

Code: FAMTA.MA.IN.13

Rev: 05-00

Date: 1405/04



دفترچه راهنما

*famta*QUANT EBV Real-Time PCR Kit

کیت تشخیص مولکولی و تعیین میزان ویروس اپشتین بار

به روش Real-Time PCR

Version 05-00



Cat. No:

2040110 (24 Reactions)

2040111 (48 Reactions)

2040112 (96 Reactions)



info@famta.co
www.famta.co



0939-188 3994
02122004254-5

CCCTCGAGGACAAAGGCGT
CAGTCCAGATGACCA
TACCCFAMTAAG
ATGAAAG
CCTAG

صفحه	عنوان
1.....	مقدمه
1.....	محتویات کیت
2.....	شرایط نگهداری
2.....	مواد و تجهیزات لازم
2.....	مشخصات محصول
3.....	دستگاه های Real-Time PCR
3.....	نمونه و شرایط نگهداری آن
3.....	احتیاط ها و هشدار ها
4.....	روش استخراج ژنوم
4.....	آماده سازی واکنش
5.....	اضافه کردن الگو
6.....	تنظیم برنامه دستگاه
6.....	وارد کردن غلظت استاندارد ها در نرم افزار دستگاه
7.....	اعتبار سنجی آزمون (Assay Validation)
7.....	تفسیر نتایج (Result Interpretation)
8.....	عملکرد کیت (Kit Performance)
8.....	حساسیت بالینی (Clinical Sensitivity)
9.....	اختصاصیت (Specificity)
10.....	تکرار پذیری (Reproducibility)
10.....	عیب یابی (Troubleshooting)
10.....	نماد ها

مقدمه

EBV (Epstein-Barr virus) عامل بیماری مونونوکلئوز عفونی بوده و با برخی از انواع سرطان مانند لنفوم هوچکین، لنفوم بورکیت و بیماری‌هایی مانند ایدز (HIV)، مولتیپل اسکلروز و ام اس در ارتباط است. اپشتین بار ویروس از گروه هرپس ویریده‌ها و زیرخانواده گاما هرپس ویرینه است که هرپس ویروس تیپ چهار (HHV-4) نیز نامیده می‌شود. ژنوم DNA دورشته‌ای داشته و اندازه آن بین 120 تا 180 nm می‌باشد. بسیاری از افراد در دوران کودکی به EBV آلوده می‌شوند. بررسی‌های سرواپیدمیولوژی نشان می‌دهد که بیش از ۹۵٪ از بزرگسالان در جهان با ویروس EBV مواجه شده‌اند. عفونت طبیعی EBV تنها در انسان رخ داده و بسیار شایع است. علائم عفونت EBV می‌تواند شامل خستگی، تب، التهاب و... باشد. عفونت EBV در کودکان معمولاً فاقد علائم و یا دارای علائم خفیف است که ممکن است از سایر بیماری‌ها قابل تفريق نباشد. عفونت EBV معمولاً در نوجوانان یا بزرگسالان طی دو تا چهار هفته بهبود می‌یابد، با این حال ممکن است برخی افراد چندین هفته یا حتی ماه‌ها احساس خستگی کنند.

پس از عفونت ویروس EBV در بدن غیر فعال شده و در برخی موارد ممکن است دوباره فعال گردد. فعال شدن اپشتین بار همیشه باعث بروز علائم نمی‌گردد اما در افرادی که دارای سیستم ایمنی ضعیف هستند با احتمال بیشتر و با علائم وسیع شروع به فعالیت مجدد می‌کند. معمولاً ۴ تا ۶ هفته بعد از ابتلا به EBV علائم مونونوکلئوز عفونی مشاهده می‌شود. بزرگ شدن کبد و طحال با شیوع کمتری رخ می‌دهد.

کیت حاضر جهت تشخیص ویروس EBV به روش Real-Time PCR طراحی شده و قادر است ناحیه ژنومی محافظت شده و اختصاصی از این ویروس را با حساسیت و اختصاصیت بالا تشخیص دهد. همچنین جهت بررسی فرآیند استخراج اسید نوکلئیک ویروس و پیشگیری از نتایج منفی کاذب یا وجود مهار کننده واکنش PCR، کنترل داخلی Exogenous در محتویات این کیت در نظر گرفته شده است.

کیت‌ها بر اساس تعداد تست قابل انجام، به صورت ۲۴، ۴۸ و ۹۶ واکنشی طراحی شده‌اند.

محتویات کیت

جدول ۱) محتویات کیت

Color	Title	Volume per vial	No. of vials 24 Reactions	No. of vials 48 Reactions	No. of vials 96 Reactions
Blue	PCR Buffer Mix ¹	260 µl	1	2	4
Purple	Primers & Probes ²	135 µl	1	2	4
Red	EBV Standard 1 ³	100 µl	1	1	1
Red	EBV Standard 2 ³	100 µl	1	1	1
Red	EBV Standard 3 ³	100 µl	1	1	1
Red	EBV Standard 4 ³	100 µl	1	1	1
Red	EBV Standard 5 ³	100 µl	1	1	1
Green	Internal Control ⁴	650 µl	1	1	2
White	DDW ⁵	600 µl	1	1	2

- ۱- بافر میکس
- ۲- حاوی پرایمرها و پروب های ویروس اِپشتین بار و کنترل داخلی
- ۳- حاوی ژنوم EBV با مقادیر مشخص (جهت رسم منحنی استاندارد)
- ۴- IC (Internal Control): حاوی ژنوم کنترل داخلی
- ۵- DDW، آب DNase-RNase Free

شرایط نگهداری

کیت را تا زمان انقضا در فریز -۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری نمایید. از مخلوط کردن محلولها و موادی که شماره سریال (Lot Number) متفاوت دارند خودداری نمایید و از کیتی که تاریخ انقضای آن گذشته است استفاده نکنید. کیت به همراه یخ خشک ارسال می شود. دقت کنید که اجزای کیت پس از دریافت منجمد بوده و از نظر ظاهری نیز سالم باشند. ذوب مکرر (بیشتر از ۲ بار) اجزای کیت ممکن است بر عملکرد سنجش تاثیر بگذارد به همین منظور در ابتدا اجزای کیت را Aliquot کنید.

مواد و تجهیزات لازم

- ✓ دستگاه Real-Time PCR که دارای کانال های نارنجی و زرد باشد.
- ✓ بلوک های آلومینیومی (Ice Racks) که از قبل در یخچال قرار گرفته و سرد باشند.
- ✓ سمپلرهای متغیر (0.5-10 µL و 10-100 µL)
- ✓ سر سمپلر فیلتردار DNase-RNase Free
- ✓ میکروتیوب DNase-RNase Free، 1.5 ml
- ✓ میکروتیوب های مخصوص PCR
- ✓ دستگاه مینی اسپین ورتکس
- ✓ کیت استخراج DNA ویروسی
- ✓ دستکش لاتکس بدون پودر

مشخصات محصول

کیت famtaQUANT EBV Real-Time PCR، یک کیت تشخیصی آزمایشگاهی مبتنی بر متد TaqMan Probe که به منظور تشخیص و تعیین میزان DNA اختصاصی EBV تولید گردیده است. تست دارای یک سیستم تکثیر هترولوگ (تکثیر ژن کنترل داخلی) جهت تعیین احتمال وجود ممانعت کننده های PCR و همچنین صحت عملکرد محلول های کیت می باشد.

پروپ اختصاصی EBV DNA با رنگ FAM (کانال سبز) و پروپ اختصاصی ژن کنترل داخلی (IC) با رنگ JOE (کانال زرد) نشان دار شده است.

استفاده از پروب های متصل شده به رنگ های متفاوت، امکان تشخیص همزمان DNA اختصاصی EBV و کنترل داخلی را به دستگاه Real-Time PCR می دهد.

دستگاه های Real-Time PCR

کیت famtaQUANT EBV Real-Time PCR جهت انجام تست با دستگاه های زیر طراحی گردیده است:

- ✓ Rotor Gene 6000
- ✓ Rotor Gene Q
- ✓ MIC (Bio Molecular System)
- ✓ LightCycler 96 (Roche)
- ✓ ABI StepOne and StepOne Plus (Applied Bio Systems)
- ✓ SLAN
- ✓ Gentier 48/96 (Tian Long)

نمونه و شرایط نگهداری آن

نمونه مناسب جهت انجام آزمون کمی EBV، خون کامل بیمار است. نمونه خون بیمار باید در لوله استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شده و بلافاصله نسبت به استخراج ژنوم ویروس اقدام گردد. در صورت نیاز و درخواست پزشک می توان از نمونه های پلاسما، سرم، بافت و ... جهت استخراج ژنوم استفاده نمود. اگر امکان استخراج ژنوم فراهم نباشد نمونه باید تا زمان استخراج در فریزر ۲۴- درجه سانتیگراد نگهداری شود. پیشنهاد می شود قبل از فریز کردن، نمونه را در دو حجم 200 µL جهت انجام تست و احیاناً تکرار آن، و یک حجم 1000 µL جهت Backup، در میکروتیوپ های 1.5 mL، DNase-RNase Free جداسازی نمایید. به هیچ وجه از نمونه ای حاوی هپارین و EDTA در غلظت های بالا استفاده نشود.

احتیاط ها و هشدار ها

این کیت در مصارف تشخیصی کاربرد دارد. استناد به نتایج این کیت بدون استفاده از سایر داده های بالینی، آزمایشگاهی و پاراکلینیکی توصیه نمی شود. رعایت اقدامات ایمنی عمومی در هنگام کار با نمونه های عفونی، محلول ها و ریجنتها الزامیست. قبل از انجام آزمون دستکش لاتکس بدون پودر پوشیده و با استفاده از یک گاز استریل آغشته به وایتکس ۱۰٪ سطوح کاری را تمیز و ضد عفونی نمایید. در پایان دستکش و گاز استریل را دور انداخته و دستکش جدیدی پوشیده و با گاز استریل آغشته به الکل ۷۰٪ سطوح کاری را کاملاً پاک و ضد عفونی نمایید. سپس به مدت حداقل ۲۰ دقیقه لامپ UV هود و یا Workstation را روشن نموده تا فضای زیر آن ضد عفونی گردد. استفاده از کیت باید توسط افرادی که آشنایی کامل با اصول و روش های تشخیص مولکولی Real-Time PCR همچنین توانایی آنالیز و تفسیر داده ها را داشته باشند، انجام پذیرد. مقررات کار با نمونه های عفونی باید بر اساس رعایت اصول صحیح آزمایشگاهی (GLP) انجام گیرد. جهت جلوگیری از بروز آلودگی حین کار (Carry over contamination) استفاده از مکان های مجزا جهت آماده سازی و انجام واکنش ضروری است. از سه اتاق مجزا برای عملیات هایی نظیر استخراج نمونه، آماده سازی واکنش ها و فرایند تکثیر استفاده کنید.

هرگز درب ویال های تکثیر شده را باز نکنید. بعد از اتمام آزمون فوراً ویال های تکثیر شده را از دستگاه Real-Time PCR خارج نموده و در ظرف محتوی هیپوکلیت سدیم ۱۰٪ قرار داده و نسبت به اتوکلاو آن اقدام و در فضایی خارج از آزمایشگاه معدوم نمایید.

سمپلرها را هر ۶ ماه یک بار کالیبره نمایید و از سر سمپلرهای فیلتردار و DNase-RNase Free استفاده نمایید. در صورت بروز هرگونه سوال در مورد انجام آزمون ابتدا به دقت دستورالعمل کیت را مطالعه نموده و سپس با کارشناس فنی شرکت فام تن آزما تماس حاصل نمایید. چنانچه نمونه های آزمایشگاه شما به تعداد کافی نمیباشند، به محض دریافت کیت آن را در حجم های کمتر Aliquot کرده و تا زمان استفاده، در فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمایید.

روش استخراج ژنوم

توصیه می شود برای استخراج DNA از کیت های استخراج استاندارد و از برندهای معتبر، یا از دستگاه های استخراج اتوماتیک از کمپانی های معتبر استفاده گردد.

نمونه خون را از فریزر خارج کرده و اجازه دهید تا در دمای اتاق ذوب شود. سپس نمونه ی خون را مدت کوتاهی ورتکس و اسپین نماید. سپس مقدار ۲۰۰ µL از خون کامل بیمار را در یک میکرو تیوب ۱.۵ mL ریخته، با استفاده از کیت و یا دستگاه های استخراج اتوماتیک، DNA ویروس را از نمونه استخراج نمایید.

کیت های استخراج QIAamp DSP Virus Spin Kit و یا QIAamp DNA Blood mini Kit (کمپانی کیاژن) جهت استخراج DNA ویروس توصیه می گردند.

توجه: برای اطمینان از صحت نتایج منفی Viral Load بیمار، ارزیابی عدم حضور ممانعت کننده های واکنش PCR و اطمینان از کیفیت استخراج، ۱۲ µL از کنترل داخلی (IC) را در هنگام استخراج به Lysate (مخلوط بافر لیز کننده و خون) بعد از مرحله انکوباسیون و قبل از مرحله ی اضافه کردن اتانول در استخراج اضافه نمایید. هرگز نمونه کنترل داخلی را مستقیماً به خون اضافه نکنید.

در هر آزمون یک نمونه منفی را نیز جهت کنترل، استخراج کنید.

بهتر است حجم Elution Buffer نهایی ۶۰ µL باشد.

تا زمان انجام آزمایش می توان DNA استخراج شده را در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهدار نمود.

توجه: اگر حجم نمونه و یا Elution Buffer نهایی را تغییر دادید حتماً با کارشناسان فنی شرکت تماس بگیرید. ویال های استاندارد (درب قرمز) را هرگز استخراج نکنید.

آماده سازی واکنش

تهیه مستر میکس

بر اساس تعداد واکنش هایی که میخواهید انجام دهید ویال های کیت شامل PCR Buffer Mix & Primers Probes، استانداردها (S1, S2, S3, S4, S5)، Internal Control و DDW را از فریزر خارج کرده و اجازه دهید تا بر

روی Ice Rack به تدریج ذوب شوند و پس از اطمینان از ذوب شدن، ویال ها را به طور مختصر ورتکس و سپس اسپین نموده و بر اساس جداول زیر نسبت به تهیه مستر میکس اقدام کنید.

تهیه مستر میکس به دو صورت انجام می شود

اگر کنترل داخلی جهت اطمینان از عدم حضور ممانعت کننده های PCR بکار می رود، مستر میکس را بر اساس جدول ۲ تهیه نمایید.

جدول ۲) آماده سازی میکس PCR به همراه کنترل داخلی

Number of Reactions (rxns)	1
PCR buffer Mix	10 μ L
Primers & Probes	5 μ L
Internal Control	2 μ L
Master Mix Volume	17 μ L

اگر کنترل داخلی جهت کنترل مرحله استخراج و اطمینان از عدم حضور ممانعت کننده های PCR بکار می رود، ژنوم کنترل داخلی میبایست در هنگام استخراج اسید نوکلئیک به نمونه خون اضافه شده باشد (قبلا در دفترچه توضیح داده شد). در این صورت مستر میکس را بر اساس جدول ۳ تهیه نمایید.

جدول ۳) آماده سازی میکس PCR بدون کنترل داخلی

Number of Reactions (rxns)	1
PCR buffer Mix	10 μ L
Primers & Probes	5 μ L
Master Mix Volume	15 μ L

اضافه کردن الگو

مستر میکس آماده شده را به کمک پپتینگ و یا ورتکس آرام، هموژن و سپس اسپین نمایید.

مقدار 15 μ L از مستر میکس تهیه شده را به میکرو تیوب های مخصوص PCR که بر روی بلوک آلومینیومی سرد شده (Ice Rack) قرار دارند اضافه نمایید.

مقدار 10 μ L از DNA استخراج شده (برای بیماران)، همچنین از هریک از استاندارد ها را در هر میکروتیوب های مربوطه اضافه کنید.

نکته: برای جلوگیری از آلودگی حین کار به ترتیب میکروتیوب NTC، نمونه های بیماران و سپس میکروتیوب های استاندارد را آماده نمایید.

سپس بلوک آلومینیومی سرد (Ice Rack) را به اتاقی که دستگاه Real-Time PCR قرار دارد منتقل کنید.

تنظیم برنامه دستگاه

دستگاه های Real-Time PCR که دارای رنگ های خوانش FAM و JOE باشند، جهت استفاده با کیت حاضر مناسب هستند. در دستگاه ABI 7500 رنگ های آلترناتیو JOE، HEX یا VIC می باشند. در انتخاب دکتورها دقت کنید. رنگ فلورسنت جهت گزارشگر (Reporter) FAM، EBV (Reporter) است و رنگ فلورسنت جهت گزارشگر (Reporter) JOE کنترل داخلی، JOE است.

دمایی برای آزمون Real-Time PCR

جدول ۴) برنامه دمایی

	Temperature	Hold	Acquisition	Cycle
Initial denaturation and polymerase activation	95°C	15 min	-----	1X
Denaturation	95°C	20 sec	-----	45X
Annealing and elongation	60°C	40 sec	yes	

تنظیمات اختصاصی دستگاه Rotorgene جهت بهینه سازی خوانش:

Gain optimization:

Optimize Acquiring → perform optimization before 1st Acquisition

وارد کردن غلظت استاندارد ها در نرم افزار دستگاه

غلظت استاندارد ها را بر اساس ستون ۱ و یا ستون ۲ جدول ۵ در نرم افزار دستگاه تنظیم کنید. توصیه می شود که اعداد استاندارد ها را بر اساس ستون دوم تنظیم نمایید. چنانچه غلظت استاندارد ها را بر مبنای IU/μl تنظیم کردید، جهت تبدیل نتایج و گزارش آنها بر مبنای IU/ml، جواب های بدست آمده برای هریک از نمونه ها را در فاکتور ۳۰۰ ضرب نمایید. برای گزارش نتایج بر اساس copies/ml، نتایج به دست آمده براساس واحد IU/ml را در عدد ۵ ضرب کنید.

جدول ۵) غلظت ویال های استاندارد

Quantification Standards	Column 1 Concentration [IU/μl]	Column 2 Concentration [IU/ml]
Standard 1	1,000,000	300,000,000
Standard 2	100,000	30,000,000
Standard 3	10,000	3,000,000
Standard 4	1000	300,000
Standard 5	100	30,000

اعتبار سنجی آزمون (Assay Validation)

Threshold را با رعایت اصول زیر رسم نمایید:

خط **Threshold** را روی **0.05** و یا در صورتی که نتایج بهتری حاصل می شود به صورت دستی و در ناحیه ای بالاتر از فلورسنت پایه و در محدوده ی خطی نمودار تنظیم نمایید.

تمام کنترل منفی ها (NTC and Negative Control) باید زیر خط **Threshold** قرار گیرند.

اگر آلودگی مشاهده شود (وجود منحنی تکثیر "Amplification plot" در نمونه NTC)، نتایج حاصل از آزمون قابل تفسیر نبوده و باید کل ران تکرار شود.

تمام نمونه های استاندارد باید دارای منحنی تکثیر (فاز تصاعدی) باشند و فواصل اطمینان در آنها در ایده آل ترین حالت باشد.

نمونه های کنترل می بایست در کانال (رنگ) مربوطه دارای سیگنال باشند.

نتایج حاصل از آزمون های کمی (نمودار استاندارد) باید دارای ویژگی های زیر باشد:

جدول ۶ ویژگی های منحنی استاندارد

Control Parameter	Valid Value
Slope ¹	-3.1 / -3.6
PCR Efficiency	90% _ 105%
R square (R ²)	> 0.98

تفسیر نتایج (Result Interpretation)

نمونه های مثبت و استاندارد های کیت باید منحنی تکثیر سیگموئیدی را نشان دهند. هر نمونه که منحنی تکثیر را نشان بدهد به عنوان مثبت در نظر گرفته می شود.

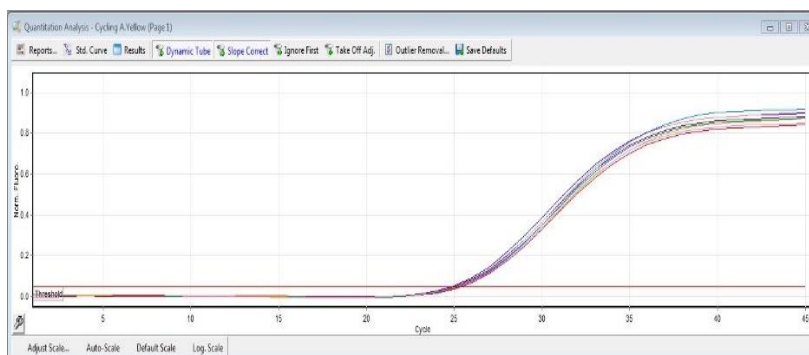
در صورتیکه نمونه بیمار دارای منحنی سیگموئیدی بوده و Ct کمتر از ۴۰ داشته باشد، بدون در نظر گرفتن نتیجه آن جهت تکثیر کنترل داخلی، مثبت تلقی می شود.

در صورتیکه نمونه بیمار فاقد منحنی تکثیر برای ویروس EBV بوده ولی دارای منحنی تکثیر برای کنترل داخلی باشد این نمونه منفی در نظر گرفته می شود.

اگر Ct کنترل داخلی نمونه ای دارای اختلاف قابل توجهی نسبت به سایر نمونه ها باشد، به احتمال زیاد لود ویروس به دست آمده جهت آن نمونه نیز صحیح نمی باشد و در این صورت تکرار استخراج نمونه مورد نظر پیشنهاد می گردد.

در صورتیکه نمونه بیمار فاقد منحنی تکثیر برای هر دو رنگ خوانش FAM و JOE باشد، استخراج یا آزمایش آن نمونه میبایست تکرار شود.

توجه: دقت نمایید که شرط دارا بودن شکل سیگموئیدی برای تفسیر نتایج نمودار ضروری است. در دستگاه Rotor Gene Q می توانید جهت اصلاح شیب نمودار ها و مشاهده ی نمودارهای سیگموئیدی، گزینه ی Slope correction را روشن و یا خاموش نمایید.



شکل ۱) نمودار تکثیر کنترل داخلی (Amplification Curve of Internal Control)

جدول ۷) تفسیر نتایج یک آزمون

Detection Channel		Result Interpretation
FAM (HBV target)	JOE (Internal Control)	-----
Positive	Positive or Negative	Result is Positive
Negative	Positive	Target (EBV) Not Detected Result is Negative
Negative	Negative	PCR inhibition or reagent failure. Repeat test or Extraction again.

عملکرد کیت (Kit Performance)

دامنه خطی (Kit Dynamic Range)

خطی بودن آزمون، با آنالیز سریال رقت با اختلاف ده برابر بصورت ۹ لگاریتم از غلظت الگو از 10^9 IU/μL تا 10 IU/μL کپی از غلظت الگو خطی در واکنش است.

حساسیت تشخیصی (Analytical Sensitivity)

کمترین حد تشخیصی این کیت برای ۲۰ بار تکرار از کمترین تیترو ویروس، معادل ۵ کپی از ویروس در یک واکنش (۱۵۰ کپی از ویروس در یک میلی لیتر از نمونه) بود که با اطمینان بیش از ۹۵٪ تشخیص داده شد.



شکل ۲) آزمون حساسیت تشخیصی

اختصاصیت (Specificity)

اختصاصیت آنالیتیکی (Analytical Specificity)

این کیت بر اساس توالی ژنی محافظت شده EBV طراحی شده و قابلیت تشخیص بالایی برای توالی ژن مورد نظر دارد این کیت هیچ واکنش متقاطعی با سایر ویروس ها و باکتری ها ندارد.

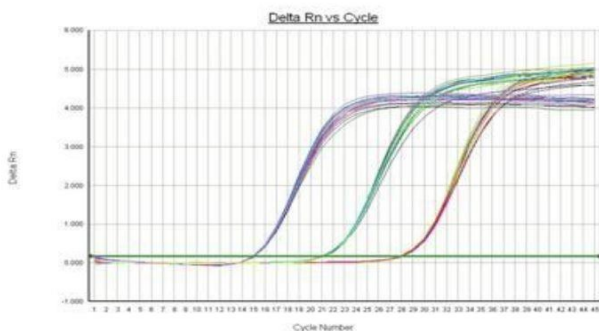
برای این منظور آزمون Real-Time PCR با استفاده از این کیت بر روی نمونه های استخراج شده ارگانسیم های زیر انجام شد و هیچ نتیجه مثبتی مشاهده نگردید.

جدول ۸) نتایج آزمون اختصاصیت

Virus / bacteria / parasite	strain	source	Concentration	CT value
HSV-1		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
HSV-2		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
CMV		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
BK Virus		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
JC Virus		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
VZV		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
HBV		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
HHV-6		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
HIV-1		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
HIV-2		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected
HCV		Clinical sample	6×10^{-7} copies/mL	Undetected

تکرارپذیری (Reproducibility)

نتایج حاصل از ۲۴ بار تکرار از ۳ لگاریتم از غلظت استاندارد ها بالاترین تکرار پذیری را نشان داد.



شکل ۳) آزمون تکرار پذیری

عیب یابی (Troubleshooting)

در صورتی که هیچ سیگنالی در میکروتیوب های مربوط به استاندارد خوانده نشود:

علل احتمالی:

- نمونه های استاندارد به تیوب های مربوطه اضافه نشده است.
- کانال های انتخاب شده مطابق با SOP نمی باشند.
- پروفایل دمایی انتخاب شده مطابق با SOP نمی باشد.
- میکس نکردن و یا میکس ناکافی نمونه های استاندارد.
- کالیبر نبودن سمپلرها و استفاده از سمپلر هایی با برندهای متفاوت
- رعایت نشدن شرایط نگهداری یکی یا بیشتر اجزاء کیت و یا اتمام تاریخ اعتبار کیت

راه حل:

- سمپلرها را کالیبر نموده و تمام سائیزهای سمپلر را از یک برند انتخاب نمایید.
- آزمون را دوبار تکرار کرده، ریجنت ها را ورتکس و سپس اسپین نموده و عمل پیپتینگ را به درستی انجام دهید.

دریافت منحنی تکثیر در نمونه NTC و NC جهت توالی هدف (EBV):

علل احتمالی:

- آلودگی در فضای کار و یا ریجنت های کیت اتفاق افتاده است.

راه حل:

- فضای کار، سمپلر ها و... را مطابق SOP مربوطه تمیز کرده و لامپ های UV زیر ورک استیشن ها و اتاق را به مدت حداقل ۲۰ دقیقه روشن نمایید، ریجنت های آلوده شده را دور ریخته و از ریجنت های جدید استفاده کنید.

نماد ها

جدول (۱۰) نماد ها

	شماره کاتالوگ / رفرنس		دفترچه راهنما
	لات نامبر		جهت مصارف تحقیقاتی
	شرکت تولید کننده		تاریخ تولید
	تعداد واکنش در هر کیت		دمای نگهداری
	تاریخ انقضا		

یادداشت:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

همکار گرامی:

در صورت هر گونه سوال و اشکال با کارشناسان شرکت فمتا تماس حاصل فرمایید.

شماره تلفن پشتیبانی: ۰۹۰۴ ۴۷۳ ۹۰۰۰

ایمیل پشتیبانی: support@famta.co