



دفترچه راهنما

***famta*QUANT HCV Real-Time PCR Kit**

کیت تشخیص مولکولی و تعیین میزان ویروس هپاتیت C

Real-Time PCR به روش

Version 05-00



Cat. No:

2040113 (24 Reactions)

2040114 (48 Reactions)

2040115 (96 Reactions)



info@famta.co



www.famta.co



0939-188 3994



02122004254-5

صفحه	عنوان
۱.....	مقدمه
۱.....	محتویات کیت
۲.....	شرایط نگهداری
۲.....	مواد و تجهیزات لازم
۲.....	مشخصات محصول
۳.....	دستگاه های Real-Time PCR
۳.....	نمونه و شرایط نگهداری آن
۳.....	احتیاط ها و هشدار ها
۴.....	روش استخراج ژنوم
۴.....	آماده سازی واکنش
۵.....	اضافه کردن الگو
۶.....	تنظیم برنامه دستگاه
۶.....	وارد کردن غلظت استاندارد ها در نرم افزار دستگاه
۷.....	اعتبار سنجی آزمون (Assay Validation)
۷.....	تفسیر نتایج (Result Interpretation)
۸.....	عملکرد کیت (Kit Performance)
۸.....	حساسیت بالینی (Clinical Sensitivity)
۸.....	حساسیت تشخیصی (Analytical Sensitivity)
۹.....	اختصاصیت (Specificity)
۱۰.....	عیب یابی (Troubleshooting)
۱۱.....	نماد ها

مقدمه

هیپاتیت C ویروسی (HCV) یکی از بیماری‌های مهم ویروسی است که به طور عمده کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهد و می‌تواند منجر به مشکلات جدی مانند سیروز کبدی و سرطان کبد شود.

ویروس HCV یک RNA ویروس از خانواده Flaviviridae است. این ویروس معمولاً از طریق خون آلوده منتقل می‌شود، به ویژه از طریق تبادل سرنگ‌ها، انتقال خون و از مادر به نوزاد. میزان شیوع این بیماری در سطح جهانی متفاوت است، ولی به طور کلی در مناطقی مانند آسیای جنوبی، خاورمیانه و کشورهای آفریقایی شایع‌تر است. پس از ورود ویروس به بدن، عمدتاً کبد آلوده می‌گردد و ممکن است باعث التهاب مزمن کبدی شود. این التهاب مزمن می‌تواند به سیروز و در نهایت سرطان کبد منجر گردد. ویروس HCV به دلیل توانایی ایجاد تغییرات در ژنوم خود، قادر به فرار از پاسخ سیستم ایمنی بدن است.

کیت تشخیص مولکولی و تعیین میزان ویروس هیپاتیت C با روش Quantitative Real-Time PCR این امکان را فراهم می‌کند که علاوه بر تشخیص مقادیر بسیار کم ویروس، تعداد ویروس را نیز در یک میلی لیتر از پلاسما تعیین نمایید.

کیت ها 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	Buffer Mix ^۱	390 µl	1	2	4
Blue	Enzyme Mix ^۲	78 µl	1	2	4
Purple	Primers & Probes ^۳	52 µl	1	2	4
Red	HCV Standard 1 ^۴	100 µl	1	1	1
Red	HCV Standard 2 ^۴	100 µl	1	1	1
Red	HCV Standard 3 ^۴	100 µl	1	1	1
Red	HCV Standard 4 ^۴	100 µl	1	1	1
Red	HCV Standard 5 ^۴	100 µl	1	1	1
Green	Internal Control ^۵	650 µl	1	1	2
White	DDW ^۶	600 µl	1	1	2

۱- بافر میکس

۲- Enzyme Mix شامل Reverse Transcriptase, RNase inhibitor and hot-start version of PCR enzyme

۳- حاوی پرایمرها و پروب های ویروس هیپاتیت C و کنترل داخلی

۴- حاوی ژنوم HCV با مقادیر مشخص (جهت رسم منحنی استاندارد)

۵- IC (Internal Control): حاوی ژنوم کنترل داخلی

۶- 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 رنگ های خوانش FAM و JOE باشد.
- ✓ بلوک های آلومینیومی (Ice Racks) که از قبل در یخچال قرار گرفته و سرد باشند.
- ✓ سمپلر های متغیر (0.5-10 µL و 10-100 µL)
- ✓ سر سمپلر فیلتردار DNase-RNase Free
- ✓ میکروتیوب 1.5 ml DNase-RNase Free
- ✓ میکروتیوب های مخصوص PCR
- ✓ دستگاه مینی اسپین ورتکس
- ✓ کیت استخراج RNA ویروسی
- ✓ دستکش لاتکس بدون پودر

مشخصات محصول

کیت famtaQUANT HCV Real-Time PCR، یک کیت تشخیصی آزمایشگاهی مبتنی بر متد TaqMan Probe بوده، که به منظور تشخیص و تعیین میزان RNA اختصاصی ویروس هپاتیت C 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 RNA ویروس هپاتیت C با رنگ FAM (کانال سبز) و پروپ اختصاصی ژن کنترل داخلی (IC) با رنگ JOE (کانال زرد) نشان دار شده است.

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

دستگاه های Real-Time PCR

کیت famtQUANT HCV 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 ویروس هپاتیت C، پلاسما می باشد. نمونه خون باید در لوله استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شده و بعد از جداسازی پلاسما آن، بلافاصله نسبت به استخراج ژنوم اقدام گردد.

در صورتی که امکان استخراج ژنوم فراهم نباشد نمونه پلاسما باید تا زمان استخراج در فریزر ۲۴- درجه سانتیگراد نگهداری شود.

پیشنهاد می شود قبل از فریز کردن، نمونه ی پلاسما را در دو حجم 200 µL جهت انجام تست و احیاناً تکرار آن، و یک حجم 1000 µL جهت Backup، در میکروتیوب های 1.5 mL، DNase-RNase Free جداسازی نماید. به هیچ وجه از پلاسما می 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 هابی 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 هیپوکلریت 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 نمی باشند، 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 RNA از کیت های استخراج استاندارد و از برند های معتبر، یا از دستگاه های استخراج اتوماتیک از کمپانی های معتبر استفاده گردد. نمونه پلاسما را از فریزر خارج کرده و اجازه دهید تا در دمای اتاق ذوب شود. سپس نمونه پلاسما را مدت کوتاهی ورتکس و اسپین نماید. سپس مقدار ۲۰۰ µL از پلاسمای بیمار را در یک میکرو تیوب ۱.۵ mL ریخته، با استفاده از کیت و یا دستگاه های استخراج اتوماتیک، RNA ویروس را از نمونه استخراج نمایید. کیت استخراج QIAamp DSP Virus Spin Kit (کمپانی کیاژن) جهت استخراج RNA ویروس هپاتیت C توصیه می گردند.

توجه: برای اطمینان از صحت نتایج منفی Viral Load بیماران، 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 پلاسما)، بعد از مرحله ی انکوباسیون و قبل از مرحله ی اضافه کردن اتانول در استخراج اضافه نمایید. هرگز نمونه کنترل داخلی را مستقیماً به پلاسما 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 RNA 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 Enzyme Mix، Buffer Mix، Primers & Probes، استاندارد ها (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. (همگن کردن ویال آنزیم را با پیپتاژ نمودن و اسپین انجام دهید).

دقت نمایید که مراحل آماده سازی ویال آنزیم و میکس نهایی واکنش بایستی بر روی یخ انجام گیرد.

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

HCV Mix	1 (rxns)
Buffer Mix	15 μ L
Enzyme mix	3 μ L
Primers & Probes	2 μ L
IC	1 μ L
Master Mix Volume	20 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 پلاسما اضافه شده باشد (در قسمت استخراج ژنوم توضیح داده شد). در این صورت مستر میکس را بر اساس جدول ۳ تهیه نمایید.

جدول ۳) آماده سازی میکس PCR بدون کنترل داخلی

HCV Mix	1 (rxns)
Buffer Mix	15 μ L
Enzyme mix	3 μ L
Primers & Probes	2 μ L
Master Mix Volume	20 μ L

اضافه کردن الگو

مستر میکس آماده شده را به کمک پیپتینگ و یا ورتکس آرام، هموژن و سپس اسپین نمایید. مقدار 20 μ L از مستر میکس تهیه شده را به میکروتیوب های مخصوص PCR که بر روی بلوک آلومینیومی سرد شده (Ice Rack) قرار دارند اضافه نمایید.

مقدار 10 μ L از RNA 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 دتکتورها دقت کنید.

رنگ فلورسنت جهت گزارشگر (Reporter) ویروس هپاتیت C، FAM و رنگ فلورسنت جهت گزارشگر (Reporter) کنترل داخلی، JOE می باشد.

برنامه دمایی برای آزمون Real-Time PCR

جدول ۴) برنامه دمایی

	Temperature	Hold	Acquisition	Cycle
cDNA synthesis	50°C	40 min	-----	1X
Initial denaturation and polymerase activation	95°C	15 min	-----	1X
Denaturation	95°C	20 sec	-----	45X
Annealing and elongation	57°C	40 sec	yes	

تنظیمات اختصاصی دستگاه Rotorgene جهت بهینه سازی خوانش:

Gain optimization:

Optimize Acquiring → perform optimization before 1st Acquisition on 57°C

وارد کردن غلظت استاندارد ها در نرم افزار دستگاه

غلظت استانداردها 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 استانداردها 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 ۴/۵ 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	1,000	300,000
Standard 5	100	30,000

اعتبار سنجی آزمون (Assay Validation)

Threshold را با رعایت اصول زیر رسم نمایید:

خط **Threshold** را روی **0.02** 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 to -3.6
PCR Efficiency	90% to 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 HCV بوده ولی دارای منحنی تکثیر برای کنترل داخلی باشد این نمونه منفی در نظر گرفته می شود.

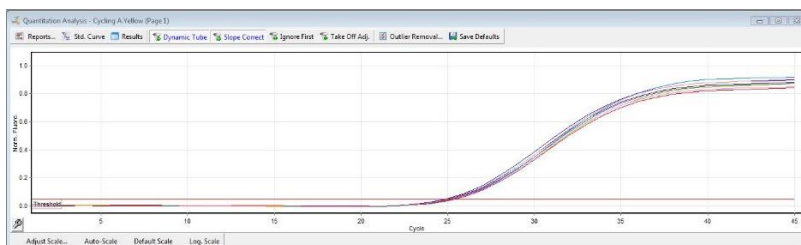
اگر Ct کنترل داخلی نمونه ای دارای اختلاف قابل توجهی نسبت به سایر نمونه ها باشد، و یا کنترل داخلی در نمونه ای که لود ویروس پایینی را نشان می دهد بالا نرفته باشد، به احتمال زیاد لود ویروس به دست آمده جهت آن نمونه صحیح نبوده و در این صورت تکرار استخراج نمونه مورد نظر پیشنهاد می گردد.

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 نمودارهای سیگموئیدی، گزینه Slope correction را روشن و یا خاموش نمایید.

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

جدول (۷) تفسیر نتایج یک آزمون

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



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

عملکرد کیت (Kit Performance)

دامنه خطی (Kit Dynamic Range)

خطی بودن آزمون، با آنالیز سریال رقت با اختلاف ده برابر بصورت لگاریتمی از نمونه کلون شده حاوی بخشی از ژنوم ویروس، از 10^8 IU/μl تا 10 IU/μl تعیین شده است.

حساسیت تشخیصی (Analytical Sensitivity)

کمترین حد بالینی این کیت از کمترین تیتراژ ویروس، معادل 1 IU/μl از ویروس تعیین شده است که با اطمینان بیش از ۹۵٪ تشخیص داده شد. یک IU/μl معادل $4/5$ کپی در میکرولیتر می باشد.

اختصاصیت (Specificity)**اختصاصیت آنالیتیکی (Analytical Specificity)**

این کیت بر اساس توالی ژنی محافظت شده HCV طراحی شده و قابلیت تشخیص بالایی برای توالی ژن مورد نظر دارد این کیت هیچ واکنش متقاطعی با ویروس های اشاره شده در جدول زیر 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	Source	CT value
HSV-1	Clinical sample	Undetected
HSV-2	Clinical sample	Undetected
CMV	Clinical sample	Undetected
BKV	Clinical sample	Undetected
Flu A	Clinical sample	Undetected
VZV	Clinical sample	Undetected
EBV	Clinical sample	Undetected
HBV	Clinical sample	Undetected
SARS Covid	Clinical sample	Undetected
Parvovirus B19	Clinical sample	Undetected
HIV	Clinical sample	Undetected
Adenovirus	Clinical sample	Undetected

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.
- رعایت نشدن شرایط نگهداری یکی یا بیشتر اجزاء کیت و یا اتمام تاریخ اعتبار کیت

راه حل:

- آزمون را دوبار تکرار کرده، ریجنت ها را ورتکس و سپس اسپین نموده و عمل پیپتینگ را به درستی انجام دهید.
- برنامه دمایی ، پروتکل غلظتی و کانال های اعلام شده در دفترچه را به صورت دقیق در برنامه اعمال نمایید.

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

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 ۹) نماد ها

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

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