



HHV8 (Human Herpes Virus 8) Detection RT-PCR Kit

با روش

Real-Time PCR

Cat-No: BONHHV8-24



Doc. #: IFU-HHV8-01 Doc. Version: 02 Revision Date: 1403-10-04

Version 02

۳	شماره رفرانس
۳	شرح کیت
۳	اصول
۳	دامنه کاربرد
۴	محتویات کیت
۴	نگهداری و انتقال کیت
۵	نکات احتیاط عمومی
۶	هشدارها و محدودیت‌ها
۸	عوامل تداخلی
۱۰	برنامه‌ریزی دمایی
۱۱	تعریف طیف سنجش فلورسنت در دستگاه‌ها
۱۴	آنالیز نتایج
۱۴	جدول تفسیر نتایج
۱۴	نکات آنالیز نتایج در دستگاه‌های مختلف
۱۶	ارزیابی آنالیتیکال
۱۸	ارزیابی کلینیکال
۱۸	رفع مشکل
۲۰	پشتیبان فنی
۲۱	اطلاعات تماس

- BONHHV8-24

شرح کیت

این کیت بر اساس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به صورت Real-Time ساخته شده است. پنل تشخیص HHV8 سین‌مورو شامل یک لوله با قابلیت شناسایی پاتوژن Human Herpes Virus 8 است این لوله حاوی کنترل داخلی است که امکان بررسی صحت انجام تست را در مراحل PCR میسر می‌سازد. نتایج تشخیصی به دست آمده توسط این محصول باید همراه با سایر داده‌های بالینی یا آزمایشگاهی تفسیر شوند.

اصول

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

دامنه کاربرد

کیت ریل تایم Human Herpes Virus 8 برای شناسایی و تمایز ویژه ویروس هرپس انسانی ۸ در نمونه‌های بالینی بیماران با علائم و نشانه‌های ویروس هرپس انسانی ۸ کاربرد دارد.

اطلاعات پاتوژن

ویروس هرپس انسانی ۸ (HHV-8) که به آن ویروس هرپس سارکوم کاپوزی (KSHV) نیز می‌گویند، متعلق به خانواده ویروس‌های DNA Herpesviridae است. این ویروس باعث ایجاد بیماری سارکوم کاپوزی (یک بدخیمی عروقی) و بیماری‌های لنفوپرولیفراتیو سلول B مانند لنفوم افیوژن اولیه (PEL)

و بیماری کاستلمن چندمرکزی (MCD) می‌شود. احتمال بدخیمی‌های مرتبط با HHV-8 در میان افراد مبتلا به HIV به‌طور قابل‌توجهی بیشتر است.

محتویات کیت

Title	24 Tests
	Volume per Vial
MasterMix-HHV8	360 µl/tube × 1
Internal Control	300 µl/tube × 1
Positive Control	50 µl/tube × 1

جدول ۱: محتویات کیت

نگهداری و انتقال کیت

- ✓ کلیه محتویات این کیت باید در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری گردد، همچنین به‌منظور انتقال و جابه‌جایی کیت از یونولیت با درب و یخ خشک استفاده نمایید.
- ✓ نگهداری کیت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هیچ‌گاه نباید بیشتر از یک ساعت شود.
- ✓ این کیت نیاز به حمل بر روی بسته‌های یخ‌زده (Frozen Ice Pack) را دارد.
- ✓ همه مواد موجود در کیت تا تاریخ انقضا، همان‌طور که روی برچسب بسته‌بندی محصول مشخص شده است، در شرایط مشخص شده پایدار هستند.
- ✓ از چرخه‌های متعدد ذوب و انجماد (Freeze-Thaw) خودداری کنید زیرا سبب کاهش حساسیت و در نتیجه عدم کارایی کیت می‌شود.
- ✓ از قرار دادن مستقیم اجزای کیت در معرض نور، گرما یا رطوبت خودداری کنید.
- ✓ معرف‌ها را قبل از استفاده در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) ذوب کنید. پس از ذوب شدن مواد موجود در کیت، لوله‌ها را به‌طور مختصر سانتریفیوژ کنید تا مطمئن شوید که مواد موجود در کیت به‌طور یکنواخت مخلوط شده‌اند.

مواد و تجهیزات موردنیاز که باید توسط کاربر تدارک دیده شود:

۱. کیت استخراج DNA
۲. سمپلر قابل تنظیم در اندازه‌های مختلف و نوک سمپلر فیلتر دار
۳. سانتریفوژ رومیزی
۴. بلوک خنک‌کننده
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 FAM و HEX
۸. نرم‌افزار دستگاه مورد استفاده (برای مثال نرم‌افزار Rotor-Gene Q نسخه ۱,۷,۹۴ ، نرم‌افزار Rotor- Gene۶۰۰۰ نسخه ۱,۷,۶۵ , ۱,۷,۸۷ , ۱,۷,۹۴ و نرم‌افزار Rotor- Gene۳۰۰۰ 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 فیلتردار و RNase & DNase free استفاده نمایید.
۶. نگهداری و تخلیص مواد مثبت برای HHV8 و نمونه‌های گرفته‌شده از مریض و محصولات حاصل از PCR باید در محلی کاملاً جدا از محل نگهداری و آماده‌سازی Master Mix صورت پذیرد.
۷. همه مواد موردنیاز کیت قبل از شروع کار باید به‌طور کامل در دمای اتاق ذوب شود.
۸. بعد از ذوب شدن، کلیه مواد را به‌خوبی پیپتاژ نمایید و به‌طور مختصر اسپین کنید. این امر برای جلوگیری از کاهش عملکرد کیت در طی زمان به‌طور کامل توصیه می‌شود.

۹. تمام مراحل مربوط به تهیه Master Mix باید بر روی یخ یا جعبه‌های سرد (Box Cooling) انجام شود. استوک اصلی مربوط به Master Mix بعد از برداشتن مقدار موردنیاز از آن باید به سرعت به فریزر منتقل شود.
۱۰. هنگام کار با مواد شیمیایی، همیشه روپوش مناسب آزمایشگاهی، دستکش یک‌بارمصرف و عینک‌های 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 نمونه‌ها و مواد موجود در کیت، برای جلوگیری از آلودگی، دستکش‌ها باید مرتباً تعویض شوند.
۱۴. از تیپ‌های جداگانه و اختصاصی استفاده کنید. هنگام کار با نمونه‌ها و مواد موجود در کیت از میکرو تیپ‌های فیلتر دار برای جلوگیری از ورود آلودگی DNA استفاده کنید.
۱۵. لطفاً لوله‌های PCR را با دو دستکش یک‌بارمصرف بسته‌بندی کرده و به درستی دور بیندازید. لوله‌های PCR را پس از امپلی فای باز نکنید.
۱۶. از مواد یک‌بارمصرف، بیش از یک‌بار استفاده نکنید.
۱۷. مواد موجود در کیت که بلااستفاده هستند، کیت استفاده شده و زباله‌ها باید به درستی دور انداخته شوند.
۱۸. پس از آزمایش، محل کار را پاک کنید، پیت‌ها 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 کارکنان 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.

^۱ Good Laboratory Practice

^۲ Personal Protective Equipment

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. برای تشخیص عفونت HHV8 می‌توان از نمونه‌ی خون، پلاسما و یا از CSF استفاده کرد.
۲. 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.
۳. اگر احتمال تأخیر در استخراج نمونه‌ها وجود دارد، آن‌ها را در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر نگهداری نمایید.
۴. نوکلئیک اسیدهای استخراج‌شده باید در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد یا پایین‌تر نگهداری شوند.
۵. 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.

خالص‌سازی 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 (Internal Control)

کیت حاضر، واجد کنترل داخلی اندوژن (Endogen) می‌باشد. این امر به کاربر نهایی اجازه می‌دهد تا هم فرآیند تخلیص را چک کند و هم احتمال وجود مواد مهارکننده PCR را بررسی نماید. به‌طور کل در این حالت کنترل داخلی موجود در کیت را به مقدار ۰,۲ میکرو لیتر به ازاء هر ۱ میکرو لیتر از حجم الوشن بافر افزوده‌شده در مرحله پایانی استخراج نمونه، اضافه نمایید. برای مثال اگر ژنوم تخلیص شده را در ۵۰ میکرو لیتر آب یا الوشن بافر حل می‌کنیم باید در هنگام تخلیص پلاسمای مربوط به آن به پلاسمای ۱۰ میکرو لیتر کنترل داخلی اضافه نماییم. به‌بیان‌دیگر حجم کنترل اضافه‌شده تنها تابعی از میزان الوشن (Elution) نهایی می‌باشد. این کنترل داخلی را می‌توان به مخلوط بافر لیز و پلاسمای اضافه نمود. این نکته قابل‌ذکر است که اضافه کردن کنترل داخلی به مخلوط بافر لیز و پلاسمای باید به‌صورت تازه صورت گیرد. همچنین کنترل داخلی به‌هیچ‌عنوان نباید به خود نمونه به‌صورت مستقیم و در غیاب بافر لیز اضافه شود. همچنین می‌توان کنترل داخلی را تنها در طی مرحله PCR

اضافه کرد که در این حال هیچ گونه کنترلی بر روی مرحله تخلیص وجود نخواهد داشت. در این حالت ۱ میکرولیتر کنترل داخلی به ۱۵ میکرو لیتر MasterMix-HHV8 اضافه شده و سپس از این مخلوط مقدار ۱۵ میکرو لیتر با ۵ میکرو لیتر از نمونه تخلیص شده مخلوط می گردد.

آماده سازی

آماده سازی با دو روش صورت می گیرد :

۱. در صورتی که کنترل داخلی (IC) را در مرحله استخراج و طی مراحل آماده سازی اضافه کرده اید، به ازای هر نمونه مقدار ۱۵ μl از MasterMix-HHV8 را برای هر تست در نظر بگیرید.
۲. اگر IC را در مرحله استخراج اضافه نکردید و می خواهید در مرحله PCR به عنوان کنترل کننده مهار Realtime-PCR استفاده کنید، Master Mix را مطابق توضیح تهیه نمایید:
ابتدا ۱ میکرو لیتر از کنترل داخلی را به MasterMix-HHV8 مطابق جدول زیر اضافه کنید و سپس از این مخلوط ۱۵ میکرو لیتر به ازای هر واکنش استفاده نمایید (جدول ۲).

Number of Reactions (rxns)	Volume
MasterMix-HHV8	15 μl
Internal Control	1 μl
Final Volume	15 μl

جدول ۲: آماده سازی میکس با احتساب کنترل داخلی

نکته: لازم به ذکر است که در هر بار انجام تست یک لوله به عنوان No Template Control (NTC) باید گذاشته شود. بر اساس جدول فوق در NTC به جای نمونه استخراج شده آب استفاده می شود. تیوب NTC برای کنترل آلودگی واکنش کاربرد دارد.

اضافه کردن الگو

پس از آماده‌سازی محلول‌ها و انتقال آن به تیوب‌های واکنش، ابتدا نمونه کنترل منفی (NTC) را آماده کنید. برای این کار، ۵ میکرو لیتر از آب بدون نوکلئاز را به تیوب کنترل منفی اضافه نمایید. پس از انتقال به منطقه کار با اسیدنوکلیک، ۵ میکرو لیتر از نمونه کنترل مثبت و ۵ میکرو لیتر از نمونه‌های بیمار را به تیوب‌های مربوطه اضافه نمایید. سپس تیوب‌ها را در دستگاه ترمال سایکلر قرار داده و نمونه‌ها را نام‌گذاری کنید (جدول ۳).

Reaction Setup	Volume
MasterMix-HHV8	15 µl
Sample or Control	5 µl
Total Volume	20 µl

جدول ۳: الگوی افزودن نمونه

برنامه‌ریزی دمایی

دستورالعمل برای دستگاه‌های MIC و Rotor-Gene توصیف شده است. دیگر دستگاه‌های Real-Time PCR دارای کانال‌های Green (FAM) و Yellow (HEX) نیز مناسب برای استفاده از این کیت هستند. پس از تنظیم کردن دستگاه مطابق برنامه زیر، واکنش را راه‌اندازی کنید. برای آگاهی از نحوه تعریف کانال در دستگاه به کاتالوگ دستگاه مراجعه کنید. مقادیر دمایی هر قسمت در جدول ۴ آورده شده است.

	Temperature	Hold	Cycle
Pre-Denaturation	95 °C	4 min	1
Denaturation	95 °C	15 sec	40
Annealing and Acquisition on Channel Green (FAM) , and Yellow (HEX)	60°C	30 sec	

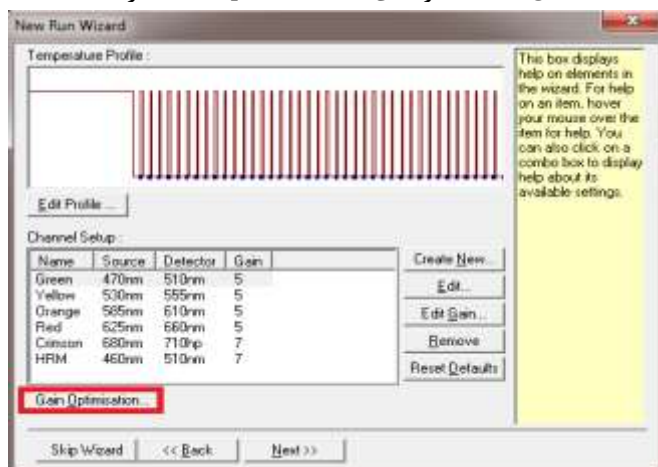
جدول ۴: برنامه دمایی کیت HHV8

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).



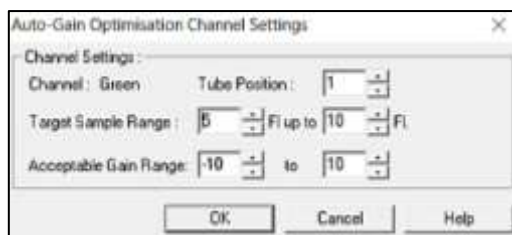
شکل ۱. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Gain Optimization

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).



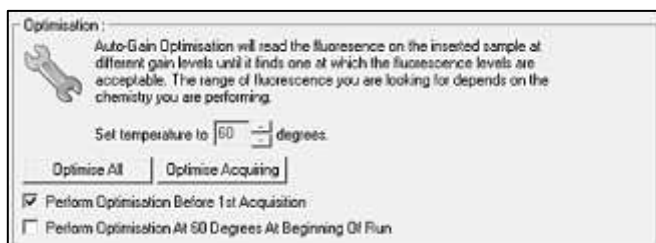
شکل ۲. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene برای Auto Gain Optimization

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



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

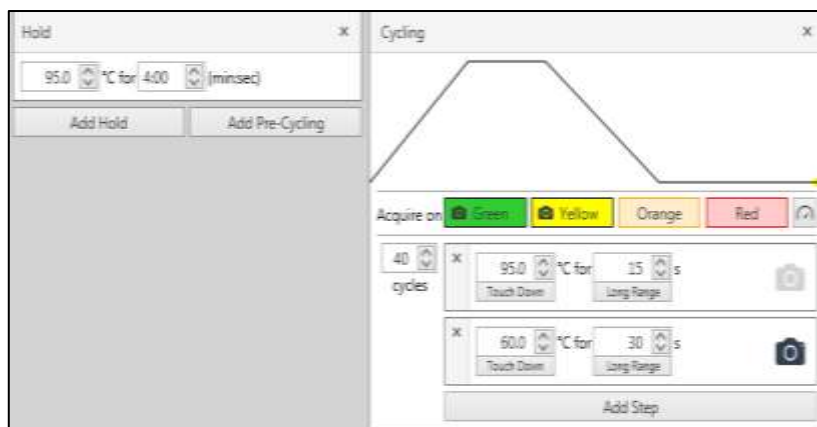
پس از انتخاب بازه‌ی مناسب برای هر کانال، گزینه‌ی Perform Optimization Before 1st Acquisition را انتخاب کرده، و پنجره را ببندید (شکل ۴).



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

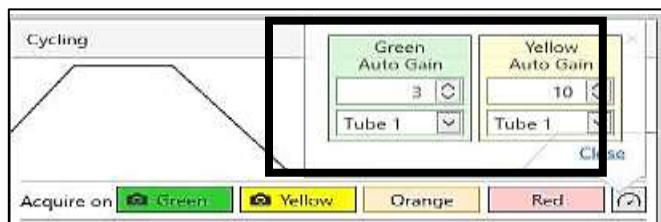
دستگاه MIC

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) و کنترل داخلی (IC) 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 مناسب قرار دهید.

۲. برای تفسیر نتایج، مطابق جدول تفسیر نتایج (جدول ۵) که در ادامه آورده شده است، عمل نمایید.

جدول تفسیر نتایج

	Green (FAM)	Yellow (HEX)	Result
MasterMix- HHV8	+	+	Positive
	+	-	Positive
	-	+	Negative
	-	-	Uninterpretable*

جدول ۵. تفسیر نتایج

*در صورت مثبت بودن Positive control و منفی بودن کنترل داخلی کیفیت نمونه و استخراج را بررسی کنید.

نکات آنالیز نتایج در دستگاه های مختلف

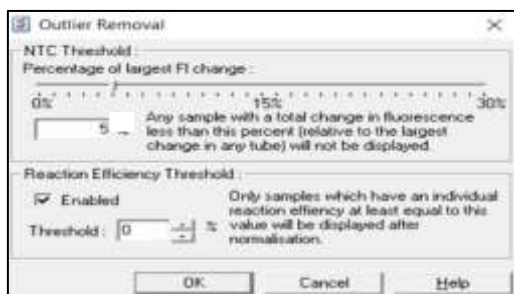
دستگاه Rotor-Gene

آنالیز اطلاعات در دستگاه Corbett 6000,3000 و Rotor-gene Q باید توسط نرم افزار دستگاه و بر اساس دستورالعمل دستگاه صورت گیرد.

۱. از منوی Analysis, Quantitation را انتخاب کرده و روی یکرنگ، به‌طور مثال Green، دو بار کلیک کنید.

۲. با کلیک بر گزینه‌ی Outlier Removal، ترشد افیشنسی واکنش را به شکل زیر فعال کنید (شکل ۵).

۳. آستانه (Threshold) را در کانال‌های Green، Yellow بر روی بازه‌ی مناسب (۰,۰۲) و بالاتر از فلورسانس نمونه‌ی منفی قرار دهید.



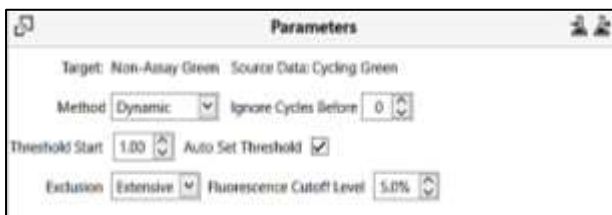
شکل ۷. تنظیمات دستگاه Rotor-Gene

دستگاه MIC PCR

آنالیز اطلاعات در دستگاه Magnetic Induction Cycler (Mic) PCR توسط نرم‌افزار دستگاه و بر اساس دستورالعمل دستگاه صورت گیرد.

۱. از منوی Analysis انتخاب کرده و روی یکرنگ، به‌طور مثال Non-Assay Green، کلیک کنید.

۲. انتخاب Threshold را به‌صورت اتوماتیک با فعال کردن گزینه‌ی Auto Set Threshold انجام دهید (شکل ۸).



شکل ۶. تنظیمات دستگاه Mic

۳. مراحل بالا را برای کانال‌های Yellow تکرار کنید.

ارزیابی آنالیتیکال

حساسیت آنالیتیکال

با توجه به نتایج حاصله، حد پایین تشخیصی برای این کیت در به شرح زیر است:

Target	LOD
HHV8	5 copies per PCR
IC	10 copies per PCR

جدول ۶. حد پایین تشخیص کیت

دقت

در این تست برای اطمینان در تکرارپذیری از مقدار بالاتر از LOD یعنی 10 Copy/ PCR استفاده گردید.

Sample Concentration 10 Copy/ PCR	Standard Deviation	% Coefficient of Variance
Intra-assay Variability HHV8	1.92	3.38%
Intra-assay Variability Inter Control	0.62	2.73%
Inter-assay Variability	1.53	4.34%

HHV8		
Inter-assay Variability Inter Control	0.58	2.66%
Inter-batch Variability HHV8	2.62	4.73%
Inter-batch Variability Inter Control	0.51	2.32%
Total Variance HHV8	2.02	4.12%
Total Variance Inter Control	0.55	2.53%

جدول ۷. نتایج ارزیابی دقت

اختصاصیت آنالیتیکال

به جهت بررسی اختصاصیت پرایمرها و پروب‌های محصول احتمال شناسایی غیراختصاصی دیگر عوامل عفونی مربوطه مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین انتخاب شرایط واکنش دقیق مورد تأیید نیز تضمین شده است. این کیت با DNA عوامل زیر واکنش متقاطع ندارد (جدول ۸).

Bacterium	Streptococcus hemolytis-β	Enterococcus faecalis
	Clostridium sporogenes	syphilis
	Escherichia coli	Bacillus pumilus
	Serratia marcescens subsp marcescens	
	Salmonella enterica subsp enterica	Pseudomonas aeruginosa
	Staphylococcus aureus subsp.aureus	Micrococcus luteus
Virus	herpes simplex virus 6-7	Human papilloma virus
Fungus	Candida albicans	monilia albican

جدول ۸. عواملی که در اختصاصیت آنالیتیکال بررسی گشتند

ارزیابی کلینیکال

حساسیت و اختصاصیت کلینیکال

برای تعیین حساسیت و اختصاصیت کلینیکال از ۱۰۰ نمونه مثبت و ۱۰۰ نمونه منفی استفاده شد که نتایج در جدول زیر نشان داده شده است:

Target	Sensitivity	Specificity
HHV8	95%	100%

جدول ۸. حساسیت و اختصاصیت کلینیکال کیت

رفع مشکل ۳

مشکل	دلیل بروز مشکل	اقدام اصلاحی
1 هیچ سیگنالی دریافت نشده ولی کنترل مثبت سیگنال دارد.	استخراج DNA	استخراج DNA با برخی از کیت‌ها ممکن است همراه با برخی ناخالصی‌هایی باشد که با مسترمیکس واکنش مهاری دهد
2 هیچ سیگنالی از هیچ کانالی دریافت نمی‌شود (حتی در نمونه استاندارد و کنترل داخلی کیت نیز هیچ سیگنالی رؤیت نشده)	مشکل از مستر میکس می‌باشد	واکنش را مجدد روی کنترل مثبت کیت تکرار کنید تا از مشکل مسترمیکس اطمینان حاصل کنید.
	مشکل از دستگاه یا نرم‌افزار آن می‌باشد	از نحوه run دستگاه و همچنین سلامت دستگاه اطمینان حاصل کنید.
3	آلودگی فضای هود یا work station که میکس اولیه آماده می‌گردد.	با سفیدکننده ۱۰٪ تمام سطوح هود را تمیز کنید و به مدت ۲۰ دقیقه سفیدکننده ۱۰٪ بگذارید روی سطوح بماند و سپس به مدت ۲۰ دقیقه UV را روشن کنید.

رؤیت سیگنال در نمونه کنترل منفی	مشکل از سمپلر آلوده یا مشترک می باشد	امکان دارد طی روند کار به هر علتی سمپلر هود تمیز شما مقداری آلودگی داشته باشد برای رفع آلودگی بیرون و داخل سمپلر را با وایتکس ۱۰٪ خوب تمیز کنید و سمپلرها را زیر UV به طریقی که سر آنها UV بخورد قرار دهید/ هرگز از سمپلر مشترک که برای نمونه بیمار یا کنترل مثبت استفاده می کنید جهت درست کردن میکس اولیه استفاده نکنید.
4	شدت فلورسنت کم است	توجه داشته باشید که برای انجام تست باید دو فضای مجزا (هود مجزا) برای میکس اولیه و اضافه کردن نمونه بیمار داشته باشید.
5	کیفیت DNA استخراج شده مناسب نیست.	برای جلوگیری از این اتفاق دفعه اول به اندازه موردنیاز هر بار استفاده پرایمر و پروب ها را الکوت کنید در غیر این صورت اگر طی دو-سه روز کل کیت مصرف می شود پرایمر ها را در دمای ۴ درجه نگهداری کنید.
6	سیگنال های گرفتن خطی (noise)	در صورت امکان دوباره فرآیند استخراج DNA و یا نمونه گیری را تکرار کنید.
	نرم افزار دستگاه	برای دستگاه Qiaagen (کوربت) گزینه outlier removal را طبق شرایط بهینه نمونه روی ۵٪ یا ۱۰٪ بگذارید.

جدول ۹. رفع مشکل

پشتیان فنی

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

✓ ۰۹۹۳۶۶۹۳۹۴۱ (آقای قره داغی)

✓ ۰۲۱۲۲۰۸۲۱۲۰

نشانه

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

شرکت فناوری بن یاخته - گروه سین مورو

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