

Instruções de utilização

TESTE DE INTOLERÂNCIA À LACTOSE

Referencia 133001007



Versão 2, março 2023

Dispositivo médico para Diagnóstico In Vitro



É expressamente proibida a reprodução parcial e/ou total por quaisquer meios deste documento.

Doctor Vida é uma marca comercial da STAB VIDA- Investigação e Serviços em Ciências Biológicas, Lda.

O fabricante continua a melhorar os seus produtos e reserva-se o direito de alterar as informações a qualquer momento.

Se o produto for usado de forma diferente da especificada pelo fabricante, o dispositivo poderá ficar comprometido. Consulte as advertências, precauções, medidas a tomar e limitações de utilização relativas ao produto.

Índice

INTRODUÇÃO	4
FINALIDADE PREVISTA DO DISPOSITIVO.....	5
PRINCÍPIOS DO TESTE	5
CONTROLO DE QUALIDADE.....	7
TABELA DE SÍMBOLOS APLICÁVEIS.....	8
ADVERTÊNCIAS, PRECAUÇÕES, MEDIDAS DE SEGURANÇA E LIMITAÇÕES DE UTILIZAÇÃO	9
Advertências, precauções e medidas de segurança	9
Limitações de utilização	11
ANTES DE INICIAR O ENSAIO	12
Materiais fornecidos	12
Materiais necessários, mas não fornecidos	12
Transporte do produto	13
Armazenamento do produto	13
Manuseamento do produto	13
Estabilidade do produto	14
Classificação dos reagentes do Kit do Teste	14
Desempenho analítico do teste de Intolerância à Lactose	15
a. Reprodutibilidade Intra-lote	15
b. Reprodutibilidade Inter-lote	15
c. Sensibilidade Analítica (Limite de Detecção)	16
d. Estabilidade do teste em armazenamento	16
Desempenho clínico do teste de Intolerância à Lactose	17
PRÉ-COLHEITA DE AMOSTRAS	19
Preparação do local e todo o equipamento usado no teste	19
Instalação do equipamento Doctor Vida para a Análise da amostra	19
COLHEITA, MANUSEAMENTO, PREPARAÇÃO E ANÁLISE DA AMOSTRA.....	21
Manuseamento e preparação e análise da amostra	22
APÓS A ANÁLISE DA AMOSTRA	24
Consultar o Resultado obtido	24
Limpeza do local e equipamento e eliminação de resíduos	26
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	27
BIBLIOGRAFIA	29
INFORMAÇÃO SOBRE A GARANTIA	29
FORMAÇÃO	29
INFORMAÇÕES DO FABRICANTE	30
HISTÓRICO DE REVISÕES	31

INTRODUÇÃO

O Teste genético Doctor Vida- Teste de Intolerância à Lactose é um kit com marcação CE-IVD, destinado para auxiliar o diagnóstico de persistência da lactase ou intolerância à lactose primária na população caucasiana.

Este kit é um ensaio de diagnóstico *in-vitro* que permite a detecção qualitativa de polimorfismos numa região específica no intrão 13 do gene MCM6, nomeadamente - 13910 C/T (rs4988235) por *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) a partir de uma amostra biológica humana (esfregaço da mucosa bucal ou gota de sangue). Estes testes permitem a identificação do fenótipo de cada indivíduo relativo à persistência ou não persistência da lactase (enzima que degrada a lactose) em adultos e por sua vez determinar o grau de tolerância à lactose. O, já os indivíduos com persistência da lactase conseguem digerir a mesma (genótipo TT), os indivíduos heterozigóticos (genótipo CT) tem geralmente diversos graus de persistência da lactase logo vários níveis de intolerância à lactose.

A técnica de LAMP é uma técnica de amplificação isotérmica de ácidos nucleicos, onde a sequência alvo é amplificada a uma temperatura constante (que ronda os 65°C). Esta técnica precisa de 3 pares de *primers* específicos que servem para identificar 8 regiões distintas do gene alvo, aumentando assim a especificidade. A detecção do genótipo de cada amostra é feita pela análise da curva *melting* depois da amplificação.

FINALIDADE PREVISTA DO DISPOSITIVO

O Teste de Intolerância à Lactose é adequado para deteção da variante genética -13910 C/T no gene MCM6 associado à persistência da lactase entre os adultos da população caucasiana partir de uma amostra biológica humana, nomeadamente esfregaço da mucosa Bocal. O resultado do teste auxilia no diagnóstico pacientes com suspeita de intolerância à lactose primária. Embora os sintomas típicos sejam dor abdominal, diarreia, náuseas e meteorismo após consumo de produtos com lactose, a intolerância à lactose em adultos não é considerada uma doença genética, mas sim uma característica ancestral.

Este teste deve ser usado em combinação com o equipamento Doctor Vida para amplificação e deteção molecular de DNA em 60-90 minutos. O sistema é adequado para diagnóstico junto do doente (*near-patient-testing*) e deve ser usado apenas por profissionais de saúde. O utilizador é responsável pela análise da amostra, pelo cumprimento das regras de biossegurança aplicáveis incluindo a utilização do equipamento de proteção individual adequado, manutenção das instalações e pelo tratamento de resíduos resultantes da análise.

PRINCÍPIOS DO TESTE

Cada ensaio do Kit de Intolerância à lactose é realizado em amostra de exsudado bucal recolhida com uma zaragatoa e colocada em solução num tampão de lise, no tubo de colheita (Tubo A), sendo sempre realizada por um profissional de saúde seguindo os procedimentos de boas práticas utilizando o material apropriado incluído neste produto e equipamento de protecção individual adequado não incluído. Após incubação de 10 minutos à temperatura ambiente, aproximadamente 10 µL de amostra é adicionada com o auxílio do componente C (dispensador descartável) ao tubo reaccional (Tubo B), seguindo as instruções descritas neste documento. A análise é realizada por amplificação isotérmica (*Loop-mediated isothermal amplification, LAMP*) que necessita de 6 tipos de primers desenhados para hibridar regiões distintas ao redor do polimorfismo (primers FIP e F3 na extremidade 3' e primers BIP e B3 na extremidade 5' e os primers loop, LF e LB) e baseia-se na amplificação a uma temperatura constante da região do gene MCM6 que

contém a variante -13910 C/T. A deteção da variante do gene MCM6 é feita com sondas específicas para a mutação através da detecção de *quenching* de fluorescência. Após a amplificação, a temperatura baixa para os 40°C permitindo que a sonda hibride com o fragmento amplificado, o que aproxima o fluoróforo e o *quencher*, resultando no *quenching* da fluorescência. Durante a análise da curva de *melting*, a temperatura aumenta gradualmente até aos 70°C permitindo que o sistema de deteção incluído no equipamento Doctor Vida (Ref. 133001002) detecte a fluorescência emitida. Como a sonda é específica para a mutação (T), não híbrida de forma perfeita com fragmentos de DNA que não contenham a variante genética (C) e por isso nestes casos a emissão de fluorescência ocorre a temperaturas mais baixas do que para fragmentos de DNA que contenham a variante genética (T). As mudanças na fluorescência a diferentes temperaturas são detectadas pelo equipamento Doctor Vida permitindo a distinção entre os diferentes nucleótidos na região da variante -13910C/T. Por outro lado, se não existir emissão de fluorescência ou se esta for residual, significa que a quantidade de material biológico está abaixo do limite de deteção da técnica ou existem inibidores na amostra originando um resultado inválido. A análise da amostra no equipamento Doctor Vida, os resultados e relatório obtidos são comunicados ao utilizador e utente através da aplicação Dr Vida Pocket PCR instalada no telemóvel.

CONTROLO DE QUALIDADE

O procedimento de controlo de qualidade destina-se a monitorizar o desempenho dos reagentes do kit produzido e os próprios ensaios do teste. Os componentes deste produto são fabricados em conformidade com o procedimento de fabrico de testes de intolerância à lactose e controlo de qualidade, com a norma ISO 13485 e com os requisitos regulamentares aplicáveis.

Cada lote produzido é devidamente testado juntamente com equipamento Doctor Vida e o Certificado de Análise (CoA) para cada lote está disponível mediante pedido. Para cada lote são realizados ensaios com controlos negativos (um com H₂O e outro ensaio com apenas solução de colheita) que permitem verificar se os reagentes do kit têm alguma contaminação com ácidos nucleicos e com controlos positivos (2 ensaios com amostra com genótipo conhecido - alíquota da linha celular humana A549, 50 células/ μ L, com genótipo TT) essencial para avaliar a eficiência do procedimento e permite também a verificação da qualidade dos reagentes (integridade das sondas, primers e a actividade da enzima).

TABELA DE SÍMBOLOS APLICÁVEIS

	Consultar instruções de utilização		Marcação CE
	Referência do producto		Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de lote		Limites de temperatura
	Fabricante		Contém suficiente para <n> testes
	Não reutilizar		Atenção: Seguir as instruções apresentadas neste manual; um uso impróprio poderá provocar danos no dispositivo ou na sua saúde.
	Usar até		
	Dispositivo diagnóstico para doente junto do doente (near-patient testing)		O dispositivo não se destina a autodiagnóstico

ADVERTÊNCIAS, PRECAUÇÕES, MEDIDAS DE SEGURANÇA E LIMITAÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Advertências, precauções e medidas de segurança

Ao realizar ensaio de Intolerância à Lactose é necessário ter em consideração as instruções de utilização fornecidas com o produto, nomeadamente as advertências, precauções e medidas de segurança do teste (ver Quadro 1), assim como a Ficha de Segurança do mesmo enviado com o produto. Também ter em consideração as precauções e medidas de segurança do equipamento Doctor Vida (consultar as Instruções de Utilização para o equipamento Doctor Vida e *Software*), relativas:

- Ao manuseio de Fluídos/Reagentes próximo do dispositivo;
- À corrente elétrica do dispositivo;
- Ambiente operacional do dispositivo;
- Meio-físico onde coloca o dispositivo.

Para segurança dos operadores e para garantir a fiabilidade do teste, é importante que as seguintes precauções de segurança sejam lidas e entendidas antes de fazer o ensaio.

- **Não use qualquer componente do kit, se o mesmo estiver danificado ou fora do prazo de validade ou se a solução de recolha ou de reagentes apresentar potenciais contaminantes (turbidez).** O uso de componentes não aptos pode causar danos à saúde e/ou comprometer a fiabilidade do teste. Nesse caso, entre em contato com o suporte técnico.
- **Não use no mesmo ensaio componentes de diferentes kits (lotes) ou componentes que não estejam incluídos no kit.** O uso desses componentes pode comprometer a fiabilidade e veracidade do resultado do teste.
- **O manuseamento deste produto deverá ser limitado a profissionais de saúde, tendo em conta o uso das Boas Práticas Laboratoriais,** permitindo prevenir riscos para o operador e para a integridade dos reagentes.

- **Evite contaminações dos reagentes e/ou contaminações cruzadas**, aquando realização de cada ensaio:
 - Use equipamento de proteção individual adequado** (bata, luvas, proteção ocular e máscara) de acordo com as diretrizes regulamentares aplicáveis;
 - Manter a tampa aberta apenas do tubo que está a usar**. Não troque nem reutilize tampas dos tubos.
 - **Troque as luvas e limpe sempre** o dispositivo, os materiais necessários e a superfície antes e após cada ensaio;
 - Realizar a amplificação numa zona isolada** da área de recolha de amostra e preparação da mistura reacional (reagentes + amostra);
 - **Não reabrir os tubos de reacção após o ensaio**, para evitar a libertação de fragmentos de DNA amplificadas (amplicões) em quantidades significativas;
 - Os resíduos de materiais e reagentes devem ser descartados** adequadamente no saco de lixo biológico, de acordo com as diretrizes regulamentares aplicáveis;
 - As instalações devem ser, **diariamente limpas com produtos livres de DNA, e ventiladas (arejamento natural)**.
- Todos os utilizadores devem estar informados do manual de instruções tanto do teste como do equipamento Doctor Vida. **O incumprimento das instruções pode causar danos ao dispositivo e / ou causar danos à saúde.**

Quadro 1 – Precauções e medidas de segurança do Kit do Teste de Intolerância à Lactose

Limitações de utilização

- O não cumprimento de procedimentos adequados de transporte, armazenamento, recolha, processamento e análise da amostra poderá invalidar ou comprometer o resultado do teste, devido a contaminações cruzadas.
- A possibilidade de existência de mutações raras adicionais que possam gerar resultados de genotipagem falsos. Assim, o fabricante deve avaliar possíveis alterações genéticas que comprometam o resultado e reportá-las como uma limitação, se aplicável.
- Caso a quantidade de amostra no ensaio seja inferior ao limite de detecção (LoD=5 células por reacção), o resultado poderá ser inválido e terá de repetir a recolha de amostra, tendo que usar um novo kit do teste.
- A presença de algumas substâncias no sangue do paciente, derivadas do estado saúde do mesmo, podem interferir no resultado do ensaio. Lista de substâncias já descritas, que apresentaram interferência no desempenho do ensaio.

Substâncias	Concentração de substâncias no sangue total humano
Bilirrubina	5 mg/dl sangue total
Colesterol	250 mg/dl sangue total
Potássio EDTA	10 mg/ml sangue total
Triglicérides	500 mg/dl sangue total

Tabela 7 – Lista de substâncias interferentes no teste.

ANTES DE INICIAR O ENSAIO

Materiais fornecidos

O Kit do Teste De Intolerância à Lactose é composto pela embalagem do teste e pelos acessórios fornecidos para a execução do mesmo. Cada componente é de uso único.

Componentes do Kit	Descrição	Quantidade	Condições de armazenamento
Embalagem do Teste	Tubo A (tubo de colheita)	200µL solução de colheita	-25°C a -15°C
	Tubo B (Tubo de teste)	90µL solução reacional	
	Componente C (Doseador descartável)	1 unidade	
Acessórios	Componente D (Zaragatoa descartável)	1 unidade	4°C a 25°C
	Saco para lixo Biológico	1 unidade	Temperatura Ambiente

Tabela 1 – Materiais fornecidos, descrições, quantidades e condições aplicáveis

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Equipamento Doctor Vida (incluída fonte de alimentação e cabo micro-USB-B) – disponível com referência nº 133001002;
- Aplicação Dr Vida Pocket PCR – disponível nas lojas Google play e iOS.
- Telemóvel com Bluetooth – para instalar e usar a aplicação Dr Vida Pocket PCR
- Internet (wireless) – requerido para a transferência de dados para o servidor.

Para realização de um ensaio de Intolerância à Lactose é necessário garantir que aplicação Dr Vida Pocket PCR esteja instalada no seu telemóvel e que o equipamento Doctor Vida esteja ligado à corrente elétrica e conectado com a mesma. Para mais detalhes deve consultar Instruções de utilização do equipamento Doctor Vida e *software*.

Transporte do produto

Para o transporte do Kit de Intolerância à lactose ser efectuado em conformidade, a embalagem do teste é devidamente acondicionada em caixas de esferovite contendo gelo seco ou placas de gelo, para garantir as condições de temperatura dos componentes (-25°C a -15°C). Já os acessórios do Teste são acondicionados e transportados à temperatura ambiente.

Armazenamento do produto

Os componentes do Kit do Teste De Intolerância à Lactose devem ser armazenados de acordo com a temperatura impressa nas etiquetas de cada componente, de acordo com o descrito na tabela 1 – Componentes e condições de armazenamento do kit do Teste De Intolerância à Lactose até à validade indicada no rótulo.

Manuseamento do produto

Ao manusear o kit do Teste De Intolerância à Lactose ter em consideração que:

- Para cada ensaio, usar apenas 1 embalagem do teste, sendo este de uso único.
- Colocar num suporte o tubo de recolha (tubo A) e o tubo de teste (Tubo B), contidos na embalagem e deixar descongelar à temperatura ambiente;
- Após descongelar completamente, os tubos ficam aptos para iniciar o teste.

 **Evitar ciclos de congelação-descongelação, uma vez que irá diminuir a eficiência do produto.**

 **Minimizar a exposição de luz no tubo de teste (Tubo B), uma vez que irá diminuir a eficiência do produto.**

Estabilidade do produto

Este produto mantém a estabilidade dos reagentes e o desempenho do kit de acordo com a data de validade imposta no rótulo da embalagem, desde que as condições de transporte, armazenamento e manuseamento sejam cumpridas.

Classificação dos reagentes do Kit do Teste

A classificação das substâncias e/ou misturas de substâncias presentes no Kit do Teste de Intolerância à Lactose foi realizada de acordo com o Regulamento (CE) nº 1272/2008 e está disponível para consulta na Ficha de Segurança do kit do teste em causa.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Desempenho analítico do teste de Intolerância à Lactose

A validação analítica do teste de Intolerância à Lactose foi realizada em combinação com o equipamento Doctor Vida® e a App Dr Vida. Para validar analiticamente o teste foram feitas várias análises:

a. Reprodutibilidade Intra-lote

A Reprodutibilidade Intra-lote foi avaliada em 2 tipos de amostra em triplicado dentro do mesmo lote. Os dados recolhidos demonstram que os resultados replicados corresponderam a 100% dos resultados qualitativos esperados, logo uma excelente reprodutibilidade de resultado no mesmo lote (ver tabela 2).

# Lote	Amostra	% Resultados corretos (Resultado Expectável/Replicado)	% Total Resultados Correctos
22AT002	NTC (Tampão colheita)	Resultado Expectável: Inválido 100% (3/3)	100% (6/6)
	POS (Células A549)	Resultado Expectável: TT 100% (3/3)	

Tabela 2 – Análise da Reprodutibilidade Intra-lote

b. Reprodutibilidade Inter-lote

A Reprodutibilidade Inter-lote foi avaliada nos mesmos 2 tipos de amostra em triplicado com 3 lotes diferentes. Os dados recolhidos indicam que nos 3 lotes testados, todos os resultados corresponderam a 100% dos resultados qualitativos esperados, o que significa que há pouca variabilidade de lote para lote (ver tabela 3).

Amostra	# Lote	% Resultados correctos (Resultado Expectável/Replicado)	% Total Resultados correctos
NTC (Tampão colheita)	22AT002	Resultado Expectável: Inválido 100% (3/3)	100% (6/6)
	22AT003		
	22AT004		
POS (Células A549)	22AT002	Resultado Expectável: TT 100% (3/3)	
	22AT003		
	22AT004		

Tabela 3 – Análise da Reprodutibilidade Inter-lote

c. Sensibilidade Analítica (Limite de Detecção)

Para determinar o limite de detecção (LoD) do teste foram realizados ensaios em triplicado usando diferentes concentrações de uma amostra com concentração conhecida e genótipo conhecido. Os dados recolhidos denotam que para uma taxa de detecção > 95% o nível mais baixo de concentração é de 5 células por reacção (ou seja, 100 células/mL), definindo assim a sensibilidade analítica do teste. (Ver tabela 4).

	Nível de amostra (Nº de células A549/recção)	% Resultados correctos (Detectado/Replicados)
LoD →	1	33% (1/3)
	5	100% (3/3)
	10	100% (3/3)
	50	100% (3/3)
	75	100% (3/3)
	100	100% (3/3)

Tabela 4 – Sensibilidade analítica do teste (LoD)

d. Estabilidade do teste em armazenamento

Para analisar a estabilidade de armazenamento do teste e assim determinar o prazo de validade do teste, foram realizados ensaios em duplicado e com o mesmo lote, armazenados a -20°C com diferentes períodos de tempo (0, 32, 60 e 120 dias). Os resultados recolhidos demonstram que os ensaios feitos após 120 dias de armazenamento a -20°C ainda estão completamente funcionais. Assim, o prazo de validade do teste foi definido para 4 meses nas condições definidas na embalagem e neste documento (Ver tabela 5).

Amostra	Tempo de armazenamento (dias)	% Resultados correctos (Resultado Expectável/Replicado)	% Total Resultados correctos
NTC (Tampão colheita)	0	Resultado Expectável: Inválido 100% (2/2)	100% (16/16)
	32	Resultado Expectável: Inválido 100% (2/2)	
	60	Resultado Expectável: Inválido 100% (2/2)	
	120	Resultado Expectável: Inválido 100% (2/2)	
POS (Células A549)	0	Resultado Expectável: TT 100% (2/2)	
	32	Resultado Expectável: TT 100% (2/2)	
	60	Resultado Expectável: TT 100% (2/2)	
	120	Resultado Expectável: TT 100% (2/2)	

Tabela 5 – Análise da estabilidade de armazenamento do teste

Desempenho clínico do teste de Intolerância à Lactose

A performance clínica do Teste de Intolerância à Lactose – método isotérmico foi realizada em comparação com o método laboratorial de referência laboratorial – Sequenciação pelo método de *Sanger* (usando DNA purificado a partir de cartões FTA). O estudo de validação clínica foi realizado seguindo uma amostragem não probabilística com o total de 63 amostras de exsudado bucal de voluntários de Portugal (N=63).

Todos os dados foram analisados usando o método de matriz de confusão 3x3, após exclusão dos resultados inválidos. As estatísticas gerais e as estatísticas por classes de genótipos foram calculadas usando o software de computação estatística R (R Foundation, versão 4.2.2).

Para estudo de validação clínica, os resultados obtidos pelo método Laboratório isotérmico portátil mostraram uma precisão geral de 98.41% (com Intervalo de confiança 95% entre 91.47% a 99.96%) comparativamente ao método de referência. De um total de 63 ensaios realizados apenas 1 teve um resultado inválido (1,59%) e um outro teve uma genotipagem não concordante com método de referência – Sequenciação de *Sanger*.

Na validação clínica também foi realizada a análise estatística por classe de genótipo. O resultado da sensibilidade relativa por classe é de 96.67%, 100% e 100%, para os genótipos CC, CT e TT respectivamente. Já o resultado de especificidade relativa por classes é de 100%, 97.44% e 100%, para os genótipos CC, CT e TT respectivamente. No mesmo estudo também foi calculado o valor preditivo positivo para cada um dos genótipos, CC (100%), CT (96%) e TT (100%) e valor preditivo negativo para cada um dos genótipos, CC (97.06%), CT (100%) e TT (100%). Os parâmetros como prevalência, a taxa de detecção, a prevalência de detecção assim como a precisão balanceada também foram calculados para cada genótipo (ver tabela 6).

Amostras de exsudado Oral
Nº de ensaios inválidos: 1/63 (1.59%)

**Método de Referência –
Sequenciação de Sanger**

		-13910 CC	-13910 CT	-13910 TT	Total
Laboratório isotérmico Portátil - Teste de Intolerância à lactose	-13910 CC	28	0	0	28
	-13910 CT	1	24	0	25
	-13910 TT	0	0	9	9
	Total	29	24	9	62

Estadísticas Gerais

Precisão (Acc): 98.41%
Intervalo de confiança 95%: (91.47% - 99.96%)
Sem Taxa de Informação (NIR): 47.62%
Valor-P [Acc > NIR]: < 2.2e-16
Kappa: 0.9739

Estadística por classe de Genótipo:	-13910 CC	-13910 CT	-13910 TT
Sensibilidade	96.67%	100%	100%
Especificidade	100%	97.44%	100%
Valor Preditivo Positivo	100%	96.00%	100%
Valor Preditivo Negativo	97.06%	100%	100%
Prevalência	47.62	38.10%	14.29%
Taxa de detecção	46.03	38.10%	14.29%
Prevalência de detecção	46.03	39.68%	14.29%
Precisão Balanceada	98.33%	98.72%	100%

Tabela 6 – Análise estatística da performance clínica do teste de Intolerância à lactose – método laboratório isotérmico portátil vs. método de referência - Sequenciação de Sanger.

PRÉ-COLHEITA DE AMOSTRAS

Preparação do local e todo o equipamento usado no teste

Antes de iniciar a recolha de amostras e a análise do teste propriamente dito, deverá preparar todo o local onde é efectuado o ensaio e também todo o equipamento e material inerente à análise do mesmo.

- O local deve ter uma temperatura ambiente entre os 15°C a 30°C e os níveis de humidade entre 20 a 80%;
- Mantenha o local limpo e ventilado, arejamento natural diário;
- Tenha os espaços bem definidos (com uma distância mínima aceitável) para colheita de amostra, transferência da mesma para o tubo do teste (teste B) e análise do ensaio;
- Limpe e desinfete as superfícies de trabalho com lixívia 10% e etanol a 70% para mitigar o risco de contaminação;
- Limpe com papel humedecido em etanol a 70% (não pulverize) o exterior dos equipamentos Doctor Vida e deixe secar ao ar;
- Remova a tampa do equipamento Doctor Vida e limpe-a com papel humedecido em etanol a 70% e deixe secar ao ar;

Nota: Atenção para não entrar Etanol no orifício onde se coloca tubo de teste

- Mantenha a tampa aberta até um novo ensaio;
- Coloque umas luvas novas no início de cada análise.

Instalação do equipamento Doctor Vida para a Análise da amostra

Para mais informações consulte o tópico da Instalação nas instruções de utilização do equipamento Doctor Vida e Software (<https://www.stabvida.com/drvida/INSTRUCTIONS-PT> ou código QR).

a. Ligar o equipamento Doctor Vida

Ligue o equipamento Doctor Vida à corrente ou ligue a um carregador portátil, saída: 5VDC, 2A. O equipamento pode demorar alguns minutos a estabilizar a temperatura.

b. Instalar a aplicação Dr Vida Pocket PCR

Instalar e configurar a aplicação Dr Vida Pocket PCR no seu telemóvel (ver instruções de utilização do equipamento Doctor Vida).

c. Selecionar o teste genético Doctor Vida e Emparelhar o equipamento Doctor Vida

No ecrã principal da aplicação, seleccione o teste genético Doctor Vida que pretende realizar - "Intolerância à lactose". De seguida, clique "Seleccionar dispositivo" e ligue o dispositivo que pretende manualmente ou leia o QRcode do dispositivo a seleccionar. O equipamento está pronto para fazer o teste.

d. Registrar da informação dos reagentes do teste genético Doctor Vida

A informação dos reagentes do teste genético em causa é registada, ou insere manualmente a referência do teste e o número do lote ou leia o QRcode do kit do teste.

e. Preencher os dados relativos à amostra

Clique em "ler o ID da amostra" para poder preencher todos os dados relativos à amostra a testar, como o próprio ID e o tipo de amostra em causa, "Exsudado Bucal". Também, tem opção de seleccionar o "Teste com certificado no final" e para isso deve ir a "Mais detalhes" preencha ou verifique (caso o preenchimento tenha sido feito por leitura o QRcode da amostra) os dados do paciente.

COLHEITA, MANUSEAMENTO, PREPARAÇÃO E ANÁLISE DA AMOSTRA

Colheita da amostra – Exsudado Bucal

A recolha da amostra deve ser realizada por profissionais de saúde de acordo com as diretrizes regulamentares nacionais, seguindo as instruções presentes neste Manual de Instruções e os diagramas disponibilizados na aplicação Dr Vida Pocket PCR.



Evitar comer, beber ou fumar 30 min antes da colheita

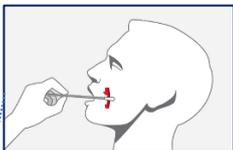
Instruções gerais:



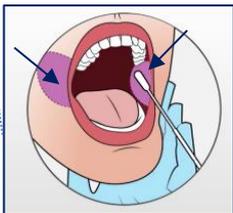
- a)** Retire a zaragatoa fornecida da sua embalagem estéril, com cuidado de modo a evitar o contacto com qualquer objeto ou superfície.



Segure a zaragatoa pela extremidade plástica não aproximando os seus dedos da zona de algodão.

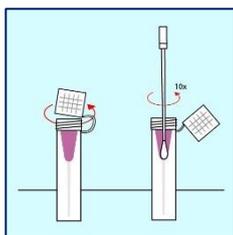


- b)** Insira a zaragatoa na boca e esfregue vigorosamente o interior de ambas as bochechas, em movimentos circulares, por pelo menos 30 segundos.



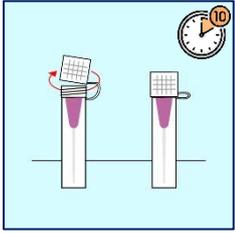
O objetivo é recolher um esfregaço na parede interna da(s) bochecha(s). Uma amostra insuficiente poderá implicar uma nova recolha.

- c)** Remova a zaragatoa com cuidado para que não toque nos dentes, lábios ou outra superfície.



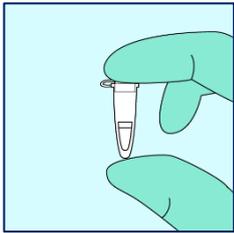
- d)** Desaperte a tampa do tubo A (de colheita) que contém o líquido rosa, coloque a zaragatoa dentro e rode-a repetidamente cerca de 10 vezes.

- e)** Remova a zaragatoa de modo a garantir a transferência máxima de amostra e descarte-a no saco do lixo biológico.



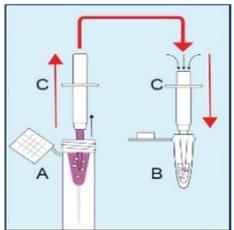
- f) Feche o tubo A com a sua tampa de rosca e deixe-o incubar à temperatura ambiente por 10 minutos.
- Caso **pretenda proceder** à análise da amostra, siga o procedimento descrito na “Análise da amostra”.
 - Caso **não pretenda proceder** à análise da amostra imediatamente, armazene-a entre 2-8°C até 24horas.

Manuseamento e preparação e análise da amostra



- g) Retire o tubo B (de teste) e descongele-o com a ajuda dos dedos até que líquido fique completamente transparente.

- h) Passados os 10 minutos de incubação da amostra, desenrosque a tampa do tubo A e recolha 10µL de amostra com o auxílio do componente C (dispensador descartável de amostra) fornecido.



- ⚠ Certifique-se de que não obstrui o orifício no topo do componente C, quando este está a recolher a amostra.

- ⚠ Se não subir volume de amostra até à marca do componente C, retirar e recolocar várias vezes a ponta do dispensador para que com o diferencial de pressão consiga mais facilmente subir o volume total de amostra.

- i) Dispense a amostra recolhida para dentro do tubo B, colocando a ponta do componente C dentro do tubo e tapando o orifício do topo e pressionando ligeiramente o êmbolo.

- ⚠ Após a dispensa de amostra, deve ser visível uma camada intermediária rosa dentro do tubo B.

- ⚠ Feche novamente o tubo A e descarte-o no saco de lixo biológico fornecido.

- j) Feche bem o tubo B e bata com o tubo na bancada 5 vezes para misturar bem a amostra com os reagentes.

- k) Verifique se a informação que foi introduzida anteriormente está correcta, no menu ‘Definições’ e edite caso seja necessário.

- l) Clique em iniciar ensaio e aguarde que o dispositivo verifique se os requisitos necessários para iniciar estão a ser cumpridos.
- m) Quando solicitado, insira o tubo B no equipamento Doctor Vida, para tal desenrosque a tampa do mesmo, coloque o tubo e enrosque a tampa.
- n) O ensaio iniciará automaticamente e demorará aproximadamente 90 minutos.

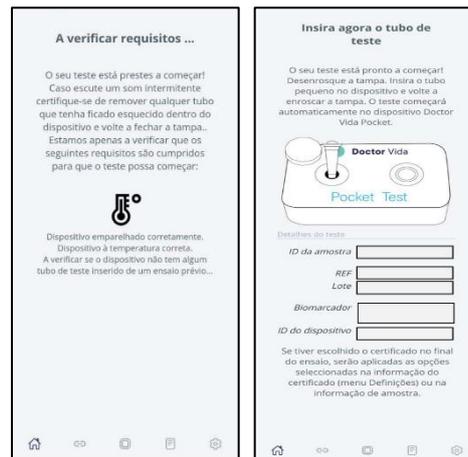


Figura 2 – Ecrãs ilustrativos da app – Iniciar o ensaio



Não toque nem desloque o equipamento Doctor Vida enquanto a amostra está a ser processada pois pode comprometer a fiabilidade do teste.



Enquanto o ensaio está em curso, não desligue o equipamento Doctor Vida da corrente eléctrica,

Nota: Se perder ligação à internet ou *Bluetooth* enquanto o ensaio está em curso, não perde o ensaio. Apenas reabra a aplicação e seleccione o ecrã 'Emparelhar dispositivos disponíveis' para voltar a ligar o(s) dispositivo(s) que estão em progresso.

APÓS A ANÁLISE DA AMOSTRA

Consultar o Resultado obtido

- a)** Assim que ensaio termina, o equipamento Doctor Vida transfere e armazena os dados em tempo real no servidor Doctor Vida® API, por via da aplicação Dr Vida Pocket PCR.

Nota: A transferência dos dados até a obtenção do resultado poderá demorar cerca de 2 minutos.

- b)** Após a transferências dos dados, clique no botão 'Resultados' da app para poder visualizar o resultado do teste e/ ou consulte o certificado do resultado do teste no seu e-mail caso tenha selecionado e registado essa opção.
- c)** O resultado do teste indica-nos o(s) nucleótido(s) presentes na região do polimorfismo -13910 C/T (rs4988235), com base na temperatura a que o(s) pico(s) é (são) observado(s).
- d)** O ensaio do teste de Intolerância à lactose poderá ter três resultados possíveis (ver tabela 8). Caso não haja picos observados o resultado é considerado inválido, por consequência o ensaio terá de ser repetido, incluindo uma nova recolha.

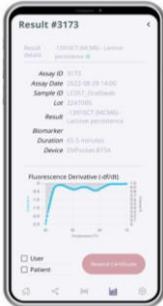
Interpretação dos resultados				
Gráfico				
Descrição e Interpretação do Gráfico	1 Pico a 48-54°C – Indica presença do Nucleótido C.	1 Pico a 48-54°C e 1 Pico a 56-64°C – Indica presença do Nucleótido C e T, em simultâneo.	1 Pico a 56-64°C – Indica presença do Nucleótido T.	0 Picos – indica falha no ensaio. Repetir.
Genótipo	CC	CT	TT	Inválido
Fenótipo	Intolerância primária à lactose – Deficiência de lactase em adultos.	Diferentes graus de Intolerância primária à lactose.	Tolerância à lactose – Persistência de lactase em adultos	--

Tabela 8 – Várias possibilidades de Resultado do teste de Intolerância à Lactose.

Limpeza do local e equipamento e eliminação de resíduos

No final de cada ensaio, assegurar que os diferentes locais ficam limpos e ventilados assim como todo o equipamento usado no teste, incluindo o equipamento Doctor Vida e garantir que a eliminação dos tubos A e B e todo o material inerente é realizada de acordo com as regras de tratamento de resíduos biológicos e conforme com as diretrizes regulamentares.

- Após a análise, abra a tampa do equipamento Doctor Vida, retire o tubo B e descarte-o no lixo biológico;
- Descarte também o tubo A, assim como o componente C no lixo biológico;
- Limpe com papel humedecido em etanol a 70% (não pulverize) o exterior do equipamento Doctor Vida assim com a tampa e deixe secar ao ar;

Nota: Atenção para não entrar Etanol no orifício onde se coloca tubo B.

- Limpe e desinfete as superfícies de trabalho com lixívia 10% e etanol a 70% para mitigar o risco de contaminação;
- Mantenha o local limpo e ventilado, arejamento natural diário;
- Mantenha a tampa do equipamento aberta até um novo ensaio;
- Descarte os papéis e as luvas usadas na limpeza do espaço e equipamento para o lixo de biológico.

Nota: Não deixe equipamento Doctor Vida ligado se não o estiver a usar.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Problema observado	Possível Solução
<p>- Falha após iniciar o ensaio.</p> <p><u>Exemplo:</u> Falha de eletricidade no equipamento durante a análise.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Desligue o equipamento Doctor Vida e feche a aplicação Dr Vida Pocket PCR; - Reabra a aplicação Dr Vida Pocket PCR; - Descarte o tubo B que estava a uso e reinicie o processo usando um novo tubo B.
<p>- Falha da aplicação na obtenção de resultado.</p> <p><u>Exemplo:</u> A aplicação aparenta ter o ensaio bloqueado, não conseguindo obter o resultado.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Feche a aplicação Dr Vida Pocket PCR; - Verifique a ligação à internet e Bluetooth; - Abra a aplicação e seleccione novamente o teste genético 'Intolerância à lactose'; - Clique no botão 'Seleccionar dispositivo' e conecte o equipamento onde está a ocorrer o ensaio; - Seleccione no menu principal o 3º botão 'Ensaio a decorrer', para poder consultar o ensaio em curso; - Se continuar a dar erro, desemparelhe o equipamento e volte a emparelhar. É importante verificar que o mesmo equipamento não está ligado a mais do que um telemóvel; - Se conseguir iniciar um novo teste com este equipamento significa que ocorreu uma falha de energia ou o equipamento automaticamente reiniciou. Neste caso, o teste fica inválido. Descarte o tubo B que estava a uso. - Desligue e ligue novamente o equipamento e inicie o processo usando um novo tubo B. - Se o problema persistir, contacte por favor o suporte técnico.

Problema observado	Possível Solução
<p>- O equipamento não aparece na lista de dispositivos</p> <p><u>Exemplo:</u> A ligação entre o dispositivo e o telemóvel falhou</p>	<p>- Verifique que o equipamento está ligado à corrente, que não há falha elétrica (por exemplo o cabo de ligação está danificado). Se for esse o caso, pode usar o cabo do telemóvel;</p> <p>- Verifique se o Bluetooth está ligado, se na aplicação Dr Vida Pocket PCR deu permissão de localização;</p> <p>- Actualize o ecrã, deslizando o dedo para baixo.</p>
<p>- O telemóvel ficou sem espaço para armazenar os dados.</p>	<p>- Se ficar sem espaço antes de iniciar o ensaio deve libertar espaço no telemóvel ou usar outro telemóvel.</p> <p>- Se ficar sem espaço durante o ensaio, o ensaio continua, contudo, os resultados não ficarão disponíveis. Neste caso não desligue o equipamento Doctor Vida uma vez que os dados ficam armazenados no mesmo. Liberte espaço no telemóvel e a ligação irá ser restabelecida.</p> <p>Nota importante: Se desligar o equipamento perde todos os dados e deverá repetir o ensaio com novo tubo B.</p>
<p>-Resultado do teste inválido</p> <p><u>Exemplo:</u> Quando na curva de melting não se verifica nenhum pico.</p>	<p>- Deve ser realizado um novo teste, repetir a recolha de amostra e também a análise da mesma</p> <p>Nota: Este tipo de resultado pode ocorrer quando há algum inibidor presente na amostra ou falta de material biológico.</p>

BIBLIOGRAFIA

- Enattah NS *et al.* 2002. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia, *Nature Genetics*, vol.30
- Rasinpera *et al.*, 2004. A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children, *Gut*; 53: 1571-1576

INFORMAÇÃO SOBRE A GARANTIA

O produto está coberto por um período de garantia do prazo de validade indicado no mesmo. Esta garantia destina-se a protegê-lo dos custos associados a problemas resultantes de defeitos de fabrico. O período de garantia tem início na data de receção do produto no local pretendido. Para obter assistência durante o período de garantia, contacte o fabricante.

FORMAÇÃO

Estas instruções de utilização descrevem a utilização e funcionamento correto do dispositivo. Os operadores do dispositivo devem familiarizar-se com as secções aplicáveis no documento antes de realizar ensaios para assegurar uma utilização segura e eficiente do mesmo. Certifique-se de que segue os requisitos de formação de acordo com as diretrizes regulamentares aplicáveis. Se precisar de mais informação sobre a formação na utilização deste produto, contacte o fabricante.

INFORMAÇÕES DO FABRICANTE

Nome: STAB VIDA- Investigação e Serviços em Ciências Biológicas, Lda.

Endereço: Madan Parque, Rua dos Inventores, Sala 2.18, 2825-182 Caparica, Portugal.

Sítio web: <https://www.stabvida.com/drvida>

Assistência técnica:

Em caso de algum problema entre por favor em contato connosco por email drvida@stabvida.com ou telefone 00351927151763.

De segunda a sexta-feira das 10h00 às 19h00 (Horário GMT)

De acordo com o regulamento 2017/746 da UE, qualquer incidente grave que ocorra relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro da UE onde o utilizador e/ou doente se encontra estabelecido.

HISTÓRICO DE REVISÕES

Revisão		Pontos revistos	
N.º	Data (dd/mm/aa)	N.º	Descrição da revisão
1	25/05/2022	-	Emissão do documento
2	31/03/2023	Todos	Adaptação do documento de acordo aos requisitos do regulamento EU 2017/746 e normas harmonizadas relevantes.