

RIDA® GENE Lac Intol

REF PY4215



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrasse 17, 64297 Darmstadt, Germania

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



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*.

Il test RIDA®GENE Lac Intol, eseguito su LightCycler® 480 II, è una PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa e la differenziazione di C13910 e G22018 e dei loro SNP (polimorfismi a singolo nucleotide) C13910T e G22018A nel gene MCM6 umano da campioni di sangue intero con EDTA di soggetti con segni e sintomi di intolleranza al lattosio.

Il test RIDA®GENE Lac Intol è concepito per supportare la diagnosi nei pazienti con sintomi di intolleranza al lattosio in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio.

I risultati dei test non devono essere usati come unica base per la diagnosi.

Il prodotto è destinato all'uso professionale.

2. Sintesi e spiegazione del test

Il lattosio, un disaccaride composto da galattosio e glucosio, è la principale fonte energetica del latte per l'uomo e gli animali.

Il legame glicosidico β -(1,4) può essere scisso dall'enzima lattasi; in questo modo i due monosaccaridi diventano disponibili per l'organismo ⁽¹⁾. La scissione e l'assorbimento avvengono nell'intestino tenue. I monosaccaridi vengono successivamente trasportati all'interno delle cellule epiteliali (enterociti) ⁽²⁾. La quantità di lattasi aumenta durante la gravidanza e raggiunge il valore massimo pochi giorni dopo la nascita. I livelli di lattasi diminuiscono naturalmente nel corso della vita per effetto di regolatori a livello genetico ⁽¹⁾. Tuttavia, il 50% dell'attività dell'enzima è sufficiente per scindere il lattosio adeguatamente ⁽³⁾. Se la scissione del lattosio è insufficiente o del tutto assente, il carico osmotico diventa eccessivo e il contenuto di liquidi nell'intestino aumenta. Inoltre, il lattosio arriva nell'intestino crasso, dove fermenta per l'azione della flora batterica intestinale, contribuendo alla produzione di acidi grassi a catena corta e di gas come idrogeno, anidride carbonica e metano ⁽⁴⁾. Questo, a sua volta, può causare sintomi clinici come gonfiore, dolore addominale, crampi e/o senso di ripienezza postprandiale, eruttazioni, diarrea e in alcuni casi costipazione, nausea e vomito ^(1,4). Il gene che codifica per la lattasi si chiama *LCT* ed è localizzato sul cromosoma 2. Il gene *MCM6* (minichromosome maintenance complex component 6), che si trova circa 14 Kb a monte del gene della lattasi, funziona come intensificatore. Diversi polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), tra cui 13910 C/T e 22018 G/A in questo gene, sono associati alla persistenza della lattasi. Questo cambiamento porta a nuovi siti di legame dei fattori di trascrizione, contribuendo così all'espressione del gene *LCT* nel corso della vita ^(2,4,5). Pertanto l'intolleranza al lattosio non è una malattia; la sua prevalenza globale è del 57% e oltre ^(2,3). La prevalenza varia in base alla regione. L'Europa ha una prevalenza media del 28%, con valori che variano dal 2% in Scandinavia al 70% in Sicilia ⁽²⁾.

3. Principio del test

Il test RIDA®GENE Lac Intol è una PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa e la differenziazione di C13910 e G22018 e dei loro possibili SNP (polimorfismi a singolo nucleotide) C13910T e G22018A nel gene *MCM6* umano in campioni di sangue umano intero con EDTA. Dopo l'isolamento del DNA, i frammenti di geni specifici vengono amplificati come wild type o come mutazione.

Le sequenze target amplificate vengono rivelate con sonde a idrolisi etichettate con un quencher a un'estremità e un colorante reporter fluorescente (fluoroforo) all'altra estremità. In presenza di una sequenza target, le sonde ibridano con l'amplicone.

Durante l'estensione, la **Taq-Polymerase** separa il reporter dal quencher. Il reporter emette un segnale fluorescente che viene rivelato dall'unità ottica di uno strumento di PCR real-time. Il segnale fluorescente aumenta con la quantità di ampliconi formati.

4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 100 determinazioni.

Tabella 1: Contenuto della confezione

Codice del kit	Reagente	Quantità		Colore del tappo
1	Reaction Mix	2 ×	1050 µL	giallo, pronto per l'uso
2	Taq-Polymerase	1 ×	80 µL	rosso, pronto per l'uso
Per	Control A	1 ×	200 µL	blu, pronto per l'uso
B	Control B	1 ×	200 µL	verde, pronto per l'uso

5. Istruzioni di conservazione

- Seguire le linee guida per la manipolazione contenute nella Tabella 2 e riporre il kit immediatamente dopo l'uso attenendosi alle informazioni specificate.
- Tutti i reagenti devono essere conservati lontano dalla luce a una temperatura di -20 °C, e prima dell'apertura possono essere utilizzati fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.
- Tutti i reagenti devono essere scongelati con cura prima dell'uso (ad esempio in frigorifero a 2–8 °C).
- Ripetuti cicli di congelamento e scongelamento (fino a 5 volte) non influiscono sulla proprietà del test (se necessario, creare aliquote dopo il primo scongelamento e ricongelare i reagenti immediatamente).
- Raffreddare adeguatamente tutti i reagenti durante la preparazione della PCR (2–8 °C).

Tabella 2: Condizioni di conservazione e informazioni

	Temperatura di conservazione	Tempo massimo di conservazione
prima dell'apertura	-20 °C	Utilizzabile fino alla data di scadenza indicata
dopo l'apertura	-20 °C	5 cicli di congelamento e scongelamento

6. Reagenti necessari ma non forniti

6.1 Attrezzatura di laboratorio

Per utilizzare il kit RIDA[®]GENE Lac Intol occorre la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Piattaforma di estrazione: Strumento MagNA Pure 96 (Roche)
Dispositivi per PCR real-time: <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) per l'uso con il LightCycler [®] 480 II
Materiali di consumo per PCR real-time (piastre [profilo basso, pozzetti bianchi, telaio trasparente], cuvette di reazione, vetrini)
Centrifuga con rotore per piastre
Agitatore a vortice
Pipette (0,5–20 µL, 20–200 µL, 100–1000 µL)
Puntali per pipette con filtri
Guanti monouso senza talco

Il kit RIDA[®]GENE Lac Intol può essere utilizzato in combinazione con flussi di lavoro compatibili. Procedure alternative di estrazione dell'acido nucleico e dispositivi di PCR real-time diversi da quelli indicati devono essere verificati/convalidati dall'utente. Contattare R-Biopharm AG per verificare la compatibilità all'indirizzo pcr@r-biopharm.de.

7. Avvertenze e misure precauzionali

Solo per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.

Nell'eseguire il test attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso.

Non pipettare con la bocca campioni o reagenti. Evitare il contatto con lesioni cutanee e mucose.

Durante la manipolazione di campioni e reagenti indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, camice e occhiali di sicurezza adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test.

Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni.

Per prevenire la contaminazione crociata e risultati falsi positivi è necessario utilizzare stanze separate e indumenti e strumenti dedicati per l'estrazione, la preparazione e l'esecuzione della PCR.

Evitare di contaminare i campioni e i componenti del kit con microbi e nucleasi (DNase/RNase).

I campioni clinici devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere smaltiti in modo appropriato, come tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi.

Non scambiare o mescolare i componenti (Reaction Mix, Taq Polymerase, Control A, Control B) di un lotto di un kit con i componenti di un altro lotto.

Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza. Gli operatori sono tenuti al corretto smaltimento di tutti i reagenti e materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

Ulteriori dettagli sulla scheda di dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS) sono disponibili cercando il codice articolo alla pagina

<https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Per gli utenti nell'Unione europea: segnalare tutti gli eventi avversi gravi associati al prodotto a R-Biopharm AG e alle autorità nazionali competenti.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

8.1 Conservazione del campione

Questo test è stato sviluppato per l'esame di campioni di sangue intero umano con EDTA. I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente per un massimo di 24 ore e a 2–8 °C per un massimo di 72 ore fino all'estrazione del DNA ⁽⁶⁾. Evitare la contaminazione microbica dei campioni. L'uso di sieri lipemici, emolitici, itterici od opachi inattivati dal calore potrebbe produrre risultati anomali.

8.2 Preparazione dei campioni

8.2.1 Isolamento del DNA dal sangue intero con EDTA

Per isolare il DNA da sangue intero con EDTA si raccomanda un kit di isolamento del DNA o un sistema di estrazione del DNA disponibile in commercio (ad esempio MagNA Pure 96 (Roche)). Attenersi alle istruzioni del produttore.

Se si utilizza lo strumento MagNA Pure 96 (Roche), estrarre 200 µL di DNA da sangue intero con EDTA utilizzando il kit DNA/Viral NA SV e il protocollo Pathogen Universal 200. Eluire il DNA con 50 µL di tampone di eluizione.

9. Esecuzione del test

9.1 Preparazione della master mix

Per la PCR è necessario calcolare il numero totale di reazioni (campioni e reazioni di controllo). I controlli A e B devono essere inclusi durante ogni ciclo di test.

Si consiglia di aggiungere un ulteriore 10% di volume alla master mix per compensare eventuali perdite durante il pipettaggio (vedere Tabella 3). Prima dell'uso, scongelare la **Reaction Mix** la **Taq-Polymerase**, il **Control A** e il **Control B**, vorticare (tranne la Taq-Polymerase) e centrifugare brevemente. I reagenti devono essere sempre adeguatamente raffreddati durante le fasi di lavoro (2–8 °C).

Tabella 3: Esempio per il calcolo e la produzione di master mix per 10 reazioni

Codice del kit	Componenti della master mix	Quantità per reazione	10 reazioni (più 10%)
1	Reaction Mix	19,3 µL	212,3 µL
2	Taq-Polymerase	0,7 µL	7,7 µL
	Totale	20 µL	220 µL

Mescolare la master mix e quindi centrifugare per breve tempo.

9.2 Preparazione della PCR mix

Pipettare 20 µL della master mix in ogni cuvetta di reazione (piastre).

Campioni: Aggiungere 5 µL di eluato a ciascuna master mix pipettata in precedenza.

Controlli: Aggiungere 5 µL di **Control A** a ciascuna master mix pipettata in precedenza.

Aggiungere 5 µL di **Control B** a ciascuna master mix pipettata in precedenza.

Chiudere le piastre, centrifugare brevemente a bassa velocità e trasferire allo strumento di PCR real-time. Avviare la PCR in base alle impostazioni dello strumento (vedere Tabella 4 e Tabella 5).

9.3 Impostazioni del dispositivo

9.3.1 Profilo per PCR real-time universale

Per armonizzare i test RIDA®GENE, il kit RIDA®GENE Lac Intol è stato verificato nel profilo universale. Questo rende possibile combinare tra loro i test del DNA e dell'RNA. Pertanto la trascrizione inversa è il primo passaggio del profilo universale.

Tabella 4: Profilo universale PCR real-time per LightCycler® 480 II

Trascrizione inversa	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
PCR Denaturazione	10 s, 95 °C
Appaiamento/estensione	15 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura/ velocità di rampa	Durata di conservazione

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

Tabella 5: Profilo RT-PCR real-time universale per ABI 7500 Fast Dx e CFX96™ Dx

Trascrizione inversa	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
PCR Denaturazione	15 s, 95 °C
Appaiamento/estensione	30 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura/ velocità di rampa	Durata di conservazione

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

9.4 Impostazione del canale di rivelazione

Tabella 6: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Strumento di PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Nota
Roche LightCycler® 480 II	C13910 (WT)	465/510	È necessario RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004).
	C13910T (Mut)	533/580	
	G22018 (WT)	533/610	
	G22018A (Mut)	618/660	
Applied Biosystems ABI 7500 Fast Dx	C13910 (WT)	FAM	Impostare il colorante di riferimento passivo ROX su nessuno.
	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. Controllo qualità – indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

I campioni vengono valutati utilizzando il software di analisi dello strumento di PCR real-time in base alle istruzioni del fabbricante. Il **Control A** e il **Control B** devono indicare i risultati corretti (vedere Tabella 7).

Il **Control A** e il **Control B** sono presenti ciascuno in una concentrazione di 10^3 copie/ μ L. Viene utilizzato in una quantità totale di 5×10^3 copie in ogni ciclo di PCR.

Tabella 7: Un ciclo di PCR valido deve soddisfare le seguenti condizioni:

Campione	FAM	ROX	VIC	Cy5	Ct gene target
Controllo A	+	+	-	-	Vedere Certificate of Analysis
Controllo B	-	-	+	+	Vedere Certificate of Analysis

* + = positivo
- = negativo

Se entrambi i controlli, **Control A** e **Control B** non sono in linea con le specifiche è necessario ripetere l'intero ciclo di PCR. Se i valori specificati non sono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare quanto segue:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata
- Correttezza della procedura di esecuzione del test

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo aver ripetuto il test, rivolgersi al fabbricante o al proprio distributore R-Biopharm locale.

11. Interpretazione del risultato

I risultati del campione sono interpretati secondo la Tabella 8.

Tabella 8: Interpretazione del risultato*

Rivelazione di				Risultato
C13910 (WT)	C13910T (Mut)	G22018 (WT)	G22018A (Mut)	
+	-	+	-	Omozigote wild type 13910 Omozigote wild type 22018
+	-	+	+	Omozigote wild type 13910 Eterozigote 22018
+	+	-	+	Eterozigote 13910 Mutazione omozigote 22018
+	+	+	-	Eterozigote 13910 Omozigote wild type 22018
+	+	+	+	Eterozigote 13910 Eterozigote 22018
-	+	+	-	Mutazione omozigote 13910 Omozigote wild type 22018
+	-	-	+	Omozigote wild type 13910 Mutazione omozigote 22018
-	+	-	+	Mutazione omozigote 13910 Mutazione omozigote 22018
-	+	+	+	Mutazione omozigote 13910 Eterozigote 22018
-	-	+ / -	+ / -	non valido
+ / -	+ / -	-	-	non valido
-	-	-	-	non valido

* + = positivo
- = negativo

Nota: Quando si utilizzano LightCycler® 480 II (Roche), CFX96™ Dx (Biorad) e ABI 7500 Fast Dx (Applied Biosystems), il livello di fluorescenza di un segnale realmente positivo nel canale VIC deve essere almeno il 20% del segnale di fluorescenza del controllo B. Per una valutazione più certa, si raccomanda di impostare la soglia a questo limite (20% del controllo B).

Il ciclo di PCR non può essere valutato se i controlli non mostrano alcuna amplificazione nel sistema di rivelazione. L'intero ciclo di PCR deve essere ripetuto.

Il ciclo di PCR non può essere valutato se il campione non mostra amplificazione nel sistema di rivelazione. In questo caso, o il DNA non è stato aggiunto o è stato usato un DNA stampo non adatto (qualità, inibitore della PCR). Il campione estratto deve essere nuovamente amplificato oppure è necessario migliorare l'isolamento e la pulizia del campione.

12. Limiti del metodo

1. Il test RIDA[®]GENE Lac Intol rivela C13910 e G22018 e/o i loro possibili SNP (polimorfismi a singolo nucleotide) C13910T e G22018A nel gene *MCM6* umano in campioni di sangue intero umano con EDTA. Pertanto, non è possibile dedurre una correlazione tra il livello di un determinato valore Ct e la presenza di sintomi clinici gravi. I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati in combinazione con la sintomatologia clinica nel suo complesso.
2. La diagnosi non dovrebbe basarsi solo sul risultato del test biologico molecolare, ma dovrebbe sempre tenere conto dell'anamnesi e dei sintomi del paziente.
3. Questo test è valido solo per i campioni di sangue intero umano con EDTA.
4. Procedure inadatte di estrazione, trasporto, conservazione e manipolazione dei campioni possono produrre risultati falsi negativi.
5. La presenza di inibitori della PCR può portare a risultati falsi negativi o non validi.
6. Gli scambi di singole basi vengono rivelati per la tecnologia SNP utilizzata. Questo può influire negativamente sul livello di fluorescenza dell'endpoint.
7. Questo test deve essere eseguito in conformità con il regolamento sulla buona pratica di laboratorio. Durante l'esecuzione del test, gli operatori devono seguire esattamente le istruzioni del fabbricante.
8. La legge tedesca sulla diagnostica genetica (GenDG) richiede una spiegazione dettagliata e un consenso scritto dei pazienti per tutte le analisi genetiche ai sensi della GenDG.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Prestazioni e caratteristiche analitiche

13.1.1 Specificità analitica

Sostanze interferenti

La presenza di inibitori della PCR e di sostanze interferenti può inficiare la validità dei risultati. Pertanto sono stati testati gli effetti di varie sostanze che potrebbero essere presenti nei campioni in ragione della loro ampia diffusione.

Le sostanze che potrebbero influire in modo significativo sui risultati del test sono state esaminate ad alte concentrazioni (simulazione del caso peggiore) in un'analisi di interferenza.

Non sono state individuate interferenze per le sostanze elencate nella Tabella 9.

Tabella 9: Sostanze potenzialmente interferenti

Sostanza potenzialmente interferente	Concentrazione
Medunasal Heparin 500 I.U. fiale (eparina)	15 U/mL
Colesterolo	3 mg/mL
Bilirubina	0,1 mg/mL
Emoglobina	0,2 mg/mL
K ₂ EDTA	1,8 mg/mL

13.1.2 Precisione

La precisione del kit Lac Intol è stata determinata per i seguenti livelli di valutazione.

Precisione *intra*-test: determinazione di 7 campioni di controllo utilizzando 20 replicati ciascuno su LightCycler® 480 II in condizioni identiche.

Precisione *inter*-test: determinazione di 7 campioni di controllo in 20 cicli in duplicato in 10 giorni di lavoro (2 cicli al giorno), eseguiti da due tecnici diversi in condizioni riproducibili.

La precisione intra- e inter-test è stata verificata utilizzando tre diversi lotti.

I dati di precisione sono stati determinati con sette campioni di controllo e con i controlli A e B associati al test.

Il massimo coefficiente di variazione ottenuto dalle misurazioni con il kit RIDA®GENE Lac Intol su LightCycler® 480 II è stato 8,72%.

Tabella 12: Risultati della precisione del kit Lac Intol per il canale FAM.

Valore medio Ct / CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lotto	
	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3	
1	Ct	23,3	23,4	22,9	23,6	24,2	24,2	24,0
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	0,88%	1,13%	0,96%	2,78%	2,42%	2,01%	2,59%
6	Ct	neg.						
	CV (%)	non disponibile						
7	Ct	neg.						
	CV (%)	non disponibile						

Tabella 13: Risultati della precisione del kit Lac Intol per il canale VIC.

Valore medio Ct / CV		Intra-test			Inter-test			Inter-lotto
		Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3
1	Ct	neg.						
	CV (%)	non disponibile						
2	Ct	28,0	27,0	27,5	28,4	28,9	28,1	28,5
	CV (%)	1,81%	2,13%	3,62%	2,71%	2,70%	4,38%	3,58%
3	Ct	neg.						
	CV (%)	non disponibile						
4	Ct	31,2	29,4	28,9	28,5	29,1	28,3	28,7
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	0,87%	1,36%	0,88%	1,63%	1,04%	1,75%	1,75%

Tabella 14: Risultati della precisione del kit Lac Intol per il canale ROX.

Valore medio Ct / CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lotto</i>	
	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3	
1	Ct	23,4	23,2	23,3	24,0	24,4	24,5	24,3
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	1,22%	1,24%	1,28%	2,52%	2,34%	2,33%	2,53%
5	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile
6	Ct	24,2	24,4	24,0	24,4	24,4	24,6	24,4
	CV (%)	0,94%	1,32%	1,10%	2,71%	2,40%	2,60%	2,57%
7	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile

Tabella 15: Risultati della precisione del kit Lac Intol per il canale Cy5.

Valore medio Ct / CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lotto</i>
	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3
1	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile
2	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile
3	Ct	25,5	26,0	28,3	25,7	26,1	27,0
	CV (%)	1,06%	1,54%	4,10%	2,74%	3,19%	3,69%
4	Ct	25,9	26,2	26,2	26,2	26,4	27,4
	CV (%)	1,62%	2,90%	1,54%	3,48%	2,86%	3,19%
5	Ct	25,3	25,6	25,7	25,7	25,8	26,5
	CV (%)	0,95%	1,84%	0,61%	2,17%	2,11%	1,75%
6	Ct	25,5	25,8	25,7	26,0	26,0	26,4
	CV (%)	1,29%	1,03%	0,99%	3,33%	2,59%	3,05%
7	Ct	25,4	25,5	25,8	25,4	25,5	26,1
	CV (%)	0,90%	1,16%	0,86%	2,28%	1,94%	2,28%

14. Cronologia delle versioni

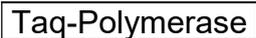
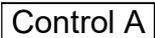
Numero della versione	Sezione e denominazione
2022-05-11	Versione di rilascio

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	Attenersi al manuale operativo
	Numero di lotto
	Data di scadenza
	Temperatura di conservazione
	Numero di catalogo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Fabbricante

Simboli specifici del test

	Miscela di reazione
	Taq Polimerasi
	Controllo A
	Controllo B

16. Bibliografía

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