

RIDA® GENE Lac Intol

REF PY4215



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Deutschland

+49 (0) 61 51 81 02-0 / +49 (0) 61 51 81 02-20 / www.r-biopharm.com



1. Zweckbestimmung

Für die *in-vitro* Diagnostik. Der RIDA®GENE Lac Intol Test, der auf dem Roche LightCycler® 480 II durchgeführt wird, ist eine multiplex real-time PCR zum qualitativen Nachweis und zur Differenzierung der Positionen C13910 & G22018 sowie deren mögliche SNPs (single nucleotide polymorphism) C13910T & G22018A im humanen MCM6 Gen aus humanen EDTA Vollblutproben von Personen mit Anzeichen und Symptomen einer Laktose Intoleranz.

Der RIDA®GENE Lac Intol Test ist zur Unterstützung der Diagnose bei Patienten mit Symptomen einer Laktose Intoleranz in Verbindung mit anderen klinischen Befunden und Laborbefunden vorgesehen.

Das Testergebnis sollte nicht als alleinige Grundlage für die Diagnose herangezogen werden.

Das Produkt ist für die professionelle Anwendung vorgesehen.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Laktose, ein Disaccharid bestehend aus Galaktose und Glukose, ist die Hauptenergiequelle der Milch beim Menschen und bei Tieren.

Die β -(1,4)-glykosidische Bindung kann durch das Enzym Laktase gespalten und so die Monosaccharide für die weitere Verwendung zur Verfügung gestellt werden⁽¹⁾.

Die Spaltung und Adsorption findet im Dünndarm statt. Anschließend werden die Monosaccharide in das Innere der Epithelzellen (Enterozyten) transportiert⁽²⁾. Die Menge an Laktase steigt im Laufe der Schwangerschaft und hat ihren Höchstwert wenige Tage nach der Geburt. Durch Regulatoren auf genetischer Ebene sinkt die Menge an Laktase im Laufe des Lebens⁽¹⁾. Allerdings sind 50 % der Laktase Aktivität ausreichend, um eine effektive Spaltung der Laktose zu erreichen⁽³⁾. Kann Laktose nicht oder nur in geringen Mengen abgebaut werden, führt das zu einer erhöhten osmotischen Belastung und einer Steigerung des Wassergehaltes im Darm. Des Weiteren gelangt die Laktose in den Dickdarm, wo diese von Darmbakterien verarbeitet wird und so zur Produktion von kurzkettigen Fettsäuren und Gasen wie Wasserstoff, Kohlendioxid und Methan beiträgt⁽⁴⁾. Das wiederum kann dann zu klinischen Symptomen wie Blähungen Schmerzen im Unterleib, Krämpfe und/oder postprandiales Völlegefühl, Aufstoßen, Durchfall und in einigen Fällen zu Verstopfungen, Übelkeit und Erbrechen führen^(1,4). Das Gen, welches für die Laktase codiert, nennt sich *LCT* und befindet sich auf Chromosom 2. Das *MCM6* (minichromosome maintenance complex component 6) Gen, welches sich ca. 14 kb upstream des Laktase Gens befindet, fungiert als Enhancer. Verschiedene Single Nucleotide Polymorphism (SNP) wie u. a. 13910 C/T und 22018 G/A in diesem Gen werden mit einer Laktase Persistenz in Verbindung gebracht. Diese Veränderung führen zu neuen Transkriptionsfaktor- Bindungsstellen und tragen so zu einer lebenslangen Expression des *LCT* Gens bei^(2,4,5). Laktose Intoleranz ist damit keine Krankheit und hat eine globale Prävalenz von 57 % und mehr^(2,3). Diese variiert von

Region zu Region. In Europa mit einer durchschnittlichen Prävalenz von 28 % schwankt sie von 2 % in Skandinavien und 70 % auf Sizilien⁽²⁾.

3. Testprinzip

Der RIDA®GENE Lac Intol Test ist eine multiplex real-time PCR zum qualitativen Nachweis und zur Differenzierung der Positionen C13910 & G22018, sowie deren mögliche SNPs (single nucleotide polymorphism) C13910T & G22018A im humanen *MCM6* Gen aus humanen EDTA Vollblutproben. Nach der DNA-Isolierung werden die spezifische Genfragmente entweder als Wildtyp oder als Mutation amplifiziert. Die amplifizierten Zielsequenzen werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit einem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die Taq-Polymerase den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung sind ausreichend für 100 Bestimmungen.

Tab. 1: Packungsinhalt

Kit Code	Reagenz	Menge		Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2 ×	1050 µl	gelb, gebrauchsfertig
2	Taq-Polymerase	1 ×	80 µl	rot, gebrauchsfertig
A	Control A	1 ×	200 µl	blau, gebrauchsfertig
B	Control B	1 ×	200 µl	grün, gebrauchsfertig

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Bitte folgen Sie den Handhabungsvorgaben in Tabelle 2 und lagern Sie das Kit unmittelbar nach Verwendung gemäß den aufgeführten Angaben.
- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können ungeöffnet bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu 5 Mal beeinträchtigt die Testeigenschaft nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 - 8 °C).

Tab. 2: Lagerungsbedingungen und -hinweise

	Lagertemperatur	Maximale Lagerzeit
ungeöffnet	-20 °C	Bis zum aufgedrucktem Verfallsdatum verwendungsfähig
geöffnet	-20 °C	5 Tau-/Frier-Zyklen

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1 Laborzubehör

Folgendes Zubehör wird für die Verwendung des RIDA®GENE Lac Intol Kits benötigt:

Zubehör
Extraktionsplattform: MagNa Pure 96 Instrument (Roche)
Real-time PCR Geräte: <ul style="list-style-type: none">• LightCycler® 480 II (Roche)• ABI 7500 Fast Dx (Applied Biosystems)• CFX96™ Dx (Bio-Rad)
RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) (R-Biopharm) bei Verwendung des LightCycler® 480 II
Real-time PCR-Verbrauchsmaterialien (Platten (low profile, white wells, clear frame), Reaktionsgefäße, Folien)
Zentrifuge mit Rotor für Platten
Vortexer
Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
Pipettenspitzen mit Filtern
Puderfreie Einmalhandschuhe

Das RIDA®GENE Lac Intol Kit kann in Verbindung mit kompatiblen Workflows verwendet werden. Alternative Nukleinsäure-Extraktionsverfahren und real-time PCR-Geräte müssen durch den Anwender verifiziert/validiert werden. Kontaktieren Sie bitte die R-Biopharm AG zur Überprüfung der Kompatibilität unter pcr@r-biopharm.de.

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in-vitro*-Diagnostik.

Dieser Test ist nur von qualifiziertem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten.

Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.

In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken. Eine räumliche Trennung, gesonderte Kleidung und Instrumente für Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um eine Querkontamination oder falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.

Vermeiden Sie eine Kontamination der Proben und der Komponenten des Kits mit Mikroben und Nukleasen (DNase / RNase).

Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, entsprechend entsorgt werden.

Das Austauschen und Vermischen der Komponenten (Reaction Mix, Taq-Polymerase, Control A, Control B) einer Kit-Charge mit den Komponenten einer anderen Charge ist untersagt.

Das Testkit darf nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details zum Safety Data Sheet (SDS) finden Sie unter der Artikelnummer auf <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Für Anwender in der Europäischen Union: Im Zusammenhang mit dem Produkt auftretende schwerwiegenden Vorfälle sind der R-Biopharm AG und der zuständigen nationalen Behörde zu melden.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

8.1 Probenlagerung

Der Test ist für die Untersuchung humaner EDTA Vollblutproben entwickelt worden. Bis zur DNA-Extraktion sind die Proben bei Raumtemperatur bis zu 24 Stunden und bei 2 - 8 °C bis zu 72 Stunden zu lagern⁽⁶⁾. Eine mikrobielle Kontamination der Proben ist unbedingt zu vermeiden. Die Verwendung von Hitze inaktivierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder trüben Proben kann zu verfälschten Ergebnissen führen.

8.2 Probenvorbereitung

8.2.1 DNA-Isolierung aus EDTA Vollblut

Für die DNA-Isolierung aus EDTA Vollblut wird ein kommerziell erhältliches DNA-Isolierungskit oder DNA-Extraktionssystem (z.B. MagNA Pure 96 Instrument (Roche)) empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Bei Verwendung des MagNa Pure 96 Instrument (Roche) sollen aus 200 µl der EDTA Vollblutprobe DNA mit dem DNA/Viral NA SV Kit und dem Pathogen Universal 200 Protokoll extrahiert werden. Die DNA wird mit 50 µl Elutionspuffer eluiert.

9. Testdurchführung

9.1 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf müssen die Control A und Control B mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab. 3). Vor der Benutzung den **Reaction Mix**, die **Taq-Polymerase**, die **Control A** und die **Control B** auftauen, vortexen (mit Ausnahme der Taq-Polymerase) und kurz zentrifugieren. Reagenzien sind während der Arbeitsschritte stets geeignet zu kühlen (2 – 8 °C).

Tab. 3: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	Gesamt	20 µl	220 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

9.2 Herstellung des PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Platten) pipettieren.

Proben: Je 5 µl Eluat zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Kontrollen: Je 5 µl **Control A** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Je 5 µl **Control B** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz zentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab. 4, Tab. 5).

9.3 Geräteeinstellungen

9.3.1 Universal real-time PCR-Profil

Zur Harmonisierung der RIDA®GENE Assays wurde das RIDA®GENE Lac Intol Kit im Universalprofil verifiziert. Das bietet die Möglichkeit DNA und RNA Assays miteinander zu kombinieren. Daher ist im Universalprofil eine reverse Transkription vorangestellt.

Tab. 4: Universal real-time PCR Profil für den LightCycler® 480 II

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 5: Universal real-time PCR Profil für ABI 7500 Fast Dx und CFX96™ Dx

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.4 Detektionskanaleinstellung

Tab. 6: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Bemerkung
Roche LightCycler® 480 II	C13910 (WT)	465/510	RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) wird benötigt
	C13910T (Mut)	533/580	
	G22018 (WT)	533/610	
	G22018A (Mut)	618/660	
Applied Biosystems ABI 7500 Fast Dx	C13910 (WT)	FAM	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none
	C13910T (Mut)	VIC	
	G22018 (WT)	ROX	
	G22018A (Mut)	Cy5	
Bio-Rad CFX96™ Dx	C13910 (WT)	FAM	-
	C13910T (Mut)	VIC	
	G22018 (WT)	ROX	
	G22018A (Mut)	Cy5	

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. **Control A** und **Control B** müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 7).

Die **Control A** und **Control B** liegen jeweils in einer Konzentration von 10^3 Kopien/ μ l vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von 5×10^3 Kopien in jedem PCR-Lauf eingesetzt.

Tab. 7: Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen

Probe	FAM	ROX	VIC	Cy5	Zielgen Ct
Control A	+	+	-	-	Siehe Certificate of Analysis
Control B	-	-	+	+	Siehe Certificate of Analysis

* + = positiv
- = negativ

Wenn die beiden Kontrollen, **Control A** und **Control B**, nicht spezifikationsgerecht sind, ist der gesamte PCR-Lauf zu wiederholen. Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- Korrekte Testdurchführung

Sind bei Wiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm-Distributor.

11. Interpretation der Ergebnisse

Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 8.

Tab. 8: Interpretation der Ergebnisse*

Nachweis von				Ergebnis
C13910 (WT)	C13910T (Mut)	G22018 (WT)	G22018A (Mut)	
+	-	+	-	homozygot Wildtyp 13910, homozygot Wildtyp 22018
+	-	+	+	homozygot Wildtyp 13910, heterozygot 22018
+	+	-	+	heterozygot 13910, homozygot Mutation 22018
+	+	+	-	heterozygot 13910, homozygot Wildtyp 22018
+	+	+	+	heterozygot 13910, heterozygot 22018
-	+	+	-	homozygot Mutation 13910, homozygot Wildtyp 22018
+	-	-	+	homozygot Wildtyp 13910, homozygot Mutation 22018
-	+	-	+	homozygot Mutation 13910, homozygot Mutation 22018
-	+	+	+	homozygot Mutation 13910, heterozygot 22018
-	-	+ / -	+ / -	ungültig
+ / -	+ / -	-	-	ungültig
-	-	-	-	ungültig

* + = positiv
- = negativ

Hinweis: Die Fluoreszenzhöhe eines richtig-positiven Signals im VIC Kanal muss bei Nutzung des LightCycler® 480II (Roche), des CFX96™ Dx (Biorad) und des ABI 7500 Fast Dx (Applied Biosystems) mindestens 20 % des Fluoreszenzsignals der Control B betragen. Für eine eindeutigere Auswertung empfehlen wir den Threshold auf diesen Grenzwert (20 % Control B) zu legen.

Der PCR-Lauf ist nicht auswertbar, wenn die Kontrollen im Nachweissystem keine Amplifikation zeigen. Der gesamte PCR-Lauf ist zu wiederholen.

Der PCR-Lauf ist nicht auswertbar, wenn die Probe im Nachweissystem keine Amplifikation zeigt. In diesem Fall wurde entweder die DNA nicht zugegeben oder ungeeignete Template-DNA (Qualität, PCR-Inhibitoren) verwendet. Die extrahierte Probe sollte erneut amplifiziert oder die Isolierung und Reinigung der Probe sollte verbessert werden.

12. Grenzen der Methode

1. Das RIDA®GENE Lac Intol Kit weist die Positionen C13910 & G22018 und/oder deren mögliche SNPs (single nucleotide polymorphism) C13910T & G22018A im humanen *MCM6* Gen aus humanen EDTA Vollblutproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des ermittelten Ct-Werts und dem Auftreten schwerer klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem vollständigen klinischen Bild zu interpretieren.
2. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
3. Dieser Test ist nur für humane EDTA Vollblutproben verifiziert.
4. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.
5. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen.
6. Bei der verwendeten SNP-Technologie werden einzelne Basenaustausche nachgewiesen. Dies kann die Endpunktfluoreszenzhöhe beeinträchtigen.
7. Dieser Assay sollte gemäß der GLP-Verordnung (Gute Laborpraxis) durchgeführt werden. Der Anwender muss bei der Durchführung des Tests die Anweisungen des Herstellers genau befolgen.
8. Das Gendiagnostikgesetz (GenDG) setzt für alle genetischen Analysen gemäß GenDG eine ausführliche Aufklärung und eine schriftliche Einwilligung der Patienten voraus.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Analytische Leistungsmerkmale

13.1.1 Analytische Spezifität

Interferierende Substanzen

Das Vorhandensein von PCR-Inhibitoren und interferierenden Substanzen kann zu ungültigen Ergebnissen führen. Daher wurden die Auswirkungen verschiedener Substanzen, die aufgrund verbreitetem Vorkommen in den entsprechenden Proben vorliegen könnten, untersucht.

Substanzen, die möglicherweise die Testergebnisse signifikant beeinflussen könnten, wurden mit hohen Konzentrationen (Simulation des „worst case“) in einem Interferenz-Screen untersucht.

Für die in Tabelle 9 aufgeführten Substanzen wurden keine Interferenzen festgestellt:

Tab. 9: Potentiell interferierende Substanzen

Potentiell interferierende Substanz	Konzentration
Medunasal Heparin 500 I.U. Ampullen (Heparin)	15 U/ml
Cholesterin	3 mg/ml
Bilirubin	0,1 mg/ml
Hämoglobin	0,2 mg/ml
K ₂ EDTA	1,8 mg/ml

13.1.2 Präzision

Die Präzision des Lac Intol Kits wurde für folgende Betrachtungsebenen ermittelt.

Intra-Assay Präzision: Bestimmung von 7 Kontrollproben mit je 20 Replikaten auf dem LightCycler® 480 II unter identischen Bedingungen.

Inter-Assay Präzision: Bestimmung von 7 Kontrollproben in 20 Läufen in Duplikaten an 10 Arbeitstagen (2 Läufe pro Tag) von zwei unterschiedlichen Operatoren unter reproduzierbaren Bedingungen.

Die Testungen zur *Intra*- und *Inter*-Assay Präzision erfolgten mit drei unterschiedlichen Lots.

Die Präzisionsdaten wurden mit sieben Kontrollproben, sowie dem Assay zugehörige Kontrolle A und Kontrolle B ermittelt.

Der höchste erhaltene Variationskoeffizient der jeweiligen Messungen mit dem RIDA®GENE Lac Intol Kit auf dem LightCycler® 480 II lag bei 8,72 %.

Tab. 12: Ergebnisse der Präzision des Lac Intol Kits für den FAM-Kanal.

Ct- Mittelwert / VK		Intra-Assay			Inter-Assay			Inter- Lot
		Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3
1	Ct	23,3	23,4	22,9	23,6	24,2	24,2	24,0
	VK (%)	0,84 %	1,10 %	2,52 %	3,34 %	2,46 %	2,27 %	2,99 %
2	Ct	23,4	23,6	23,2	23,8	24,1	24,3	24,1
	VK (%)	1,46 %	0,95 %	1,80 %	2,22 %	2,37 %	2,20 %	2,44 %
3	Ct	23,6	23,8	23,6	23,9	24,2	24,6	24,2
	VK (%)	0,67 %	1,02 %	1,18 %	2,80 %	2,22 %	2,34 %	2,83 %
4	Ct	24,4	24,6	24,5	24,3	24,5	25,0	24,6
	VK (%)	1,41 %	1,01 %	1,14 %	2,91 %	2,46 %	2,63 %	2,96 %
5	Ct	24,1	24,2	23,9	24,0	24,3	24,6	24,3
	VK (%)	0,88 %	1,13 %	0,96 %	2,78 %	2,42 %	2,01 %	2,59 %
6	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Tab. 13: Ergebnisse der Präzision des Lac Intol Kits für den VIC-Kanal.

Ct- Mittelwert / VK	<i>Intra-Assay</i>			<i>Inter-Assay</i>			<i>Inter- Lot</i>	
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3	
1	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2	Ct	28,0	27,0	27,5	28,4	28,9	28,1	28,5
	VK (%)	1,81 %	2,13 %	3,62 %	2,71 %	2,70 %	4,38 %	3,58 %
3	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4	Ct	31,2	29,4	28,9	28,5	29,1	28,3	28,7
	VK (%)	5,35 %	8,72 %	1,75 %	2,42 %	2,03 %	3,86 %	3,15 %
5	Ct	28,7	28,0	27,3	27,2	27,3	27,0	27,2
	VK (%)	2,41 %	6,02 %	3,44 %	1,75 %	1,73 %	2,84 %	2,21 %
6	Ct	27,5	26,5	26,8	26,9	26,9	26,8	26,9
	VK (%)	1,40 %	1,33 %	0,97 %	1,30 %	1,46 %	1,34 %	1,37 %
7	Ct	25,9	25,8	25,6	26,5	26,7	26,2	26,5
	VK (%)	0,87 %	1,36 %	0,88 %	1,63 %	1,04 %	1,75 %	1,75 %

Tab. 14: Ergebnisse der Präzision des Lac Intol Kits für den ROX-Kanal.

Ct- Mittelwert / VK	<i>Intra-Assay</i>			<i>Inter-Assay</i>			<i>Inter- Lot</i>	
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3	
1	Ct	23,4	23,2	23,3	24,0	24,4	24,5	24,3
	VK (%)	0,95 %	1,08 %	1,89 %	2,47 %	2,16 %	2,07 %	2,46 %
2	Ct	23,7	23,5	24,0	24,4	24,5	24,8	24,6
	VK (%)	1,00 %	0,81 %	1,56 %	1,98 %	2,07 %	1,69 %	2,06 %
3	Ct	23,6	23,4	23,9	24,2	24,4	24,9	24,5
	VK (%)	0,64 %	1,35 %	1,46 %	2,43 %	2,25 %	2,23 %	2,61 %
4	Ct	24,7	25,1	24,7	24,8	25,0	25,3	25,1
	VK (%)	1,22 %	1,24 %	1,28 %	2,52 %	2,34 %	2,33 %	2,53 %
5	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
6	Ct	24,2	24,4	24,0	24,4	24,4	24,6	24,4
	VK (%)	0,94 %	1,32 %	1,10 %	2,71 %	2,40 %	2,60 %	2,57 %
7	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Tab. 15: Ergebnisse der Präzision des Lac Intol Kits für den Cy5-Kanal.










Ct- Mittelwert / VK		Intra-Assay			Inter-Assay			Inter- Lot
		Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3
1	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3	Ct	25,5	26,0	28,3	25,7	26,1	27,0	26,3
	VK (%)	1,06 %	1,54 %	4,10 %	2,74 %	3,19 %	3,69 %	4,06 %
4	Ct	25,9	26,2	26,2	26,2	26,4	27,4	26,7
	VK (%)	1,62 %	2,90 %	1,54 %	3,48 %	2,86 %	3,19 %	3,95 %
5	Ct	25,3	25,6	25,7	25,7	25,8	26,5	26,0
	VK (%)	0,95 %	1,84 %	0,61 %	2,17 %	2,11 %	1,75 %	2,55 %
6	Ct	25,5	25,8	25,7	26,0	26,0	26,4	26,1
	VK (%)	1,29 %	1,03 %	0,99 %	3,33 %	2,59 %	3,05 %	3,07 %
7	Ct	25,4	25,5	25,8	25,4	25,5	26,1	25,7
	VK (%)	0,90 %	1,16 %	0,86 %	2,28 %	1,94 %	2,28 %	2,58 %

14. Versionsübersicht





Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2022-05-11	Freigabeversion

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

	Reaktions-Mix
	Taq-Polymerase
	Kontrolle A
	Kontrolle B

16. Literatur

1. Toca MDC, Fernández A, Orsi M, Tabacco O, Vinderola G. Lactose intolerance: myths and facts. An update. *Arch Argent Pediatr.* 2022;120(1):59-66.
2. Misselwitz B, Butter M, Verbeke K, Fox MR. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut.* 2019;68(11):2080-91.
3. Morelli L, Amrani N, Goulet O, Lukito W. Lactose Intolerance Clinical Symptoms, Diagnosis and Treatment. *Global Diabetes Open Access Journal.* 2019;1(1):1-10
4. Catanzaro R, Sciuto M, Marotta F. Lactose Intolerance—Old and New Knowledge on Pathophysiological Mechanisms, Diagnosis, and Treatment. *SN Comprehensive Clinical Medicine.* 2021;3:499-509.
5. Anguita-Ruiz A, Aguilera CM, Gil Á. Genetics of Lactose Intolerance: An Updated Review and Online Interactive World Maps of Phenotype and Genotype Frequencies. *Nutrients.* 2020;12(9).
6. Probenlagerung vor Extraktion: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI document MM13-A, Vol. 24, N. 31, 2005