



NEW GENERATION OF DIAGNOSTICS

Controle Interno de Qualidade, a ser lido como Unknown). A quantificação absoluta das amostras-teste é realizada pela interpolação dos resultados de leitura dos pontos (CT's) na curva padrão.

Componentes

Componente	Quantidade
PA	5 tubos
PB	5 tubos
CIQ	5 tubos

Equipamentos

- Microcentrífuga para tubos de 1,5 mL;
- Termociclador p/ PCR;
- Micropipetas (10, 20 e 200 µL);
- Agitador de tubos tipo vórtex;
- Ponteiras com barreira descartáveis;
- Filme plástico para vedação da placa;
- Microplacas ou tubos para PCR;
- Luvas de procedimento sem talco.

Estocagem e estabilidade

Armazenar em freezer (-20°C).

Retirar somente os tubos de reagentes necessários para o teste, evitando ciclos desnecessários de congelamento/descongelamento.

Período de validade

Válido por 1 ano a partir da data de produção, respeitadas as condições de estocagem e estabilidade.

Indicação

Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

Utilização

Atenção - sempre considere o texto da bula que acompanha o produto.

Descongelar os reagentes NewGene FCOVRefQ, controles negativos e amostras de DNA, mantendo-os na bancada até que alcancem temperatura próxima à do ambiente.

Limpar a bancada com álcool 75% antes do início das atividades e colocar luvas (sem talco).

Homogeneizar todos os reagentes.

Aplicar **2,0 µL do NewGene FCOVRefQ** nos poços destinados para cada ponto da curva padrão (PA e PB) e nos poços destinados ao controle positivo (CIQ) do ensaio a ser realizado.

Sugestão: utilizar em duplicata em cada corrida.

Para amplificação, proceder conforme protocolo de amplificação especificado na bula do NewGene FCOVAmp.

Avaliação

Identificar as amostras-teste como "UNKNOWN", conforme indicado no manual do Termociclador Real Time utilizado;

Identificar o ponto CIQ, definindo-o com "UNKNOWN", da mesma forma acima descrita.

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 os pontos de referência (PA e PB), definindo-os como "STANDARD" no software do equipamento Termociclador Real Time utilizado, informando as cargas:

PA – Vide bula do lote

PB – Vide bula do lote

Configurar o software para duas amostras padrão analisadas em duplicata.

Definir o *Baseline*.

Posicionar o *Threshold* em um ponto em que as curvas ascendentes de amplificação apresentem-se paralelas.

Aacionar o quadro *Analyse* e salvar o documento.

Registrar os resultados:

POSITIVO/ CARGA: presença de leitura (CT) e determinação da carga do patógeno

NEGATIVO: ausência de leitura (invalid)

Parâmetros para validação dos resultados

Para validação dos resultados de quantificação, é necessário que pelo menos três pontos de referência que apresentaram leitura (CT) sejam utilizados como STANDARD. O índice de regressão (R^2) obtido por estes três pontos de referência deve ser superior a 0,9.

O ponto CIQ será utilizado para avaliar a qualidade do ensaio e serve como parâmetro de controle de qualidade. O valor encontrado para CIQ deve ser verificado na bula do lote do kit.

Os dados da análise devem ser **rejeitados** caso um ou mais destes parâmetros não sejam observados, sendo indicado o **reteste** de amostras.

Parâmetros para definição de carga

As cargas dos controles RefQ são expressas em Eq. genoma/reação (cópias/reação), considerando reações de 30uL, padrão de nossos kits de amplificação.

Visando adequar a leitura dos resultados à unidade de medida de sua preferência, pode ser feito o ajuste da carga em diferentes unidades de trabalho, como, por exemplo, cópias/mL ou cópias/dose de vacina. Para tanto, é necessário utilizar um fator de correção baseado na amostra bruta e no procedimento de extração utilizado, considerando as diluições que podem existir nos processos.

Exemplo: para conversão de unidades em cópias/mL de uma amostra líquida extraída utilizando os kits NewGene Prep e Preamp, deve-se multiplicar a carga da amostra por 250.

Tal conversão se faz necessária, pois a alíquota de amostra utilizada inicialmente, de 100uL (fator 1:10 para converter para mL), é eluída em 50µL e, deste volume, é aplicado 2µL na reação (fator 1:25 para converter para uma reação).

As demais etapas no uso do kit NewGene Preamp são apenas lavagens e não são consideradas diluições. Portanto, para termos a carga em cópias/mL, será necessário um fator de correção de 250x.

Suporte Técnico

Para assistência técnica e maiores informações, entrar em contato com nosso Suporte Técnico pelo e-mail sac@newgene.com.br, pelo site www.newgene.com.br ou pelo telefone (51) 3074-7400.

Responsável Técnico: Luciane Dubina Pinto – CRMV-RS6694

V1.03/23