



Instruction for Use

Epstein – Barr virus (EBV) PCR Kit

با روش

Real-Time PCR

Cat-No: BONEBV-24



Doc. #: IFU-EBV-00 Doc. Version: 02 Revision Date:1404-02-14

۳.....	شماره رفرانس.....
۳.....	شرح کیت.....
۳.....	اصول.....
۴.....	محتویات کیت.....
۴.....	نگهداری و انتقال کیت.....
۵.....	نکات احتیاط عمومی.....
۷.....	کنترل‌ها.....
۸.....	عوامل تداخلی.....
۹.....	کنترل داخلی.....
۱۰.....	آماده‌سازی.....
۱۱.....	برنامه دمایی.....
۱۵.....	آنالیز نتایج.....
۱۶.....	ارزیابی آنالیتیکال.....
۱۸.....	ارزیابی کلینیکال.....
۱۸.....	پشتیبان فنی.....
۱۹.....	نشانه‌ها.....
۱۹.....	اطلاعات تماس.....

- BONEBV-24

شرح کیت

کیت EBV-PCR Senmurv یک سیستم آماده مصرف برای تشخیص DNA ویروس EBV از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) روی دستگاه‌های Rotor-Gene Q است. مستر EBV حاوی واکنش‌گرها و آنزیم‌های لازم برای تکثیر اختصاصی قطعه‌ای به طول ۹۷ جفت باز از ژنوم EBV بوده و برای تشخیص مستقیم امپلیکون موردنظر از طریق کانال فلورسنت Cycling Green در دستگاه‌های Rotor-Gene3000 و Rotor-Gene6000 طراحی گردیده است.

بعلاوه، کیت EBV-PCR Senmurv حاوی سیستم ثانویه تکثیر هترولوگ برای تشخیص احتمال وجود مهارکننده واکنش PCR است. این امر از طریق شناسایی کنترل داخلی در کانال فلورسنت (Cycling Yellow= HEX) در دستگاه‌های Rotor-Gene3000 و Rotor-Gene6000 صورت می‌پذیرد. آستانه تشخیصی آنالیتیکال کیت EBV-PCR Senmurv در حضور IC کاهش نمی‌یابد.

اصول

تشخیص پاتوژن توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) بر اساس تکثیر مناطق خاص ژنوم پاتوژن است. در واکنش Real-Time PCR محصول تکثیرشده از طریق رنگ‌های فلورسنت شناسایی می‌شوند. مشاهده شدت فلورسنت در حین واکنش PCR (به صورت Real-Time) تشخیص محصولات در حال تکثیر را بدون نیاز به باز کردن مجدد لوله‌های واکنش پس از اجرای PCR ممکن می‌سازد.

اطلاعات پاتوژن

ویروس اِپِستین بار (EBV) یکی از اعضای خانواده Herpesviridae است. این ویروس یک DNA دو رشته‌ای ۱۷۲ کیلو جفت بازی دارد که هم به صورت خطی در ویریون بالغ و هم به شکل دایره‌ای و اپیزومی در سلول‌های آلوده به صورت پنهان وجود دارد. EBV در درجه اول سلول‌های لنفوئیدی از دودمان B را آلوده می‌کند. EBV عامل اتیولوژیک مونونوکلئوز عفونی است. تقریباً همه افراد در

طول زندگی در دوره ای به این ویروس مبتلا می شوند. عفونت های دوران کودکی عمدتاً بدون علامت هستند. EBV با برخی سرطان ها از جمله لنفوم Burkitt's و کارسینوم نازوفارنکس (NPC) مرتبط است. این ویروس همچنین به طور فزاینده ای به عنوان یک عامل ویروسی مهم در گیرندگان پیوند شناخته می شود.

محتویات کیت

Title	24 Tests
	Volume per Vial
Master- EBV	360 µl/tube × 1
PTC- EBV	50 µl/tube × 1

جدول ۱: محتویات کیت

نگهداری و انتقال کیت

- ✓ کلیه محتویات این کیت باید در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و در تاریکی نگهداری گردد، همچنین به منظور انتقال و جابه جایی کیت از یونولیت با درب و یخ خشک استفاده نمایید.
- ✓ نگهداری کیت در دمای ۴ درجه سانتی گراد هیچ گاه نباید بیشتر از یک ساعت شود.
- ✓ این کیت نیاز به حمل بر روی بسته های یخ زده (Frozen Ice Pack) را دارد.
- ✓ همه مواد موجود در کیت تا تاریخ انقضا، همان طور که روی برچسب بسته بندی محصول مشخص شده است، در شرایط مشخص شده پایدار هستند.
- ✓ از چرخه های متعدد ذوب و انجماد (Freeze-Thaw) خودداری کنید زیرا سبب کاهش حساسیت و در نتیجه عدم کارایی کیت می شود.
- ✓ از قرار دادن مستقیم اجزای کیت در معرض نور، گرما یا رطوبت خودداری کنید.
- ✓ معرف ها را قبل از استفاده در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد) ذوب کنید. پس از ذوب شدن مواد موجود در کیت، لوله ها را به طور مختصر سانتریفیوژ کنید تا مطمئن شوید که مواد موجود در کیت به طور یکنواخت مخلوط شده اند.

مواد و تجهیزات مورد نیاز که باید توسط کاربر تدارک دیده شود:

۱. کیت استخراج DNA ویروسی
۲. سمپلر قابل تنظیم در اندازه‌های مختلف و نوک سمپلر فیلتر دار DNase & RNase free
۳. سانتریفوژ رومیزی
۴. بلوک خنک کننده
۵. وایتکس ۱۰ درصد
۶. گان و دستکش
۷. دستگاه Rotor-Gene, MIC یا دستگاه‌های دیگر با ۲ کانال فلورسنت رنگ Green و Yellow و یا انتخاب فلورفورهای Cycling A.FAM و Cycling A.HEX
۸. نرم افزار دستگاه مورد استفاده (برای مثال نرم افزار Rotor-Gene Q نسخه ۱/۷/۹۴ ، نرم افزار Rotor-Gene6000 نسخه ۱/۷/۶۵ ، ۱/۷/۸۷ ، ۱/۷/۹۴ و نرم افزار Rotor-Gene3000 نسخه ۶/۰/۲۳ و یا بالاتر)
۹. استریپ و کپ مناسب دستگاه مورد استفاده

نکات احتیاط عمومی

۱. لطفاً دستورالعمل را با دقت بخوانید و قبل از استفاده محصول با تمام اجزای کیت آشنا شوید و در حین کار دستورالعمل را دقیقاً دنبال کنید.
۲. لطفاً قبل از استفاده، ابزارهای Real-Time PCR سازگار را بررسی کنید و فرآیند را با آن‌ها جلو ببرید.
۳. از کیت یا اجزای کیت پس از تاریخ انقضا استفاده نکنید.
۴. در کیت آزمایش از ماده دیگری استفاده نکنید.
۵. از سرسمپلرهای فیلتر دار و DNase & RNase free استفاده نمایید.
۶. نگهداری و تخلیص مواد مثبت برای EBV و نمونه‌های گرفته شده از مریض و محصولات حاصل از PCR باید در محلی کاملاً جدا از محل نگهداری و آماده سازی Master Mix صورت پذیرد.
۷. همه مواد مورد نیاز کیت قبل از شروع کار باید به طور کامل در دمای اتاق ذوب شود.

۸. بعد از ذوب شدن، کلیه مواد را به خوبی پیپتاژ نمایید و به طور مختصر اسپین کنید. این امر برای جلوگیری از کاهش عملکرد کیت در طی زمان به طور کامل توصیه می شود.
۹. تمام مراحل مربوط به تهیه Master Mix باید بر روی یخ یا جعبه های سرد (Box Cooling) انجام شود. استوک اصلی مربوط به Master Mix بعد از برداشتن مقدار مورد نیاز از آن باید به سرعت به فریزر منتقل شود.
۱۰. هنگام کار با مواد شیمیایی، همیشه روپوش مناسب آزمایشگاهی، دستکش یک بار مصرف و عینک های محافظ داشته باشید.
۱۱. کیت حاوی کنترل مثبت است. برای جلوگیری از آلودگی که ممکن است باعث ایجاد مثبت کاذب شود، کنترل مثبت را از سایر مواد موجود در کیت کاملاً جدا کنید.
۱۲. PCR بسیار حساس به آلودگی متقابل است، پس فرآیند کار را با دقت انجام دهید.
۱۳. هنگام کار با نمونه ها و مواد موجود در کیت، برای جلوگیری از آلودگی، دستکش ها باید مرتباً تعویض شوند.
۱۴. از تیپ های جداگانه و اختصاصی استفاده کنید. هنگام کار با نمونه ها و مواد موجود در کیت از میکروتیپ های فیلتر دار برای جلوگیری از ورود آلودگی DNA و RNA استفاده کنید.
۱۵. لطفاً لوله های PCR را با دو دستکش یک بار مصرف بسته بندی کرده و به درستی دور بیندازید. لوله های PCR را پس از امپلی فای باز نکنید.
۱۶. از مواد یک بار مصرف، بیش از یک بار استفاده نکنید.
۱۷. مواد موجود در کیت که بلا استفاده هستند، کیت استفاده شده و زباله ها باید به درستی دور انداخته شوند.
۱۸. پس از آزمایش، محل کار را پاک کنید، پیپت ها و تجهیزات را با اتانول ۷۵٪ و وایتکس ۱۰٪ اسپری کنید.

هشدارها و محدودیت‌ها

۱. تمامی مراحل آزمایش باید بر اساس اصول GLP^۱ توسط پرسنل آموزش دیده دارای پوشش حرفه‌ای و محافظ^۲ (PPE) انجام شود. آزمایش‌های بالینی بر نمونه‌های عفونی باید در هود کلاس دو (Class II Biological Safety Cabinet) در محیط BSL-2 انجام شود.
۲. پیشنهاد می‌شود هود و یا استیشن مورد استفاده قبل و بعد از کار با وایتکس ۱۰ درصد تمیز شود و همین‌طور بعد از کار لامپ UV زده شود.
۳. پیشنهاد می‌شود ۳ مکان مجزا برای استخراج DNA، آماده‌سازی مخلوط واکنش و اضافه کردن نمونه و نمونه استاندارد در نظر گرفته شود تا از ایجاد نتایج مثبت کاذب جلوگیری شود.
۴. پس از آماده‌سازی مخلوط واکنش، آن را در تاریکی نگهداری نمایید.

کنترل‌ها

۱. نمونه بیمار: از محتویات اسید نوکلئیک DNA حاصل از استخراج نمونه استفاده شود.
۲. کنترل منفی (NTC): همواره یک نمونه کنترل منفی حاوی آب بجای نمونه استفاده شود.
۳. کنترل مثبت (PTC): از کنترل مثبت کیت به جای نمونه در یک واکنش استفاده شود.

نمونه‌گیری و نگهداری نمونه‌های گرفته‌شده

۱. به منظور تشخیص ویروس EBV می‌توان نمونه‌های متفاوتی از جمله پلاسما، سرم، مایع مغزی نخاعی و غیره را مورد استفاده قرار داد، اما معمول‌ترین نمونه مورد استفاده نمونه پلاسما می‌باشد.
۲. نمونه خون گرفته شده باید در اسرع وقت (کمتر از شش ساعت از زمان نمونه‌گیری) پلاسماگیری شود. برای این منظور نمونه خون را به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۶۰۰g-۸۰۰ سانتریفوژ کنید و پلاسمای جدا شده را به تیپ پلی پروپیلن استریل منتقل کنید. حساسیت تست در صورت منجمد کردن نمونه خون کاهش خواهد یافت به همین دلیل تا جای ممکن از این امر باید پرهیز گردد. هرچند پلاسمای جدا شده را می‌توان بدون آسیب به ژنوم ویروس برای روزها در ۴ درجه سانتی‌گراد، هفته‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد و ماه‌ها و حتی سال‌ها در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد.

¹ Good Laboratory Practice

² Personal Protective Equipment

۳. نتایج منفی کاذب می‌توانند به دلیل حضور افزایش غلظت مهارکننده‌های واکنش PCR، نمونه‌گیری نامناسب، استخراج DNA غیراستاندارد، انتقال نامناسب نمونه باشد و یا از غلظت کم نمونه ناشی گردد.

۴. اگرچه هپارین یکی از پرکاربردترین مواد ضد انعقاد می‌باشد به‌هیچ‌عنوان نباید برای نمونه‌های خونی که برای آنالیز توسط این کیت مورد استفاده قرار می‌گیرد به کار رود.

۵. اگر احتمال تأخیر در استخراج نمونه‌ها وجود دارد، آن‌ها را در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر نگهداری نمایید.

۶. نوکلئیک اسیدهای استخراج شده باید در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر نگهداری شوند.

۷. نمونه‌هایی که ۴ روز یا بیشتر در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده یا در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر فریز نشده‌اند، قابل استفاده برای آزمایش نمی‌باشد.

• ایمنی زیستی در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و زیست-پزشکی چاپ پنجم را مطالعه فرمایید.

<http://www.cdc.gov/biosafety/publications>

تاریخ انقضای کیت

تاریخ انقضای کیت بر روی جعبه محصول درج شده است.

عوامل تداخلی

حضور EDTA (0.5M)، HCl (1N)، دانه‌های سیلیس (1μl)، خون (1μl)، اوره (۴۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) و بافر لیز موجب مهار واکنش PCR می‌شود. وجود مهارکننده در واکنش با ژن کنترل داخلی قابل‌ردیابی است.

خالص سازی نوکلئیک اسید

جداسازی اسیدنوکلئیک باید توسط کیت‌های جداسازی و استخراج DNA موجود در بازار مطابق پروتکل‌های جداسازی مواد بالینی خاص انجام شود. کیت استخراج DNA در این کیت گنجانده نشده است. نمونه‌ها باید با کیسه یخ زیر صفر درجه سانتی‌گراد منتقل شده و استخراج شوند تا بلافاصله DNA به دست آید. اگر DNA استخراج‌شده بلافاصله مورد استفاده قرار نگیرد، باید دردمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شود.

کنترل داخلی

کیت حاضر، واجد کنترل داخلی درون‌زاد (Endogen) می‌باشد. این امر به کاربر نهایی اجازه می‌دهد تا هم فرایند تخلیص را چک کند و هم احتمال وجود مواد مهارکننده PCR را بررسی نماید. کنترل داخلی باید در کانال زرد در CT بین ۲۴ تا ۲۸ برای Gene-Rotor شناسایی شود.

آماده سازی

۱. ابتدا لوله ها را روی رک یخ بگذارید تا محتویات آن ها ذوب شوند و محتویات لوله ها را به آرامی پیپتاژ و یا ورتکس کنید و به طور مختصر سانتریفیوژ کنید.
۲. مقدار ۱۵ میکرو لیتر از Master-EBV را به لوله های PCR اضافه کنید.
۳. پس از انتقال مستر میکس ها به تیوب های واکنش، ابتدا نمونه کنترل منفی (NTC) را آماده کنید. برای این کار، ۱۰ میکرو لیتر از آب بدون نوکلئاز را به تیوب کنترل منفی اضافه نمایید و درب آن را ببندید. سپس لوله ها را به منطقه کار با اسید نوکلئیک انتقال دهید، ۱۰ میکرو لیتر از کنترل مثبت و ۱۰ میکرو لیتر از نمونه های بیمار را به تیوب های مربوطه اضافه نمایید. در حین تهیه PCR لازم است همه اجزا در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شوند (جدول ۲).

Reaction Setup	Volume
Master Mix	15 μ l
Sample or Control	10 μ l
Total Volume	25 μ l

جدول ۲. مقادیر مورد استفاده در هر واکنش

۴. لوله ها را ببندید، مختصراً سانتریفیوژ کنید، آن ها را داخل دستگاه قرار دهید و اجازه دهید مطابق مشخصات برنامه قید شده در جدول شماره ۳ تکثیر شوند. هنگام استفاده از کنترل مثبت یا مواد بالینی بسیار مراقب باشید.
- نکته: در هر بار انجام تست یک لوله به عنوان No Template Control باید گذاشته شود. در NTC به جای نمونه استخراج شده از آب استفاده می شود که برای کنترل آلودگی واکنش کاربرد دارد.
- بهتر است از فضاهای جداگانه برای اضافه کردن مستر واکنش و نمونه های بیمار استفاده کرد و همچنین در نظر داشته باشید که در ویال کنترل مثبت را تنها در محل آماده سازی نمونه و فضای آلوده بازنمایید.

برنامه دمایی

دستورالعمل برای دستگاه‌های MIC و Rotor-Gene توصیف شده است. دیگر دستگاه‌های Real-Time PCR دارای کانال‌های Green (FAM) و Yellow (HEXO) نیز مناسب برای استفاده از این کیت هستند. به منظور انجام تست باید برنامه دمایی جدول ۳ برای دستگاه تعریف شود. سنجش طیف نشری (Acquisition) باید هم در کانال سبز (مربوط به سیگنال دریافتی از ژنوم EBV) و هم در کانال زرد (مربوط به سیگنال دریافتی از کنترل داخلی) انجام شود. پس از تنظیم دستگاه، واکنش را راه‌اندازی کنید. برای آگاهی از نحوه تعریف کانال در دستگاه Rotor Gene به کاتالوگ دستگاه مراجعه کنید. مقادیر دمایی هر قسمت در جدول ۳ آورده شده است.

	Temperature	Hold	Cycle
Pre-Denaturation	95 °C	4 min	1
Denaturation	95 °C	15 sec	45
Annealing and Acquisition on Channel Green (FAM) and Yellow (HEX)	58°C	60 sec	

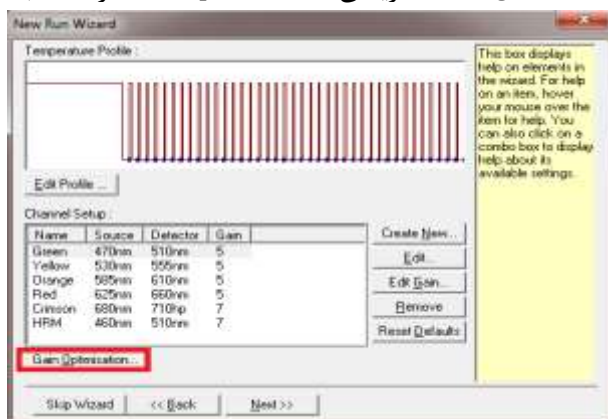
جدول ۳. برنامه دمایی

علاوه بر تعریف دمایی دستگاه که در قسمت بالا آمده است دستگاه باید برای طیف سنجش فلورسنت نیز تنظیم گردد.

تعریف طیف سنجی فلورسنت در دستگاه‌ها

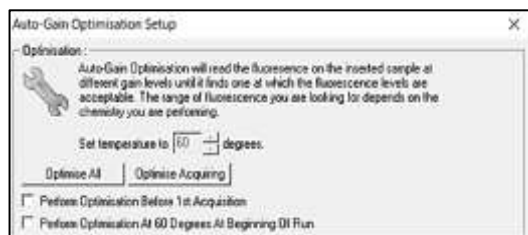
دستگاه Rotor-Gene

بدین منظور در دستگاه Rotor-gene گزینه‌ی Gain Optimization را انتخاب کنید (شکل ۱).



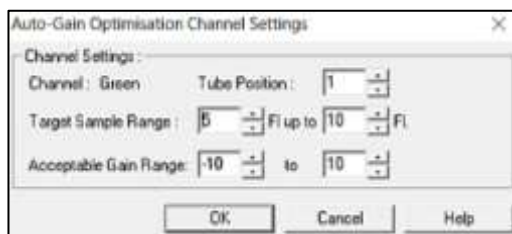
شکل ۱. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Gain Optimization

در این صفحه با انتخاب گزینه‌ی Optimize Acquiring برای هر ۲ کانال سبز و زرد بازه‌ی Target sample range از ۵ تا ۱۰ (حالت پیش فرض دستگاه) انتخاب شود (شکل ۲).



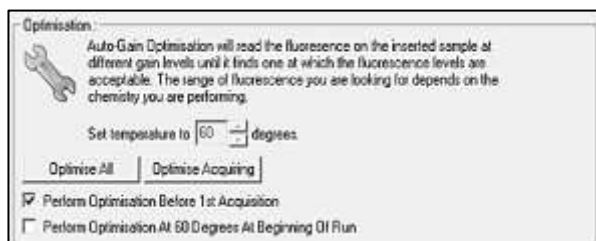
شکل ۲. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

همچنین Gain دستگاه باید بر مبنای تیوب اول که حاوی MasterMix به همراه کنترل مثبت (PTC) است، انجام شود (شکل ۳).



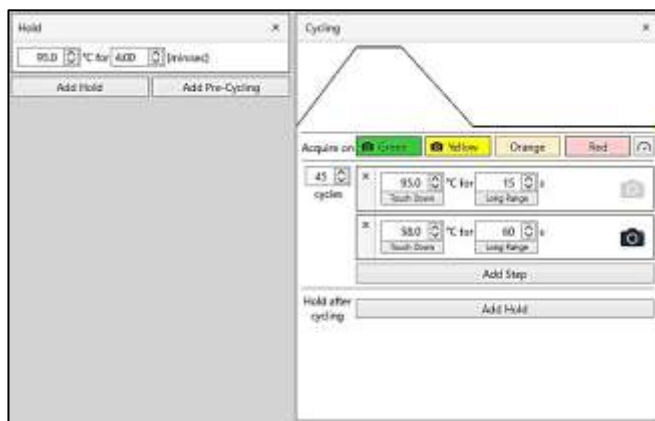
شکل ۳. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

پس از انتخاب بازه‌ی مناسب برای هر کانال، گزینه‌ی 1st Perform Optimization Before Acquisition را انتخاب کرده، و پنجره را ببندید (شکل ۴).



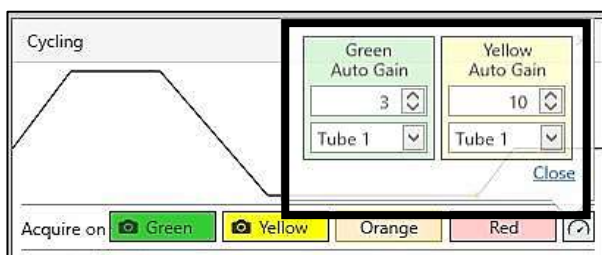
شکل ۴. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

بدین منظور در دستگاه MIC با انتخاب گزینه‌ی Run Profile پروفایل دمایی کیت را وارد کرده و در بخش cycling سنجش فلورسنت را در هر ۲ کانال سبز و زرد فعال کنید (شکل ۵).



شکل ۵. تنظیمات دستگاه MIC

همچنین Gain دستگاه باید بر مبنای تیوب اول که حاوی MasterMix به همراه کنترل مثبت (PTC) کیت است، انجام شود (شکل ۶).



شکل ۶. تنظیمات Gain دستگاه MIC

آنالیز نتایج

۱. آنالیز نتایج توسط نرم افزار مربوطه و بر اساس دستورالعمل دستگاه انجام شود. در ۲ کانال رنگی Green و Yellow و با انتخاب فلورفورهای FAM و HEX پس از قرار دادن درصد حذف داده های پرت روی ۵٪، ترشلد یا آستانه را در بازه ی 0.02 قرار دهید.

۲. برای تفسیر نتایج، مطابق جدول تفسیر نتایج (جدول ۴) که در ادامه آورده شده است، عمل نمایید:

۱- سیگنال فلورسانس در کانال (Green= FAM) کاملاً مشخص است: نتیجه تست مثبت است و نمونه تخلیص شده از پلاسما حاوی ویروس EBV می باشد. در این حالت، وجود سیگنال فلورسانس در کانال (Yellow=HEX) اهمیت ندارد، زیرا در صورت بالا بودن غلظت اولیه ژنوم ویروس سیگنال در کانال (Yellow=HEX) می تواند بسیار ضعیف باشد یا اصلاً وجود نداشته باشد.

۲- هیچ سیگنال فلورسانسی در کانال (Green= FAM) مشاهده نمی شود: در همین حین سیگنال در کانال (Yellow=HEX) مربوط به کنترل داخلی قابل مشاهده است. این حالت نشان دهنده عدم وجود ویروس در نمونه پلاسما می باشد. همچنین مثبت بودن سیگنال حاصل از کانال Yellow وجود هرگونه مهارکننده واکنش PCR را منتفی می کند.

۳- هیچ سیگنال فلورسانسی در کانال (Green= FAM) و کانال (Yellow=HEX) قابل مشاهده نیست. در این حالت هیچ گونه نتیجه گیری در مورد تست نمی توان انجام داد. تست باید دوباره تکرار شود.

Green-FAM (EBV)	Yellow-HEX (IC)	Result
+	+/-	EBV - Positive
-	+	EBV - Negative
-	-	Invalid

جدول ۴. تفسیر نتایج

ارزیابی آنالیتیکال

اختصاصیت آنالیتیکال

اختصاصیت کیت Senmurv EBV-PCR در وهله اول با انتخاب پرایمرها و پروب ها و همچنین انتخاب شرایط واکنش دقیق مورد تأیید قرار می گیرد. با استفاده از آنالیز مقایسه‌ای توالی‌ها، پرایمرها و پروب‌ها از منظر هومولوژی‌های احتمالی با تمامی توالی‌های ثبت شده در بانک‌های ژنی بررسی شدند. قابلیت تشخیصی (Detectability) تمامی ژنوتیپ‌های مرتبط از طریق همتراسازی توالی‌ها و همین‌طور توسط واکنش PCR بر روی دستگاه‌های Rotor-Gene بر روی ژنوتیپ‌های زیر مورد تأیید قرار گرفت.

Control group	EBV (Green or A.FAM)	Internal control (Yellow or A.HEX)
Human herpesvirus 1 (herpes simplex virus 1)	—	+
Human herpesvirus 2 (herpes simplex virus 2)	—	+
Human herpesvirus 3 (varicella-zoster virus)	—	+
Human herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	—	+
Human T cell leukemia virus 1	—	+
Human T cell leukemia virus 2	—	+

جدول ۵. ارزیابی اختصاصیت آنالیتیکال

بعلاوه، اختصاصیت کیت از طریق ۱۰۰ نمونه مختلف پلاسمایی EBV منفی تأیید شد. این نمونه‌ها هیچ سیگنالی از طریق پرایمرها و پروب‌های مستر میکس کیت ایجاد نکردند.

واکنش‌دهی متقابل (cross-reactivity) کیت SENMURV Senmurv EBV-PCR با استفاده از گروه‌های کنترل موردبررسی قرار گرفت. هیچ یک از پاتوژن‌های تست شده واکنش دهی (reactivity) نشان ندادند. هیچ گونه واکنش دهی متقابل در عفونت‌های مختلط ظاهر نشد.

حساسیت آنالیتیکال (پایین‌ترین حد تشخیص)

محدوده تشخیص آنالیتیکال و همچنین محدوده تشخیص آنالیتیکال با در نظر گرفتن استخراج (محدودیت‌های تشخیصی) برای کیت مورد ارزیابی قرار گرفت. محدوده تشخیص آنالیتیکال با استفاده از نمونه‌های بالینی مثبت برای EBV در کنار یک روش استخراج خاص تعیین می‌شود. در مقابل، محدوده تشخیص آنالیتیکال بدون استفاده از نمونه بالینی و مستقل از روش استخراج موردنظر، با استفاده از استانداردهایی با غلظت‌های معلوم تعیین می‌گردد.

برای تعیین حساسیت آنالیتیکال کیت، یک سری رقت ویروس EBV از $50 \text{ IU}/\mu\text{l}$ تا $0.05 \text{ IU}/\mu\text{l}$ ایجاد گردید و با استفاده از کیت Senmurv EBV qPCR و با دستگاه‌های Rotor-Gene مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در سه روز و در هشت تکرار صورت پذیرفت و نتایج از طریق آنالیز تعیین شدند. محدوده تشخیص آنالیتیکال کیت به همراه دستگاه Rotor-Gene 6000، به میزان $0.45 \text{ IU}/\mu\text{l}$ برآورد شد ($p = 0.05$). این بدین معناست که پارتیکل ویروسی با رقت $0.45 \text{ IU}/\mu\text{l}$ به احتمال ۹۵٪ قابل تشخیص هستند.

تبادل و هم‌ارزی بین دو دستگاه Rotor-Gene 3000 و Rotor-Gene 6000 بر اساس مشخصات فنی تأییدشده با مقایسه عملکرد آنالیتیکال نشان داده شده است. آنالیزهای هر دو دستگاه به‌طور موازی صورت گرفت. محدوده تشخیص آنالیتیکال در دستگاه Rotor-Gene 6000 در بازه اطمینان دستگاه Rotor-Gene 3000 قرار می‌گیرد. بنابراین، کیت تولیدشده می‌تواند برای تشخیص DNA ویروس HBV در دستگاه Rotor-Gene 6000 با حساسیت برابر مورد استفاده قرار بگیرد. حساسیت آنالیتیکال با در نظر گرفتن استخراج (QIAamp® DSP Virus Kit) برای کیت Senmurv EBV-qPCR از طریق استفاده از یک سری رقت سازی از اولین استاندارد بین‌المللی EBV (WHO) انجام گردید. با استفاده از کیت QIAamp® DSP Virus Kit با حجم استخراج 0.5 mL میلی‌لیتر و با حجم elution ۶۰ میکرو لیتر، DNA این نمونه‌ها استخراج گردید. هر یک از رقت‌ها با کیت Senmurv EBV qPCR در ۲۰ تکرار آنالیز شد. نتایج با تجزیه و تحلیل پروبیت تعیین شد. حد تشخیص آنالیتیکال با در نظر گرفتن خالص‌سازی، در دستگاه Rotor-Gene Q حدود $100 \text{ IU}/\text{mL}$ می‌باشد. ($p = 0.05$). این به این معنی است که به احتمال ۹۵ درصد $100 \text{ IU}/\text{mL}$ تشخیص داده می‌شود.

دقت (Precision)

داده‌ی دقت کیت تعیین واریانس کل آزمایش را ممکن می‌سازد. واریانس کلی شامل تنوع درون-آزمایشی (تنوع در نتایج متعدد نمونه‌ها با غلظت یکسان و در یک آزمایش)، تنوع بین-آزمایشی (تنوع در نتایج متعدد حاصل آزمایش‌های مشتق از دستگاه‌های متفاوت و یا دستگاه یکسان اما توسط اپراتورهای مختلف آزمایشگاه)، و تنوع بین-بچ (inter-batch) تنوع در نتایج متعدد حاصل از استفاده از batchهای مختلف است. داده‌های به‌دست‌آمده برای تعیین انحراف استاندارد، واریانس و ضریب تغییرات PCRهای مختص پاتوژن و همین‌طور کنترل داخلی بکار گرفته شدند.

داده‌ی دقت کیت با استفاده از استانداردهای معلوم العیار مشخص گردید. این آزمایش در ۲۰ روز، هرروز ۲ ران انجام شد و داده دقت بر اساس لگاریتم مقادیر به‌دست‌آمده تعیین شد. حد پایینی تشخیص برای کیت در حدود 300 IU/ml می‌باشد.

ارزیابی کلینیکال

حساسیت و اختصاصیت کلینیکال

در قیاس با نتایج مستخرج از کیت Altona EBV qPCR به‌عنوان روش مرجع، حساسیت تشخیصی و اختصاصیت تشخیصی کیت SENMURV Senmurv EBV-PCR به ترتیب ۹۸٪ و ۱۰۰٪ برای تمامی نمونه‌ها به دست آمد.

پشتیبان فنی

جهت ارتباط با پشتیبانی فنی با شماره‌های زیر تماس حاصل فرمایید.

✓ ۰۹۹۰۳۶۶۹۳۹۴۱ (قره داغی)

✓ ۰۲۱۲۲۰۸۲۱۲۰

	Research Use Only	برای مصارف پژوهشی
	Catalog Number	کد کالا
	Batch Number	شماره بچ تولید شده
	Temperature Limitation	محدودیت دمایی
	Consult Instruction for Use	مطالعه دستورالعمل
	Content sufficient for <n> test	تعداد تست
	Use by	تاریخ انقضا
	Manufacturer	آدرس

اطلاعات تماس

شرکت فناوری بن یاخته- گروه سین موو

دفتر مرکزی: تهران، سعادت آباد، میدان فرهنگ، بلوار ۲۴ متری سعادت
آباد، خیابان حیدر نیا (دوم شرقی)، پلاک ۹، شرکت فناوری بن یاخته

کد پستی: ۱۹۹۷۷۷۵۵۵۵ تلفن تماس: ۰۲۱۲۲۰۸۲۱۲۰

Web Site: www.Senmurv.co

Email: info@senmurv.ir