

RIDA® GENE Lac Intol

REF PY4215



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

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



1. Uso previsto

Para diagnóstico *in vitro*.

O teste RIDA®GENE Lac Intol, que é realizado no LightCycler® 480 II, é um PCR em tempo real multiplex para a detecção qualitativa e diferenciação de C13910 e G22018, bem como os seus SNP (polimorfismos de nucleotídeo único) C13910T e G22018A no gene humano MCM6 a partir de amostras de sangue total humano com EDTA com sinais e sintomas de intolerância à lactose.

O teste RIDA®GENE Lac Intol se destina a ajudar o diagnóstico de pacientes com sintomas de intolerância à lactose em conexão com outros achados clínicos e laboratoriais.

O resultado do teste não deve ser usado como única base para o diagnóstico.

O produto é destinado ao uso profissional.

2. Sumário e explicação do teste

Lactose, um dissacarídeo composto por galactose e glucose, é a principal fonte de energia do leite em humanos e animais.

A ligação glicosídica β -(1,4) pode ser decomposta pela enzima lactase, tornando assim os monossacarídeos disponíveis para utilização posterior⁽¹⁾. A quebra e a adsorção acontecem no intestino delgado. Os monossacarídeos são posteriormente transportados dentro das células epiteliais (enterócitos)⁽²⁾. A quantidade de lactase aumenta durante a gravidez e atinge seu valor mais alto alguns dias após o nascimento. O conteúdo de lactase diminui ao longo da vida através de reguladores a nível genético⁽¹⁾. No entanto, 50 % da atividade de lactase é suficiente para quebrar eficazmente a lactose⁽³⁾. Se a lactose só pode ser decomposta em pequenas quantidades ou não pode ser decomposta, isto leva a uma carga osmótica excessiva e aumenta o conteúdo de água no intestino. Além disso, a lactose entra no intestino grosso, onde é fermentada por bactérias intestinais, contribuindo para a produção de ácidos graxos e gases de cadeia curta, como hidrogênio, dióxido de carbono e metano.⁽⁴⁾ Isto, por sua vez, pode causar sintomas clínicos como inchaço, dor abdominal, cólicas e/ou plenitude pós-prandial, arroto, diarreia e, em alguns casos, constipação, náusea e vômito.^(1,4) O gene que codifica a lactase é chamado *LCT* e está localizado no cromossomo 2. O gene *MCM6* (componente 6 do complexo de manutenção de minicromossomos), que está localizado aproximadamente 14 Kb a montante do gene da lactase, funciona como um potenciador. Diferentes polimorfismos de nucleotídeos simples (SNPs), incluindo 13910 C/T e 22018 G/A neste gene, estão associados à persistência da lactase. Esta mudança leva a novos locais de ligação do fator de transcrição, contribuindo assim para uma expressão vitalícia do gene *LCT*^(2,4,5). A intolerância à lactose não é, portanto, uma doença; ela tem uma prevalência global de 57 % e mais^(2,3). Isto varia de região para região. A Europa tem uma prevalência média de 28 %, variando de 2 % na Escandinávia e 70 % na Sicília.⁽²⁾

3. Princípio do teste

O teste RIDA®GENE Lac Intol é um PCR em tempo real multiplex para a detecção qualitativa e diferenciação de C13910 e G22018, bem como os seus possíveis SNP (polimorfismos de nucleotídeo único) C13910T e G22018A no gene humano *MCM6* a partir de amostras de sangue total humano com EDTA. Após o isolamento do DNA, os fragmentos de genes específicos são amplificados como um tipo selvagem, ou como uma mutação.

As sequências-alvo amplificadas são detectadas com sondas de hidrólise etiquetadas com um supressor em uma extremidade e um corante de repórter fluorescente (fluoróforo) na outra. As sondas hibridam com o fragmento amplificado na presença de uma sequência-alvo. Durante a extensão, a **Taq-Polymerase** separa o repórter do supressor. O repórter emite um sinal fluorescente que é detectado pela unidade óptica de um instrumento de PCR em tempo real. O sinal fluorescente aumenta com a quantidade de fragmentos amplificados formados.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes no kit são suficientes para 100 determinações.

Tabela 1: Reagentes fornecidos

Código do kit	Reagente	Quantidade		Cor da tampa
1	Reaction Mix	2 ×	1050 µL	amarelo, pronto para uso
2	Taq-Polymerase	1 ×	80 µL	vermelho, pronto para uso
A	Control A	1 ×	200 µL	azul, pronto para uso
B	Control B	1 ×	200 µL	verde, pronto a usar

5. Instruções de armazenamento

- Siga as diretrizes de manuseamento da Tabela 2 e guarde o kit diretamente após a utilização, de acordo com as informações especificadas.
- Todos os reagentes devem ser armazenados longe da luz a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, se não abertos, podem ser usados até a data de validade impressa no rótulo. Nenhuma garantia de qualidade poderá ser assegurada após o término da data de validade.
- Todos os reagentes devem ser cuidadosamente descongelados antes do uso (por exemplo, em uma geladeira entre $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- O congelamento/descongelamento repetidos até 5 vezes não afeta as propriedades do teste (se necessário, crie alíquotas após o primeiro descongelamento e recongele os reagentes imediatamente).
- Arrefecer todos os reagentes adequadamente durante a preparação da PCR ($2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Tabela 2: Condições de armazenamento e informação

	Temperatura de armazenamento	Tempo máximo de armazenamento
fechado	$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	Pode ser usado até a data de validade impressa
aberto	$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$	5 ciclos de congelamento-descongelamento

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

6.1 Equipamento laboratorial

Os seguintes equipamentos são necessários para realizar o kit RIDA®GENE Lac Intol:

Equipamentos
Plataforma de extração: Instrumento MagNA Pure 96 (Roche)
Dispositivos PCR em tempo real: <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) ao usar o LightCycler® 480 II
Consumíveis PCR em tempo real (placas (baixo perfil, poços brancos, armação transparente), tubos de ensaio, lâminas)
Centrífuga com rotor para placas
Vortexer
Pipetas (0,5 - 20 µL, 20 - 200 µL, 100 - 1000 µL)
Pontas da pipeta com filtros
Luvas descartáveis sem pó

O kit RIDA®GENE Lac Intol pode ser utilizado em conjunto com fluxos de trabalho compatíveis. Procedimentos alternativos de extração de ácido nucléico e dispositivos PCR em tempo real devem ser verificados/validados pelo usuário. Por favor entre em contato com a R-Biopharm AG para revisar a compatibilidade em pcr@r-biopharm.de.

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Apenas para uso em Diagnóstico *in vitro*.

Esse teste deve ser realizado apenas por pessoal de laboratório qualificado. Devem ser observadas as diretrizes para trabalho em laboratórios médicos.

Ao realizar este teste, sempre siga estritamente o manual de operação.

Não pipete amostras ou reagentes usando a boca. Evite o contato com membranas mucosas e pele lesionada.

Utilize equipamentos de segurança pessoal (luvas adequadas, jaleco, óculos de segurança) ao manusear os reagentes e as amostras, e lave as mãos após concluir o teste.

Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras estiverem sendo manipuladas.

Salas separadas, vestuário especial e instrumentos para extração, preparação de PCR, o PCR deve ser usado para evitar a contaminação cruzada e resultados falso-positivos.

Evite contaminar as amostras e componentes do kit com micróbios e nucleases (DNase/RNase).

As amostras clínicas devem ser vistas como potencialmente infecciosas e devem ser descartadas adequadamente, como todos os reagentes e materiais que entram em contato com amostras potencialmente infecciosas.

Não troque ou misture os componentes (Reaction Mix, Taq-Polymerase, Control A, Control B) de um lote com os componentes de outro lote.

Não use o kit de teste após o prazo de validade. Os usuários são os responsáveis por descartar de modo adequado todos os reagentes e materiais após sua utilização. Para o descarte, cumpra com os regulamentos nacionais.

Mais detalhes sobre as Folhas de Dados de Segurança (Safety Data Sheet, SDS) podem ser encontrados sob o número do item em <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Para usuários na União Europeia: Comunicar todos os eventos adversos graves associados ao produto à R-Biopharm AG e às autoridades nacionais competentes.

8. Coleta e armazenamento de amostras

8.1 Armazenamento de amostras

Este teste foi desenvolvido para o exame de amostras de sangue total humano com EDTA. As amostras devem ser armazenadas em temperatura ambiente por até 24 horas e entre 2 - 8 °C por até 72 horas até a extração do DNA.⁽⁶⁾ Deve ser evitada a contaminação microbiana das amostras. A utilização de soros lipêmicos, hemolíticos, ictericos ou opacos, inativados pelo calor, podem gerar resultados distorcidos.

8.2 Preparação da amostra

8.2.1 Isolamento de DNA a partir de sangue total com EDTA

Um kit de isolamento de DNA disponível no mercado ou um sistema de extração de DNA (por exemplo, equipamento MagNA Pure 96 (Roche)) é recomendado para o isolamento de DNA de sangue total com EDTA. As instruções do fabricante devem ser observadas.

Ao usar o instrumento MagNA Pure 96 (Roche), extraia 200 µL de DNA EDTA de sangue total usando o kit DNA/Viral NA SV e o protocolo Pathogen Universal 200. Elua o DNA com 50 µL de tampão de eluição.

9. Realização do teste

9.1 Preparação da Mistura Principal

O número total de reações necessárias para a PCR (amostras e reações de controle) deve ser calculado. Em cada teste realizado, devem ser incluídos um controle A e um controle B.

Recomenda-se acrescentar um volume adicional de 10 % à Mistura Principal a fim de compensar qualquer perda da pipetagem (consulte a Tabela 3). Antes de utilizar, descongele a **Reaction Mix**, a **Taq-Polymerase**, o **Control A** e o **Control B**, misture com vórtice (exceto a Taq-Polymerase), e centrifugue brevemente. Os reagentes devem ser sempre resfriados adequadamente durante as etapas de trabalho (2 - 8 °C).

Tabela 3: Exemplo para o cálculo e produção da mistura principal para 10 reações

Código do kit	Componentes da Mistura Principal	Quantidade por reação	10 reações (mais 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µL	212,3 µL
2	Taq-Polymerase	0,7 µL	7,7 µL
	Total	20 µL	220 µL

Misture a Mistura Principal e depois centrifugue por pouco tempo.

9.2 Preparação da mistura de PCR

Pipete 20 µL da mistura principal em cada tubo de ensaio (placas).

Amostras: Adicione 5 µL de eluato a cada mistura principal pré-pipetada.

Controles: Adicione 5 µL de **Control A** a cada mistura principal pré-pipetada.

Adicione 5 µL de **Control B** a cada mistura principal pré-pipetada.

Selar as placas, centrifugar brevemente em velocidade lenta e transferir para o instrumento de PCR em tempo real. Inicie o PCR de acordo com a configuração do instrumento de PCR (ver Tabela 4 e Tabela 5).

9.3 Configurações do dispositivo

9.3.1 Perfil de PCR em tempo real universal

Para harmonizar os ensaios RIDA®GENE, o kit RIDA®GENE Lac Intol foi verificado no perfil universal. Isto torna possível combinar os ensaios de DNA e RNA um com o outro. A transcrição inversa, portanto, vem em primeiro lugar no perfil universal.

Tabela 4: Perfil de PCR em tempo real universal para o LightCycler® 480 II

<u>Transcrição reversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturação inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturação	10 s, 95 °C
Recozimento/extensão	15 s, 60 °C
Índice da temperatura de transição/ índice de subida	Tempo máximo

Nota: O recozimento e a extensão acontecem na mesma etapa.

Tabela 5: Perfil de RT-PCR em tempo real universal para ABI 7500 Fast Dx e CFX96™ Dx

<u>Transcrição reversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturação inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturação	15 s, 95 °C
Recozimento/extensão	30 s, 60 °C
Índice da temperatura de transição/ índice de subida	Tempo máximo

Nota: O recozimento e a extensão acontecem na mesma etapa.

9.4 Configuração do canal de detecção

Tabela 6: Seleção dos canais de detecção adequados

Dispositivo de PCR em tempo real	Deteccção	Canal de deteccção	Indicaçção
Roche LightCycler® 480 II	C13910 (TS)	465/510	É necessário o RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004).
	C13910T (Mut)	533/580	
	G22018 (TS)	533/610	
	G22018A (Mut)	618/660	
Applied Biosystems ABI 7500 Fast Dx	C13910 (TS)	FAM	Defina o corante de referência passiva ROX como nenhum.
	C13910T (Mut)	VIC	
	G22018 (TS)	ROX	
	G22018A (Mut)	Cy5	
Bio-Rad CFX96™ Dx	C13910 (TS)	FAM	-
	C13910T (Mut)	VIC	
	G22018 (TS)	ROX	
	G22018A (Mut)	Cy5	

10. Controle de qualidade – indicação de instabilidade ou expiração de reagentes

As amostras são avaliadas usando o software de análise do instrumento de PCR em tempo real, de acordo com as instruções do fabricante. O **Control A** e o **Control B** devem indicar os resultados corretos (consulte a Tabela 7).

O **Control A** e o **Control B** estão os dois presentes em uma concentração de 10^3 cópias/ μL . É usado em uma quantidade total de 5×10^3 cópias em cada execução de PCR.

Tabela 7: Uma execução de PCR válida deve atender às seguintes condições:

Amostra	FAM	ROX	VIC	Cy5	Gene-alvo Ct
Controle A	+	+	-	-	Ver Certificate of Analysis
Controle B	-	-	+	+	Ver Certificate of Analysis

* + = positivo
- = negativo

Se ambos os controles, **Control A** e **Control B**, não estiverem de acordo com as especificações, toda a execução do PCR deve ser repetida. Se os valores especificados não forem atingidos, verifique os seguintes itens antes de repetir o teste:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- Funcionalidade do equipamento que está sendo utilizado
- Execução correta do teste

Se as condições ainda não tiverem sido cumpridas após a repetição do teste, consulte o fabricante ou o distribuidor R-Biopharm local.

11. Interpretação dos resultados

Os resultados da amostra são interpretados de acordo com a Tabela 8.

Tabela 8: Interpretação dos resultados*

Detecção de				Resultado
C13910 (TS)	C13910T (Mut)	G22018 (TS)	G22018A (Mut)	
+	-	+	-	Homozigotos do tipo selvagem 13910 Homozigotos do tipo selvagem 22018
+	-	+	+	Homozigotos do tipo selvagem 13910 Heterozigotos 22018
+	+	-	+	Heterozigotos 13910 Homozigotos com mutação 22018
+	+	+	-	Heterozigotos 13910 Homozigotos do tipo selvagem 22018
+	+	+	+	Heterozigotos 13910 Heterozigotos 22018
-	+	+	-	Homozigotos com mutação 13910 Homozigotos do tipo selvagem 22018
+	-	-	+	Homozigotos do tipo selvagem 13910 Homozigotos com mutação 22018
-	+	-	+	Homozigotos com mutação 13910 Homozigotos com mutação 22018
-	+	+	+	Homozigotos com mutação 13910 Heterozigotos 22018
-	-	+ / -	+ / -	inválido
+ / -	+ / -	-	-	inválido
-	-	-	-	inválido

* + = positivo
- = negativo

Nota: Quando o LightCycler® 480 II (Roche), o CFX96™ Dx (Biorad) e o ABI 7500 Fast Dx (Applied Biosystems) são usados, o nível de fluorescência de um sinal verdadeiramente positivo no canal VIC deve ser de pelo menos 20 % do sinal de fluorescência do Controle B. Para uma avaliação mais definitiva, recomenda-se estabelecer o limite para este limite (20 % de Controle B).

A execução de PCR não pode ser avaliada se os controles não exibirem amplificação no sistema de detecção. Toda a execução do PCR deve ser repetida.

A execução de PCR não pode ser avaliada se a amostra não exibir amplificação no sistema de detecção. Neste caso, ou o DNA não foi adicionado ou um DNA modelo inadequado (qualidade, inibidor de PCR) foi usado. A amostra extraída deve ser re-amplificada, ou o isolamento e a limpeza da amostra devem ser melhorados.

12. Limitações do método

1. O teste RIDA®GENE Lac Intol detecta C13910 e G22018 e/ou seus possíveis SNP (polimorfismos de nucleotídeo único) C13910T e G22018A no gene humano *MCM6* a partir de amostras de sangue total humano com EDTA. Uma conexão entre o nível do valor Ct determinado e a ocorrência de sintomas clínicos graves não pode ser derivada disso. Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em combinação com os sintomas clínicos como um todo.
2. O diagnóstico não deve ser baseado apenas no resultado da análise biológica molecular, mas deve sempre levar em conta a história médica e os sintomas do paciente.
3. Este teste é válido apenas para amostras de sangue humano total com EDTA.
4. A extração, transporte, armazenamento e manuseio inadequados de amostras pode produzir resultados falso-negativos.
5. A presença de inibidores de PCR pode levar a resultados falsos negativos ou inválidos.
6. As trocas de base individuais são detectadas para a tecnologia SNP utilizada. Isto pode afetar negativamente o nível de fluorescência do ponto final.
7. Este ensaio deve ser realizado em conformidade com o regulamento sobre Boas Práticas Laboratoriais. Os usuários devem seguir as instruções do fabricante com precisão ao realizar o teste.
8. A Lei de Diagnóstico Genético (GenDG) alemã exige uma explicação completa e consentimento por escrito dos pacientes para todas as análises genéticas de acordo com a GenDG.

13. Características de desempenho

13.1. Características de desempenho clínico

13.1.1 Especificidade analítica

Substâncias interferentes

A presença de inibidores de PCR e de substâncias interferentes pode levar a resultados inválidos. Assim, os efeitos de diferentes substâncias que poderiam estar presentes nas respectivas amostras devido à sua utilização generalizada devem ser testados.

As substâncias que poderiam potencialmente influenciar significativamente os resultados do teste foram examinadas em concentrações elevadas (simulação do pior caso) em uma tela de interferência.

Não foram determinadas nenhuma interferências para as substâncias listadas na Tabela 9.

Tabela 9: Substâncias potencialmente interferentes

Substância potencialmente interferente	Concentração
Heparina Medunasal 500 I.U. Ampolas (heparina)	15 U/mL
Colesterol	3 mg/mL
Bilirrubina	0,1 mg/mL
Hemoglobina	0,2 mg/mL
K ₂ EDTA	1,8 mg/mL

13.1.2 Precisão

A precisão do kit Lac Intol foi determinada para os seguintes níveis de avaliação.

Precisão *Intraensaio*: Determinação de sete amostras de controle usando 20 réplicas, cada uma no LightCycler® 480 II sob condições idênticas.

Precisão *Interensaio*: Determinação de sete amostras de controle em 20 execuções em duplicidade em dez dias de trabalho (duas execuções por dia) realizadas por dois técnicos diferentes em condições reproduzíveis.

Os testes de precisão intra e interensaio foram realizados utilizando três lotes diferentes.

Os dados de precisão foram determinados com sete amostras de controle, bem como o controle A e o controle B associados ao ensaio.

O coeficiente de variação máximo obtido das medições com o kit RIDA®GENE Lac Intol no LightCycler® 480 II foi de 8,72 %.

Tabela 12: Resultados da precisão do kit Lac Intol para o canal FAM.

Valor médio Ct/CV	<i>Intraensaio</i>			<i>Interensaio</i>			<i>Interlote</i>	
	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lotes 1-3 do kit	
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.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
7	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

Tabela 13: Resultados da precisão do kit Lac Intol para o canal VIC.

Valor médio Ct/CV		<i>Intraensaio</i>			<i>Interensaio</i>			<i>Interlote</i>
		Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lotes 1-3 do kit
1	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	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
	CV (%)	1,81 %	2,13 %	3,62 %	2,71 %	2,70 %	4,38 %	3,58 %
3	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	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
	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 %

Tabela 14: Resultados da precisão do kit Lac Intol para o canal ROX.

Valor médio Ct/CV		<i>Intraensaio</i>			<i>Interensaio</i>			<i>Interlote</i>
		Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lotes 1-3 do kit
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 (%)	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
	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 (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

Tabela 15: Resultados da precisão do kit Lac Intol para o canal Cy5.










Valor médio Ct/CV		<i>Intraensaio</i>			<i>Interensaio</i>			<i>Interlote</i>
		Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lotes 1-3 do kit
1	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
2	Ct	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	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
	CV (%)	0,90 %	1,16 %	0,86 %	2,28 %	1,94 %	2,28 %	2,58 %

14. Histórico de versões





Número da versão	Seção e designação
2022-05-11	Versão da edição

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consulte o manual de operação
	Número do lote
	Data de validade
	Temperatura de armazenamento
	Número do item
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos do teste

	Mistura de reação
	Taq Polymerase
	Controle A
	Controle B

16. Referências

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