



NEW GENERATION OF DIAGNOSTICS

NewGene LIRefQ

Apropiado para uso conjunto con el **NewGene LIamp**, para la elaboración de una curva estándar para la cuantificación absoluta mediante PCR en tiempo real, asegurando precisión y exactitud. Está compuesto por los reactivos PA y PB, con carga viral definida (PA = Punto de Alta Carga y PB = Punto de Baja Carga -

Estándares) y CIQ (CIQ = Control Interno de Calidad, a leer como Unknown). La cuantificación absoluta de las muestras de prueba se realiza mediante la interpolación de los resultados de lectura de los puntos (CT) en la curva estándar.

Componentes

Componente	Cantidad
PA	5 tubos
PB	5 tubos
CIQ	5 tubos

Equipos e insumos no suministrados:

- Termociclador para PCR en tiempo real;;
- Conjunto de micropipetas (10, 20 y 200 µL);
- Microcentrífuga para tubos de 1,5 mL;
- Agitador de tubos tipo vórtex;
- Puntas de barrera desechables;
- Microplacas o tubos para PCR;
- Película plástica para sellar la placa;
- Guantes de procedimiento sin talco.

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar en congelador (-20°C).

Retirar solo los tubos necesarios para el análisis, evitando ciclos innecesarios de congelación y descongelación.

Período de validez

Válido por 1 año a partir de la fecha de producción, siempre que se respeten las condiciones de almacenamiento y estabilidad.

Indicación

Exclusivamente para uso diagnóstico veterinario *in vitro*.

Uso

Atención - Siempre considere el texto del prospecto que acompaña al producto.

Descongelar los reactivos NewGene LIRefQ, los controles negativos y las muestras de ADN, dejándolos en la bancada hasta que alcancen una temperatura cercana a la ambiente.

Limpiar la bancada con alcohol al 75% antes de comenzar las actividades y usar guantes (sin talco).

Homogeneizar todos los reactivos.

Aplicar **2,0 µL de NewGene LIRefQ** en los pozos designados para cada punto de la curva estándar (PA y PB) y en los pozos designados al control positivo (CIQ) del ensayo a realizar.

Sugerencia: utilizar duplicados en cada corrida.

Para amplificación, proceder según el protocolo de amplificación especificado en la etiqueta de **NewGene LIamp**.

Evaluación

Simbios Produtos Biotecnológicos Ltda
Rua Caí, 541 - Bairro Vila Princesa
Izabel
94940-030 - Cachoeirinha - RS
simbios.com.br newgene.com.br

Fone: 51 3074 7400
CNPJ 95.237.301/0001-40
Inscrição Estadual: 177/0189987
Inscrição Municipal: 138585



Identificar las muestras de prueba como "UNKNOWN", según lo indicado en el manual del Termociclador en Tiempo Real utilizado;

Identificar el punto CIQ, designándolo como "UNKNOWN", de la misma manera descrita anteriormente.

Identificar los puntos de referencia (PA y PB), designándolos como "STANDARD" en el software del termociclador en tiempo real utilizado, proporcionando las cargas:

PA – Ver prospecto del lote

PB – Ver prospecto del lote

Configurar el software para analizar dos muestras estándar duplicadas.

Establecer la línea de base (*Baseline*) y posicionar el *Threshold* en un punto donde las curvas ascendentes de amplificación sean paralelas. Activar el marco *Analyse* y guardar el documento.

Registrar los resultados:

POSITIVO/ CARGA: presencia de curva de amplificación (CT) y determinación de la carga del patógeno

NEGATIVO: ausência de leitura (invalid)

Para validar los resultados es necesario que:

Para la validación de los resultados de cuantificación, es necesario utilizar al menos tres puntos de referencia que hayan presentado lectura (CT) como STANDARD. El índice de regresión (R2) obtenido a partir de estos tres puntos de referencia debe ser superior a 0,9.

El punto CIQ se utilizará para evaluar la calidad del ensayo y servirá como parámetro de control de calidad. El valor encontrado para el CIQ debe verificarse en el prospecto del lote del kit.

Los datos del análisis deben ser **rechazados** si no se observa uno o más de estos parámetros, siendo recomendable **volver a probar** las muestras.

Parámetros para la definición de carga

Las cargas de los controles RefQ se expresan en Eq. genoma/reacción (copias/reacción), considerando reacciones de 30 µL, estándar de nuestros kits de amplificación.

Con el fin de ajustar la lectura de los resultados a la unidad de medida de su preferencia, se puede realizar el ajuste de la carga en diferentes unidades de trabajo, como, por ejemplo, copias/mL o copias/dosis de vacuna. Para ello, es necesario utilizar un factor de corrección basado en la muestra bruta y en el procedimiento de extracción utilizado, considerando las diluciones que pueden existir en los procesos.

Ejemplo: para la conversión de unidades a copias/mL de una muestra líquida extraída utilizando los kits NewGene Prep y Preamp, se debe multiplicar la carga de la muestra por 250.

Esta conversión es necesaria porque la alícuota de muestra utilizada inicialmente, de 100 µL (factor 1:10 para convertir a mL), se eluye en 50 µL y, de este volumen, se aplican 2 µL en la reacción (factor 1:25 para convertir a una reacción).

Las demás etapas en el uso del kit NewGene Preamp son solo lavados y no se consideran diluciones.

Por lo tanto, para tener la carga en copias/mL, se necesitará un factor de corrección de 250x.

Soporte Técnico

Para obtener asistencia técnica y obtener más información, póngase en contacto con nuestro Soporte Técnico a través del correo electrónico sac@newgene.com.br, visite nuestro sitio web en www.newgene.com.br o llame al teléfono +55 51 3074 7400.