**RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit**

**RevoDx** Набір для виявлення ДНК вірусу гепатиту В

**Інструкція з використання**

**Якісне визначення ДНК вірусу гепатиту В**

**Тільки для професійного використання**

**Номери товарів:**

**IP201922-25 – 25 тестів**

**IP201922-50 – 50 тестів**

**IP201922-100 – 100 тестів**

**IP201922-250 – 250 тестів**

**Компоненти продукту**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Назва компонента** | **25 Тести** | **50 Тести** | **100 тестів** | **250 Тести** |
| **1** | HBV RM -1 | 350 мкл | 700 мкл | 1400 мкл | 2 х 1750 мкл |
| **2** | HBV РМ-2 | 25 мкл | 50 мкл | 100 мкл | 250 мкл |
| **3** | Внутрішній контрольний зразок, ВК HBV (Internal Control, ІС) | 75 мкл | 150 мкл | 300 мкл | 750 мкл |
| **4** | HBV Позитивний контрольний зразок, ПКЗ (Positive Control) | 100 мкл | 100 мкл | 100 мкл | 100 мкл |
| **5** | HBV Негативний контрольний зразок, НКЗ (Negative Control) | 100 мкл | 100 мкл | 100 мкл | 100 мкл |

**Транспортування, зберігання та стабільність**

Набори постачаються в замороженому вигляді. Допускається транспортування при температурі від +2°C до +8°C Усі компоненти набору RevoDx HBV qPCR Kit слід зберігати при температурі від -25°C до -15°C. Слід уникати зберігання при більш високих температурах. За умов належного зберігання всі компоненти набору залишаються стабільними до закінчення терміну придатності, вказаного на етикетці продукту. Реагент HBV RM-1 не можна заморожувати-розморожувати більше 3 разів, це може призвести до зниження чутливості набору. При необхідності збільшення кількості циклів заморожування-розморожування, розділіть набір на кілька аліквот зручного об’єму та зберігайте при температурі від -25°C до -15°C.

**Передбачуване використання**

RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit — це набір реагентів для якісного виявлення ДНК вірусу гепатиту В людини у сироватці або плазмі крові людини (EDTA) методом ПЛР у реальному часу. Призначений для in vitro діагностики. Рекомендуємо використовувати з набором для екстракції вірусних нуклеїнових кислот RevoDx Viral Nucleic Acid Purification Kit. Набір може використовуватись з наступними приладами для ампліфікації у режимі реального часу: BIO-RAD CFX96, Applied Biosystems QuantStudio5, Tianlong Gentier 96 Real-Time PCR, а також приладами ДНК-технології серії ДТ (DT-prime, DT-lite), та аналогічними.

Негативні результати тесту ПЛР не виключають можливості, що пацієнт є інфікованим вірусом гепатиту, а тому не повинні використовуватись як єдине підгрунтя для прийняття рішення про подальші діагностику та лікування пацієнта. Негативні результати варто комбінувати з клінічною картиною, історією пацієнта, та епідеміологічною інформацією.

Набір RevoDx HBV qPCR Kit призначений для професійного використання кваліфікованим лабораторним персоналом, що пройшов навчання методам ПЛР у реальному часі та процедурам для діагностики in vitro.

**Обмеження щодо використання продукту**

* Використовувати лише за призначенням
* RevoDx HBV qPCR Kit призначений лише для дослідницького використання
* RevoDx HBV qPCR Kit не призначений для скринінгу крові та продуктів крові на наявність ДНК HBV або для підтвердження діагнозу інфекції HBV
* Потенційні мутації в цільових ділянках генів HBV, що покриваються олігонуклеотидами набору, можуть призвести до хибнонегативних результатів тестування.
* Набір валідований для використання з сироваткою або плазмою крові людини, зібраною в антикоагулянті EDTA. Тестування з іншими типами зразків може призвести до неточних результатів.
* Зразки плазми або сироватки крові, обробленої гепарином, непридатні для використання з набором.
* Набір валідований для використання з набором для виділення вірусних нуклеїнових кислот RevoDx Viral Nucleic Acid Purification Kit. Використання інших наборів для екстракції може негативно вплинути на робочі характеристики набору.
* Інгібітори ПЛР в елюатах можуть призвести до хибнонегативних або невалідних результатів тесту.
* Набір валідовано з використанням приладів для ампліфікацї BIO-RAD CFX96 та Tianlong Gentier 96. При використанні з іншими приладами характеристики набору можуть відрізнятися.
* Для отримання достовірних результатів необхідно дотримуватись правильних методів збору, транспортування, зберігання та обробки зразків.
* Набір призначений для професійного використання кваліфікованим персоналом, що пройшов відповідне навчання.
* RevoDx Набір HBV qPCR Kit призначений для допомоги в лікуванні пацієнтів із хронічною інфекцією HBV та для формування стратегії противірусної терапії в поєднанні з усіма відповідними клінічними та лабораторними результатами.
* Дотримуйтеся інструкцій з використання до наборів для отримання оптимальних результатів ПЛР.
* Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності. Компоненти набору з різних серій не можна змішувати.

**Опис продукту**

RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit — це набір для ПЛР у режимі реального часу, призначений для якісного виявлення гена S ДНК HBV, та одночасного виявлення внітрішнього контролю.

RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit — це одноетапний ПЛР-аналіз у реальному часі, у якому мічений флуоресцентним барвником зонд гібридизується з матрицею та розщеплюється 5'-3' ендонуклеазною активністю ДНК-полімерази Thermus aquaticus (Taq) у міру подовження праймера ПЛР. Зонд розщеплюється лише тоді, коли відбувається реплікація кДНК, при чому відбувається розділення молекули флуоресцентного барвника та молекули гасника. Утворені продукти ПЛР можна виявити протягом кількох хвилин завдяки підвищенню рівня флуоресценції, яке відбувається експоненціально з кожним наступним циклом ампліфікації у ході ПЛР. Параметр Ct (пороговий цикл) – це номер циклу ампліфікації, при якому флуоресценція реакційної суміші перевищує фіксоване порогове значення.

Метод виконується безпосередньо на ДНК, виділеній із зразків пацієнта. Для контролю якості екстракції нуклеїнових кислот та проходження ампліфікації в наборі використовується внутрішній контрольний зразок. Олігонуклеотидні праймери та зонди для виявлення HBV були підібрані з ділянок консервативної для вірусу ділянки гена S. Набір призначений для специфічної діагностики HBV.

**Прилади**

Набір RevoDx HBV qPCR Kit можна використовувати із ампліфікаторами для ПЛР у реальному часі BIO-RAD CFX96, Tianlong Gentier 96, Applied Biosystems QuantStudio5, а також приладами ДНК-технології серії ДТ (DT-prime, DT-lite). Але RevoDx HBV qPCR Kit також може бути сумісним з більшістю ампліфікаторів для ПЛР у реальному часі з каналами FAM і HEX.

**Загальний опис**

Вірус гепатиту B (HBV), з геномом розміром 3,2 kbp і частково подвійним ланцюгом ДНК, є членом родини Hepadnaviridae(1). Вірус гепатиту В може викликати гостре або хронічне захворювання печінки. У хронічному випадку інфекція може стати небезпечною для життя, оскільки може призвести до цирозу печінки або гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК) (2). Його способи передачі аналогічні ВІЛ, але значно більше інфекційнонебезпечні. Способами передавання є від матері до дитини, парентеральний і статевий через контакт з зараженими кров’ю або рідинами організму . Після потрапляння в організм, вірус уражує гапатоцити печінки завдяки своєму поверхневому антиненові ( HBsAg ). Інфекція ВГВ часто набувається протягом дитинства і в цілому безсимптомна . Ураження HBV на цьому етапі в основному призводить до розвитку хронічної інфекції (3). Приблизно 400 млн людей у світі є хронічно хворими на вірус гепатиту B (HBV) і приблизно 1 млн щорічно помирає від пов'язаних з ВГВ захворювань. Світове поширення вірусного гепатиту В варіює від 0,1% до 20%. Це широкий діапазон значною мірою через різницю у віці на момент зараження. Гостра інфекція ВГВ та ризик розвитку хронічної інфекції змінюються з віком: 90% для перинатальної інфекції, 25–50% для інфікування у віці 1-5 років і 1–5% для решти (4). Наприклад у Туреччині, як проміжній ендемічній області, поширеність серопозитивності по HBsAg становить від 2 до 10% (5).).

**Список літератури**

1.Gerlich W, Robinson WS. Hepatitis B virus contains protein attached to the 5′ end of its complete strand. Cell. 1980;21:801–811.

2. McMahon The natural history of chronic hepaatitis B virus infection. Hepatology. 2009;49(suppl):S45–S55.

3. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D, Mack D, Schellekens H, Driss F, et al. Transmission of hepatitis B from hepatitis-B-seronegative subjects. Lancet. 1988;2:1273–1276.

4.Custer B et al. Global epidemiology of hepatitis B virus. Journal of Clinical Gastroenterology, 2004, 38(10 Suppl):S158–S168.

5.Toy M, Onder FO, Wormann T, Bozdayi AM, Schalm SW, Borsboom GJ, et al. Age- and region-specific hepatitis B prevalence in Turkey estimated using generalized linear mixed models: a systematic review. BMC Infect Dis. 2011;11:337. doi: 10.1186/1471-2334-11-337.

**Інформація про безпеку**

* Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; з ними слід працювати в зоні біобезпеки 1-го або 2-го рівня, залежно від збудника інфекції.
* Усі отримані відходи слід вважати потенційно інфекційними. З ними слід поводитись та утилізувати відповідно до місцевих правил безпеки.
* Уникайте будь-якого контакту шкіри з реагентами набору. У випадку контакту ретельно промити водою.
* Уникайте розбризкування та утворення аерозолів.
* Після роботи із клінічними зразками та реагентами необхідно мити руки.
* Інформацію стосовно хімічного складу та безпечності реагентів тощо (MSDS information) можна отримати від виробника чи його представника за запитом.
* При роботі в лабораторії використовувати ЗІЗ.
* На початку та вкінці роботи дезінфікуйте усі робочі поверхні знезаражуючиими розчинами.
* Переконайтесь що усі розхідні матеріали мають маркування DNase/RNase-free.
* Поводьтеся з усіма матеріалами відповідно до правил роботи в лаборіях, що проводять дослідження молекулярно-генетичними методами, щоб запобігти перехресній контамінації.
* Використовуйте тільки повірені/калібровані дозатори та наконенчники з аерозольним фільтром.
* Зберігайте набір подалі від джерел забруднення нуклеїновими кислотами, особливо продуктами ампліфікації.
* Усі маніпуліції варто проводити в окремих зонах (екстракція НК, приготування реакційних сумішей, ампліфікація).
* Усе обладнання та витратні матеріали для конкретної операції повинні знаходитися в зоні, де виконується ця операція, і не повинні переміщатися між різними зонами. Рукавички слід змінювати при переході у кожну зону. Лабораторні халати повинні бути окремими для кожної зони і їх не можна носити за межами цієї зони.
* Роботи повинні виконуватись в одному напрямку, починаючи із зони екстракції НК і закінчуючи відповідними зонами використання.

**Характеристики набору**

**Аналітична чутливість** Для визначення межі чутливості набору (limit of detections, LoD) була підготовлена серія розведень міжнародного стандарту HBV від ВООЗ для отримання кінцевих концентрацій 1000, 200, 40, 8 і 1,6 МО/мл. Вірусну ДНК очищали за допомогою RevoDx Viral Nucleic Acid Purification Kit. Кожне розведення було перевірене в 24 повторах. Значення межі виявлення (LoD) становило 10 МО/мл.

**Виявлення генотипів** Ефективність набору RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit було оцінено за допомогою стандартної панелі зразків SeraCare Life Sciences – AccuSet HBV DNA Genotype Performance Panel ( кат . №: 0805-0362 / партія № 10387873). Згідно з результатами, дані, отримані RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit, співставні з результатами інших наборів. RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit може виявити та кількісно визначити всі генотипи HBV.

**Діагностична специфічність** Для визначення діагностичної специфічності RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit було протестовано 115 клінічних зразків від різних донорів, негативних на наявність ДНК HBV. Було використано 55 клінічних зразків сироватки, і 60 клінічних зразків плазми з ЕДТА. Жоден із перевірених зразків не дав позитивного результату. Діагностична специфічність RevoDx HBV qPCR Kit становить ≥ 99 %.

**Перехресна реактивність.** Аналіз in silico праймерів і зондів RevoDx HBV qPCR Kit проти послідовностей 29 патогенів показав, що набір буде специфічним для цільових генів HBV і не буде перехресно реагувати з цими патогенами. Перераховані нижче 16 збудників були протестовані на перехресну реактивність методом ПЛР за допомогою набору RevoDx HBV qPCR Kit. Хибнопозитивних результатів не спостерігалося.

Нижче наведені результати дослідження перехресної реактивності, як *in silico*, так і методом ПЛР.

**Аналіз перехресної реактивності *In silico***

|  |  |
| --- | --- |
| **Організм** | **Цільові олігонуклеотиди, ген S** |
| Цитомегаловірус людини (CMV) | Немає гомології |
| Вірус гепатиту С (HCV) | Немає гомології |
| SARS-CoV-2 | Немає гомології |
| Коронавірус людини 229E | Немає гомології |
| Коронавірус людини OC43 | Немає гомології |
| Коронавірус людини HKU1 | Немає гомології |
| Коронавірус людини NL63 | Немає гомології |
| Коронавірус SARS | Немає гомології |
| MERS-коронавірус | Немає гомології |
| Аденовірус ( наприклад , C1 Ad. 71) | Немає гомології |
| Метапневмовірус людини ( hMPV ) | Немає гомології |
| Вірус парагрипу 1-4 типів | Немає гомології |
| Вірус грипу А і В | Немає гомології |
| Ентеровірус (напр. EV68) | Немає гомології |
| Респіраторно-синцитіальний вірус | Немає гомології |
| Риновірус | Немає гомології |
| *Chlamydia pneumoniae* | Немає гомології |
| *Haemophilus influenzae* | Немає гомології |
| *Legionella pneumophila* | Немає гомології |
| *Mycobacterium tuberculosis* | Немає гомології |
| *Streptococcus pneumoniae* | Немає гомології |
| *Streptococcus pyogenes* | Немає гомології |
| *Bordetella pertussis* | Немає гомології |
| *Mycoplasma pneumoniae* | Немає гомології |
| *Pneumocystis jirovecii* (PJP) | Немає гомології |
| *Candida albicans* | Немає гомології |
| *Staphylococcus epidermis* | Немає гомології |
| *Streptococcus salivarius* | Немає гомології |
| *Chlamydia pneumoniae* | Немає гомології |

**Перевірка перехресної реактивності методом ПЛР**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Організм** | **Джерело** | **Результат** |
| Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification Techniques (1st International Standard) | NIBSC ( Кат . №: 09/162) | Не виявлено |
| Hepatitis C virus RNA for nucleic acid amplification techniques (6th WHO International Standard) | NIBSC ( Кат . №: 18/184) | Не виявлено |
| First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA | NIBSC ( Кат . №: 20/146) | Не виявлено |
| Human coronavirus (229E) | NIBSC ( Кат . №: 09/132) | Не виявлено |
| Rhinovirus | NIBSC ( Кат . №: 08/324) | Не виявлено |
| Human Adenovirus | NIBSC ( Кат . №: 16/324) | Не виявлено |
| Influenza Virus (A/Christchurch/1/2003, H1N1) | NIBSC ( Кат . №: 07/296) | Не виявлено |
| Influenza Virus (A/Wyoming/3/2003, H3N2) | NIBSC ( Кат . №: 07/298) | Не виявлено |
| Influenza Virus (B/Jiangsu/10/2003) | NIBSC ( Кат . №: 07/300) | Не виявлено |
| Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1) | NIBSC ( Кат . №: 16/194) | Не виявлено |
| Human Immunodeficiency Virus 2 (HIV-2) | NIBSC ( Кат . №: 16/296) | Не виявлено |
| Human Respiratory syncytial virus A2 | NIBSC ( Кат . №: 08/120) | Не виявлено |
| Parainfluenza virus type 1 | NIBSC ( Кат . №: 08/176) | Не виявлено |
| Parainfluenza virus type 2 | NIBSC ( Кат . №: 08/178) | Не виявлено |
| Parainfluenza virus type 3 | NIBSC ( Кат . №: 08/118) | Не виявлено |
| Parainfluenza virus type 4 | NIBSC ( Кат . №: 08/180) | Не виявлено |
| Парагрип вірус тип 3 | NIBSC ( Кат . №: 08/118) | Не виявлено |
| Парагрип вірус тип 4 | NIBSC ( Кат . №: 08/180) | Не виявлено |

**Перехресна контамінація** Було оцінено потенційну перехресну контамінацію між зразками. Було проведено п’ять різних постановок ПЛР із одночасним тестуванням високопозитивних і негативних зразків. У кожному циклі використовували 4 високопозитивні зразки ВГВ і 4 негативні зразки. Перехресної контамінації не спостерігалося, і жоден із зразків не виявив ознак вмісту інгібіторів ПЛР, що видно з ампліфікації внутрішнього контролю.

**Інтенсивність відмов системи (Whole System Failure)** До негативних зразків плазми (ЕДТА) та сироватки крові додали комерційний стандартний зразок HBV від ВООЗ у кількості необхідній для отримання фінальної концентрації 30 МО/мл, що втричі перевищує 95% порогове значення чутливості набору, визначене при дослідженні аналітичної чутливості\*\*. Усі 120 зразків із додаванням HBV дали позитивний результат тесту на ДНК HBV. Загальна частота відмов системи RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit становить ≤ 1 %

***\*\*Це концентрація аналіту, при якій 95 % тестів дають позитивні результати після серійних розведень міжнародного еталонного матеріалу, наприклад, стандарту ВООЗ або каліброваних еталонних матеріалів.***

**Порівняльні клінічні випробування** Всього було протестовано 118 клінічних зразків. Згідно з результатами, дані, отримані на RevoDx HBV Qualitative qPCR Kit, співставні з результатами інших наборів із маркуванням CE.

**Додаткові матеріали та обладнання**

* Набір для екстракції нуклеїнових кислот RevoDx Viral Nucleic Acid Purification Kit (Cat. No: IP201906; ІdilВiotech, Туреччина)
* Ампліфікатор для ПЛР у режимі реального часу
* Відповідні ЗІЗ (халат, рукавички, окуляри, тощо.)
* Мікропіпетки (0.5 мкл – 1000 мкл)
* Наконечники для дозаторів з аерозольним фільтром та маркуванням DNase/RNase-free
* Мікропробірки 1,5 мл з маркуванням DNase/RNase-free
* Вихровий змішувач (вортекс)
* Настільна мікроцентрифуга для ПЛР-планшетів/стрип-пробірок
* Настільна мікроцентрифуга для пробірок об'ємом 1,5-2,0 мл
* Пробірки або планшети для ПЛР у реальному часі

**Підготовка зразків**

Цей набір валідовано для використання зі свіжою або замороженою сироваткою чи плазмою людини, зібраною в антикоагулянті EDTA. Зразки плазми або сироватки крові, обробленої гепарином, непридатні для використання. Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; під час забору та обробки зразків необхідно дотримуватись запобіжних заходів щодо збудників, що передаються через кров. Клініцисти (а також фельдшери, медсестри, лікарі та спеціалісти, пов’язані із медициною) несуть відповідальність за використання правильної процедури під час збору та безпечного транспортування зразків до лабораторії. Достовірність результатів тестування значною мірою залежить від належної практики на етапі «попереднього тестування», і дуже важливо, щоб відповідна документація була точною та повною.

Після збору не зберігайте цільну кров при кімнатній температурі довше 4 годин. Центрифугуйте кров і перенесіть сироватку або плазму в кріовіалу/пробірку з гвинтовою кришкою. Транспортування цільної крові, сироватки або плазми має відповідати державним або місцевим нормам. Зразки сироватки або плазми можна зберігати при 2-8°C протягом 24 годин або заморозити при -70°C або нижче для тривалого зберігання. Необхідно уникати повторних циклів заморожування/розморожування, оскільки це призведе до зниження титру вірусу.

Зразки необхідно перемішати, перевертаючи пробірки або піпетуючи кілька разів, перед перенесенням у пробірку для зразків. При використанні заморожених зразків, потрібно довести їх до кімнатної температури перед початком процедури. При наявності осаду, видалити його центрифугуванням протягом 3 хв при 5000 x g.

**Протокол**

**Протокол**

**Виділення ДНК вірусу** Для екстракції ДНК вірусу із сироватки або плазми людини, зібраної в антикоагулянті EDTA, бажано використовувати RevoDx Viral Nucleic Acid Purification Kit. Використання інших реагентів може негативно вплинути на характеристики набору. Будь ласка, дотримуйтесь інструкцій виробника обраного набору для виділення НК. В ідеалі операції повинні проводитися в трьох окремих зонах (для виділення ДНК/РНК, приготування реагентів для ПЛР, ампліфікації), щоб запобігти контамінації.

**Внутрішній контроль** Наявність внутрішнього контролю (ВК) під час процедури очищення є необхідною. Внутрішній контроль включає плазмідну ДНК, що містить вставку. Внутрішній контроль використовується для моніторингу ефективності етапу екстракції ДНК, а також для перевірки будь-якого інгібування ПЛР. Для кожного зразка додайте 2,5 мкл ВК у лізуючий розчин RevoDx Viral Nucleic Acid Purification Kit. **Не додавайте ВК безпосередньо у зразок сироватки/плазми.** Залежно від кінцевого об’єму елюції розраховується об’єм ВК, який потрібно додати (0,05 мкл ВК/1 мкл буфера для елюції). Поганий сигнал або відсутність сигналу може спостерігатися для каналу внутрішнього контролю у зразках, які є високопозитивними на HBV оскільки існує конкуренція між молекулою внутрішнього контролю та молекулою ДНК HBV під час використання компонентів ПЛР. Значення Ct внутрішнього контролю для негативних зразків має дорівнювати 30 ± 4, інші значення вказують на проблему під час екстракції НК.

**Позитивний контроль** Значення Ct позитивного контрольного зразка повинні дорівнювати 26 ± 4, інші значення вказують на проблему при ампліфікації.

**Протокол ПЛР**

**1.** Розморозьте всі компоненти при кімнатній температурі, крім HBV RM 2. Компонент HBV RM 2 тримати на льоду. Ретельно перемішайте кожен компонент, потім осадіть краплі короткочасним центрифугуванням. Перенесіть усі реагенти на лід або охолоджуючий блок.

**2.** Кінцевий об’єм реакційної суміші (Master Mix) отримується шляхом множення окремих реакційних об’ємів RM 1 та RM 2 на загальну кількість зразків (досліджувані клінічні зразки плюс ПКЗ та НКЗ). Для уникнення похибок при розкапуванні рекомендується додати додатковий зразок при підрахунку загальної кількості зразків.

**3.** В окрему пробірку внести реагенти із розрахунку 14 мкл HBV RM 1 та 1 мкл HBV RM 2 на один зразок. Перемішти суміш піпетуванням або на вортексі та осадити краплі короткочасним центрифугуванням. Внести по 15 мкл приготованої суміші у пробірки для ПЛР. Внести по 5 мкл досліджуваних зразків, ПКЗ та НКЗ у відповідні пробірки. Осадити краплі центрифугуванням.

**4.** Запрограмуйте прилад для ампліфікації згідно протоколу, наведеного у таблиці 4. Вказати об’єм зразка 20 мкл.

**Таблиця 4:** Програма ампліфікації

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Назва етапу** | **Кількість циклів** | **Температура** | **Час** |
| Активація полімерази | 1 | 95ºC | 2 хв |
| Ампліфікація | 40 | 95ºC | 10 сек |
| 60ºC\*\*\* | 20 сек |

**\*\*\* Детекція флуоресценції при 60°C за каналами FAM та HEX**

**5.** Обрати вимірювання рівня флуоресценції при 60°C за каналами FAM та HEX.

**6.** Запустити програму.

**7.** Програмування приладу та аналіз результатів здійснювати відповідно до інструкції виробника.

**Аналіз даних**

Щоб мати можливість проаналізувати експеримент, значення Ct позитивного контролю за каналом FAM має дорівнювати 26±4, а негативний контроль по всіх каналах має бути негативним. В іншому випадку експеримент слід повторити.

Результати можна інтерпретувати наступним чином:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Сигнал по каналу FAM (HBV)** | **Сигнал по каналу HEX (ВК)** | **Інтерпретація** |
| + | **+/-** | ДНК HBV виявлено |
| - | **+** | Результат валідний. ДНК HBV не виявлено |
| - | - | Результат невалідний. Цей зразок слід перевірити повторно. |