 4 %

FUNCIONAMIENTO ANALÍTICO:

Los parámetros analíticos establecidos para **Xylossay®** pueden variar ligeramente en función de las características del equipo utilizado. La presencia de algunos azúcares como L-arabinosa o glucosa en altas concentraciones puede afectar a la determinación de xilosa. Por esta razón, la recogida de muestras requiere un ayuno de 10 horas. En estas condiciones no se han encontrado interferencias en la orina recogida.



Immunostep S.L.

Avda. Universidad de Coimbra, s/n
Cancer Research Center (CIC)
Campus Miguel de Unamuno
37007 Salamanca (Spain)
Tel. (+34) 923 294 827
www.immunostep.com

INFORME DE PARÁMETROS DEL ENSAYO

NS: ██████████

ID de usuario: ██████████

Versión de software: 3.4.0

Centro:

Nombre sistema: Alinity ci 2

GAXILOSA

Parámetros generales

Nombre ensayo: GAXILOSA

Tipo de ensayo: Fotométrico

Nº ensayo: 2012

Disponibilidad ensayo: Habilitado

Versión de ensayo: 1

Estado ensayo: Primario

Fecha/Hora: 21.10.2020 10:12

Procesar controles para reactivos Lote
por:

Usuario: ██████████

Línea virtual: Ambos

ID de módulo: 1

Definición de reacción

Modo de reacción: Punto final
ascendente

Tiempo lect. princ: 35 - 37

Intervalo absorbancia:

Longitud onda primaria: 340

Tiempo lectura Flex:

Tipo blanco de muestra: Automático

Longitud onda
secundaria:

Lectura de blanco: 15 - 17

Ensayo blanco:

Última lectura requerida: 37

Tiempo lectura de corrección 6 - 8
color:

Reactivo / Muestra

Reactivo: XILOSA

Volumen de reactivo R1: 60

Volumen de reactivo 40
R2:

Nombre diluyente: Saline

Volumen de agua R1: 85

Volumen de agua R2:

Dispensación de
diluyente: Tipo 1

Modo dispensación R1: Tipo 1

Modo dispensación R2: Tipo 2

Dilución predeterm: STANDARD

Nombre dilución	Volumen muestra	Volumen de muestra diluida	Volumen diluyente	Volumen de agua	Factor de dilución
STANDARD	15.0				1.00

Verific. validez

Tipo verific. de reacción: Ninguno

Intervalo lectura A:

Límite del cálculo:

Absorbancia mínima:

Intervalo lectura B:

Linealidad cinética(%):

Variación abs máxima:

Parámetros de la calibración

Método de calibración: Linear

Horas/Intervalo 1800 (horas)
completo:Horas/Intervalo de
ajuste:

Factor:

Tipo de ajuste: Ninguno

Nivel ajuste:

Usar factor calibr. de:

Ajuste máximo de
curva:Tipo petición
predeterminado:

Factor calibr. esperado:

Intervalo absorbancia
blanco:Tolerancia factor calibr.
esperado (%):Amplit:
Blanco -Intervalo amplitud
absorb:

INFORME DE PARÁMETROS DEL ENSAYO

NS: [REDACTED]

Versión de software: 3.4.0

ID de usuario: [REDACTED]

Centro:

Nombre sistema: Alinity ci 2

GAXILOSA

Nombre conj. calibradores: GAXILOSA

Replicados: 2

Nivel Cal	Concentración	Volumen muestra	Volumen de muestra diluida	Volumen diluyente	Volumen de agua
Blank: Water	0.0000	15.0			
Cal 1: GAXILOSA 1		15.0			

LavadoSmart

Parámetros de resultados

Intervalo linealidad:

Especificación intervalo alertas:

Parámetros de interpretación

Nombre	Rango	Se requiere revisar resultados
<NotDefined>		No
<NotDefined>		No
<NotDefined>		No
<NotDefined>		No

Unidades result.

Unidades: mg/dl

Factor de correlación: 1.0000

UCUM:

Decimales: 2

Intersección: 0.0000

***** Fin del informe *****

Firma:

Fecha:

INFORME DE PARÁMETROS DEL ENSAYO

ID de usuario: [REDACTED]

NS: [REDACTED]

Centro:

Versión de software: 3.4.0

Nombre sistema: Alinity ci 2

XILOSA

Parámetros generales

Nombre ensayo: XILOSA

Tipo de ensayo: Fotométrico

Nº ensayo: 2007

Disponibilidad ensayo: Habilitado

Versión de ensayo: 1

Estado ensayo: Primario

Fecha/Hora: 21.10.2020 10:11

Procesar controles para reactivos Lote por:

Usuario: [REDACTED]

Línea virtual: Ambos

ID de módulo: 1

Definición de reacción

Modo de reacción: Punto final ascendente

Tiempo lect. princ: 35 - 37

Intervalo absorbancia:

Longitud onda primaria: 340

Tiempo lectura Flex:

Tipo blanco de muestra: Automático

Longitud onda secundaria:

Lectura de blanco: 15 - 17

Ensayo blanco:

Última lectura requerida: 37

Tiempo lectura de corrección 6 - 8 color:

Reactivo / Muestra

Reactivo: XILOSA

Volumen de reactivo R1: 60

Volumen de reactivo R2: 40

Nombre diluyente: Saline

Volumen de agua R1: 85

Volumen de agua R2:

Dispensación de diluyente: Tipo 1

Modo dispensación R1: Tipo 1

Modo dispensación R2: Tipo 2

Dilución predeterm: 1:20

Nombre dilución	Volumen muestra	Volumen de muestra diluida	Volumen diluyente	Volumen de agua	Factor de dilución
1:20	5.0	15.0	95		20.00
1:50	6.0	15.0	294		50.00
1:1	15.0				1.00

Verific. validez

Tipo verific. de reacción: Ninguno

Intervalo lectura A:

Límite del cálculo:

Absorbancia mínima:

Intervalo lectura B:

Linealidad cinética(%):

Variación abs máxima:

INFORME DE PARÁMETROS DEL ENSAYO

ID de usuario: **Admin**

NS: **SCIM010741**

Centro:

Versión de software: 3.4.0

Nombre sistema: Alinity ci 2

XILOSA

Parámetros de la calibración

Método de calibración: Linear	Horas/Intervalo 1800 (horas) completo:	Horas/Intervalo de ajuste:
Factor:	Tipo de ajuste: Ninguno	Nivel ajuste:
Usar factor calibr. de:	Ajuste máximo de curva:	Tipo petición predeterminado:
Factor calibr. esperado:	Amplit: Blanco -	Intervalo absorbancia blanco:
Tolerancia factor calibr. esperado (%):		Intervalo amplitud absorb:

Nombre conj. calibradores: XILOSA1

Replicados: 2

Nivel Cal	Concentración	Volumen muestra	Volumen de muestra diluida	Volumen diluyente	Volumen de agua
Blank: Water	0.0000	15.0			
Cal 1: XILOSA1 1		15.0			

LavadoSmart

Parámetros de resultados

Intervalo linealidad:

Especificación intervalo alertas:

Parámetros de interpretación

Nombre	Rango	Se requiere revisar resultados
<NotDefined>		No
<NotDefined>		No
<NotDefined>		No
<NotDefined>		No

Unidades result.

Unidades: mg/dl

Factor de correlación: 1.0000

UCUM:

Decimales: 2

Intersección: 0.0000

***** Fin del informe *****

Firma:

Fecha: