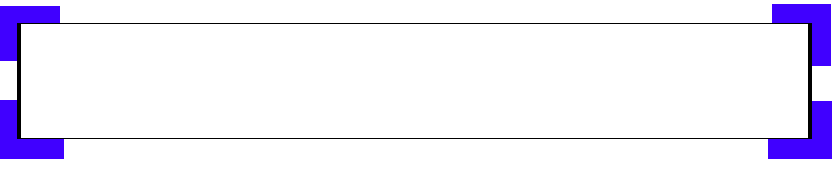
**HybriDetect 2T**



**Universal lateral flow dipstick for simultaneous detection of two different analytes (proteins, genomic amplificates) labelled with FITC, biotin and digoxigenine; development platform**

**English: Page 1-8**

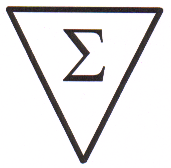
**Revision: Page 17**

Universeller Lateralfluss-Dipstick zum gleichzeitigen Nachweis von zwei verschiedenen Analyten (Proteine, Gen-Amplifikate) markiert mit FITC, Biotin und Digoxigenin; Entwicklungsplattform

Deutsch: Seite 9-16

Revision: Seite 17

**REF:**



**100**

MGHD2 1

**Milenia Biotec GmbH**



Versailler Straße 1

D-35394 Gießen, Germany

Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0

Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80

E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)

[http://www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de/)

 IFU-gross 

MGHD2 / B / 2013-01-10

# Explanation of Symbols

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Symbols (GB)**  **Symbole (DE)** | **Explanation**  **Erklärung** | **Symbols (GB)**  **Symbole (DE)** | **Explanation**  **Erklärung** |
| Exp-gross | Expiry date  Haltbarkeitsdatum | AnzahlTests-klein | Package size  Packungsgröße |
|  | *In Vitro* Diagnostic Medical Device  *In Vitro* Diagnostikum |  | Manufacturer  Hersteller |
|  | Batch code  Los-Bezeichnung |  | Only for evaluation purposes  Nur zur Leistungsbewertung |
| **REF** | Catalogue number  Artikel-Nummer | IFU-gross | Consult Instructions for Use  Gebrauchsanweisung beachten |
|  | Storage conditions  Lagerungsbedingungen |  | Consult attended documents  Begleitdokumente beachten |

**Note:** Significant changes are indicated by dotted lines in the margin.

In the end of the IFU you will find a table with causes of changes.

# Warnings and Precautions

* All reagents should be stored at 2 – 8° C in their original containers.
* Before use, bring all reagents to room temperature (18 - 28° C).
* The expiration date of all components must be observed.
* Protect dipsticks from humidity; Container must always be closed.
* Touch and label only the foil-covered areas of the dipsticks (labeling area).
* The disposal of waste materials must be carried out according to current local regulations.
* The assay buffer contains an anti-microbial reagent; therefore avoid contact with skin and/or mucous membranes.
* For professional users

# Materials Supplied, Storage and Stability

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Component** | **Cat.-No.** | **Content** | **Preparation** | **Storage** | **Shelf Life** |
| **HybriDetect 2T Dipsticks**:  Membrane coated with biotin-ligand and polyclonal (goat) digoxigenine antibody; polyclonal (rabbit)  anti-FITC antibody in gold conjugate | MGDS2 | 2 x 50 tests (blue lamination) | Ready-to use | 2 - 8°C;  Containers must be always closed (moisture protection)! | until expiry date |
| **HybriDetect 2T Assay Buffer**:  Tris-buffered saline | MGCB2 | 2 vials à  10 mL  (yellow cap) | Ready-to use | 2 - 8°C | until expiry date |

4

**Material Safety Data Sheets are available on request (look as well www.milenia-biotec.de).**

# Materials Required

* Pipets
* Pipet tips (containing protective filters for PCR)
* Reaction tubes or 96-well microtiter plate

# Necessary Development Work - Development Platform

**Development of two solutions (A and B). Each solution must contain two different labeled detectors for the respective analyte.**

Following conditions are necessary:

1) **Solution A:** Detectors must be labeled with:

* FITC (fluorescein isothiocyanate)
* Biotin

2) **Solution B:** Detectors must be labeled with:

* FITC (fluorescein isothiocyanate)
* Digoxigenine

3) Use about 100 µL fluid (sample material and analyte-specific solutions, A and B) for the assay procedure.

4) The provided buffers (MGCB2) may be used as a basic for these analyte-specific solutions.

Example of use:

20 µl sample material and 80 µl analyte-specific solutions with 5 min incubation time.

**Notice:**

**Volumes, analyte-specific solutions, and incubation time are part of the individual test development.**

A basic procedure for the detection of genomic amplicons is explained on page 7: “Assay performance PCR products.” One amplification product should be biotinylated and the specific hybridization probe should be FITC labeled. The second amplification product should be labelled with digoxigenine and the specific hybridization probe should be FITC labeled.Various amplification procedures (Polymerase Chain Reaction or isothermal amplifications like LAMP or RPA) can be used.

# Method

Milenia® HybriDetect 2T is a ready-to-use, universal test strip (dipstick), which bases on the lateral flow technology using gold particles. The dipstick is designed to develop qualitative or quantitative rapid test systems for simultaneous detection of two different analytes such as proteins, antibodies, or gene amplifications. The user needs to develop two analyte-specific solutions, with following conditions. Solution A: Contains a first detector (e.g. antibody, antigen, specific probe) labeled with FITC and a second one (e.g. antibody, primer) labeled with biotin, and solution B: Contains a first detector (e.g. antibody, antigen, specific probe) labeled with FITC again and but a second one (e.g. antibody, primer) labeled with digoxigenine, (see “Common Testprinciple” on page 5).

The sample to be determined is mixed with the developed analyte-specific solutions, and then the dipstick is placed into this solution.

The complexed analyte (A)-labeled with FITC and biotin, binds first to the gold-labeled FITC-specific antibodies in the sample application area of the dipstick as well as the complexed analyte B (labeled with FITC and digoxigenine). The gold complexes A and B diffuse over the membrane by capillarity. Only the analyte captured gold particles will bound when they overflow the immobilized biotin-ligand molecules at the respective test band (test band A- analyt A, test band B- analyt B) and generate there a red-blue band over the time. Not-captured gold particles flow over the control band and will be fixed there by species-specific antibodies. With increasing incubation time, the formation of an intensely colored control band appears.

# Additional available Products

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Product Name** | **Order No.** | **Content** | **Description** |
| Milenia® HybriDetect | MGHD 1 | 100 tests | Dipsticks with **one** test band |
| Milenia® HybriDetect HS | MGHT 1 | 40 tests | Test strips with **one** test band (in a housing) |
| Milenia® POCScan Reader | MSCAN 1 | 1 device | Interpretation device for HybriDetect products |
| Milenia® Carrier | MGCA 1 | 15 pieces | Holder for insertion of Milenia® Dipsticks in the Milenia® POCScan Reader |

# Common Testprinciple

Symbols:

1) Ready-to-use (analyte-independent) dipstick





**Sample application place**

2) Addition of sample, resp. analyte A and B-specific solutions



3) Incubation

4) Results: A-positive, B-positive A and B negative





**Control Band**

**Dipstick**

**Test Band B**

**Test Band A**

A positive, B negative A negative, B positive





**Control Band**

**Dipstick**

**Test Band B**

**Test Band A**

# Control Band Dipstick

**In any case, the control band must be always visible!**

It is a control function and can not be used to assess the test band. If the control band is not visible after the incubation period, the result is invalid! The test must be repeated with a new dipstick!

# Interpretation of Results

There are three possibilities to interpret the Milenia®HybriDetect 2T dipstick results:

**1) Qualitative by visual interpretation**



e.g.: A, B negative A, B positive

Control Band

Test Band B

Test Band A

**2) Semi-quantitative, e.g. by interpretation cards**



**3) Quantitative interpretation with the Milenia® POCScan Reader and appropiate software**



# Assay Performance “PCR Products”

**1.** Take the required number of dipsticks out of the container and mark them.



**2.** For each sample to be analyzed pipet **100 µL** HybriDetect Assay Buffer or individual developed buffer into a reaction tube or a well of a microtiter plate.

**3.** Pipet **5 - 10 µl** of the hybridization product directly on the sample application area, or

**alternatively:** add **5 – 10 µl** of the hybridization product into the solution of the reaction tube / well.

**4.** Place the dipsticks with the sample application area into the solution and incubate them e. g. for **5 - 15 minutes** in an upright position.

**5.** In the end of incubation period, remove dipsticks from assay solution and interpret test results immediately.

**Notice:**

* **If a higher analytical sensitivity is required, it could be helpful to increase the volume of the PCR product.**
* **Volumes, analyte-specific solutions, and incubation time are always part of the individual test development.**

# Interpretation of “PCR” Results

**Applying an internal PCR control:**

While the biotin-labeled **amplicon A** is mainly used for the detection of a specific target sequence the digoxigenine-labeled **amplicon B** is provided as an internal PCR amplification control.



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Test band A** | **Test band B** | **Control band** | **Interpretation** |
| positive | positive | positive | 🞄 control band is clearly visible, test run is valid  🞄 **amplicon A is detected (positive)**  🞄 internal PCR control is positive (amplicon B) |
| negative | positive | positive | 🞄 control band is clearly visible, test run is valid  🞄 **amplicon A is not detected (negative)**  🞄 internal PCR control is positive (amplicon B) |
| positive | negative | negative | 🞄 test runs were not valid because control band  did not appear |
| negative | positive |
| negative | negative |
| negative | negative | pospositive | 🞄 rapid test performed properly because control  band is clearly visible  🞄 PCR amplification did not work due  (amplicon B is not detectable ) |
| positive |

# Trouble Shooting „PCR“

| Problem | Possible cause(s) | Recommendation |
| --- | --- | --- |
| Control band is not visible. | a) wrong or destroyed assay buffer  b) expiration date of dipsticks is exceeded  c) wrong storage conditions of dipsticks | apply new (fresh) chemicals |
| Negative result with dipstick but clearly visible band in agarose gel | a) detection of an unspecific PCR product in agarose gel  b) hybridization was not successful | Check identity of PCR product by Southern blotting or sequence analysis  Check conditions of hybridization. |
| Mineral oil | a) mineral oil affects flow characteristics of the assay  b) development of band might be hampered | Remove PCR product very slowly from the bottom of the reaction vial. |

# Assay Sensitivity “PCR”

Analytical sensitivity of the Milenia® HybriDetect 2T is equivalent to agarose gel electrophoresis and subsequent staining with ethidiumbromide. Independent on the size of the PCR product and the number of amplification cycles as low as 5 pg DNA could be detected.

# Literature-References

Kiatpathomchai W, et al, J Virol Methods (2008); 153: 214-217

Puthawibool T, et al, J Virol Methods (2009); 156 (1-2): 27-31

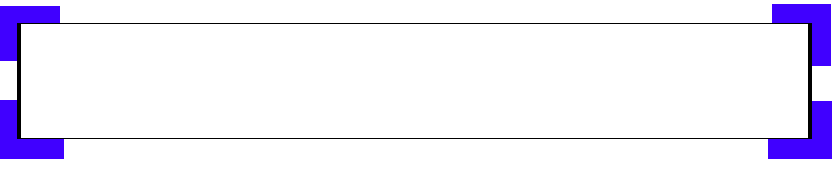
Jaroenram W, et al, Mol Cell Probes (2009); 23 (2): 65-70

Nimitphak T, et al, Mol Cell Probes (2009); 24 (1): 1-5

Kikuchi T, et al, Nematology (2009); 99 (12): 1365-1369

Piepenburg O, et al, PloS Biology 2006, Volume 4, Issue 7, e204

**HybriDetect 2T**



Universal lateral flow dipstick for simultaneous detection of two different analytes (proteins, genomic amplificates) labelled with FITC, biotin and digoxigenine; development platform

English: Page 1-8

Revision: Page 17

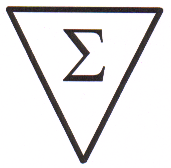
**Universeller Lateralfluss-Dipstick zum gleichzeitigen Nachweis**

**von zwei verschiedenen Analyten (Proteine, Gen-Amplifikate) markiert mit FITC, Biotin und Digoxigenin; Entwicklungsplattform**

**Deutsch: Seite 9-16**

**Revision: Seite 17**

**REF:**



**100**

MGHD2 1

**Milenia Biotec GmbH**



Versailler Straße 1

D-35394 Gießen, Germany

Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0

Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80

E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)

[http://www.milenia-biotec.de](http://www.milenia-biotec.de/)

 IFU-gross 

MGHD2 / B / 2013-01-10

# Erklärung der Symbole

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Symbols (GB)**  **Symbole (DE)** | **Explanation**  **Erklärung** | **Symbols (GB)**  **Symbole (DE)** | **Explanation**  **Erklärung** |
| Exp-gross | Expiry date  Haltbarkeitsdatum | AnzahlTests-klein | Package size  Packungsgröße |
|  | *In Vitro* Diagnostic Medical Device  *In Vitro* Diagnostikum |  | Manufacturer  Hersteller |
|  | Batch code  Los-Bezeichnung |  | Only for evaluation purposes  Nur zur Leistungsbewertung |
| **REF** | Catalogue number  Artikel-Nummer | IFU-gross | Consult Instructions for Use  Gebrauchsanweisung beachten |
|  | Storage conditions  Lagerungsbedingungen |  | Consult attended documents  Begleitdokumente beachten |

**Hinweis**: Signifikante Änderungen sind mit einer gepunkteten Linie am Rand gekennzeichnet.

Eine Änderungshistorie befindet sich am Ende der Packungsbeilage.

# Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

* Die Lagerung der Reagenzien sollte bei 2 – 8 °C in den Originalverpackungen erfolgen.
* Vor der Verwendung sind die erforderlichen Reagenzien auf Raumtemperatur (18 – 28 °C) zu bringen.
* Die angegebenen Verfallsdaten aller Komponenten sind zu beachten.
* Die Dipsticks sind empfindlich gegenüber Feuchtigkeit; Vorratsgefäß immer verschlossen halten.
* Nur die mit Folie bedeckten Bereiche des Dipsticks (Schriftfeld) berühren und beschriften
* Die Puffer dieses Testkits enthalten ein Konservierungsmittel zum Schutz gegen mikrobielles Wachstum; daher ist die Berührung mit der Haut und/ oder Schleimhäuten zu vermeiden.
* Die Abfallentsorgung muss gemäß den örtlichen Bestimmungen durchgeführt werden.
* Für Fachpersonal

# Kitbestandteile, Lagerung und Stabilität

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Komponente** | **Art-Nr.** | **Inhalt** | **Vorbereitung** | **Lagerung** | **Haltbarkeit** |
| **HybriDetect 2T Dipsticks:**  Membran beschichtet mit Biotin-Liganden und polyklonalen (Ziege) anti-Digoxigenin-Antikörpern, polyklonaler (Kaninchen) anti-FITC-Antikörper im Goldkonjugat | MGDS2 | 2 x 50 Stück (blaue Laminierung) | gebrauchs-fertig | 2 – 8 °C  Vorratsgefäß ver-schlossen halten (Feuchtigkeits­schutz)! | bis zum Verfallsdatum |
| HybriDetect 2T Laufpuffer  **(HybriDect 2T Assay Buffer)**:  Tris-gepufferte Salzlösung | MGCB2 | 2 Fl. à 10 ml (gelber Deckel) | gebrauchs-fertig | 2 – 8 °C | bis zum Verfallsdatum |

**Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich (siehe auch unter www.milenia-biotec.de).**

# Erforderliche Materialien

* Pipetten
* Pipettenspitzen (mit Kontaminationsschutz für PCR)
* Reaktionsgefäße oder eine 96-well Mikrotiterplatte

# Nötige Entwicklungsarbeiten - Entwicklungsplattform

**Entwicklung zweier Lösungen (A und B), die jeweils zwei verschieden markierte Detektoren für den gesuchten Analyten enthalten.**

Es gelten folgende Rahmenbedingungen:

1. **Lösung A:** Detektoren müssen markiert werden mit:
   * FITC (Fluoreszeinisothiocyanat)
   * Biotin
2. **Lösung B:** Detektoren müssen markiert werden mit:
   * FITC (Fluoreszeinisothiocyanat)
   * Digoxigenin

3) Im Testsystem kann ca. 100 µl Flüssigkeit eingesetzt werden (Probe + Analyt-spezifische Lösungen, A und B).

4) Der im Kit enthaltene Puffer (MGCB2) kann als Basis für diese Analyt-spezifischen Lösungen verwendet werden.

Anwendungsbeispiel:  
20 µl Probe und 80 µl Analyt-spezifische Lösungen bei 5-minütiger Inkubation.

**Wichtig:  
Volumina, Analyt-spezifische Lösung und Inkubationszeit sind Teil der individuellen Testentwicklung!**

Eine Basis-Anleitung für den Nachweis von Gen-Amplifikaten ist unter „Testdurchführung PCR-Produkte“ auf Seite 15 beschrieben. Hierbei sollte das Amplifikationsprodukt biotinyliert und die spezifische Hybridisierungssonde mit FITC markiert sein. Im Prinzip können alle Amplifikationsmethoden (Polymerase-Kettenreaktion oder isothermale Amplifikationen wie LAMP oder RPA) eingesetzt werden.

# Methodik

Milenia® HybriDetect 2T ist ein gebrauchsfertiger, universeller Teststreifen (Dipstick), welcher auf der Lateralfluss-Technologie mittels Goldpartikeln basiert. Der Dipstick kann zur Entwicklung von qualitativen oder quantitativen Schnelltest-Systemen für den gleichzeitigen Nachweis von zwei verschiedenen Analyten wie Proteinen, Antikörpern oder Gen-Amplifikaten (z.B. PCR-Produkt und interne PCR-Kontrolle) verwendet werden. Der Anwender muss dazu zwei Analyt-spezifische Lösungen entwickeln. Es gelten folgende Rahmenbedingungen:

Lösung A / Analyt A: Ein Detektor (z.B. Antikörper, Antigen, Gensonde) wird FITC markiert, der zweite Detektor (z.B. Antikörper, Primer) mit Biotin.

Lösung B / Analyt B: Ein Detektor wird FITC markiert, der zweite Detektor mit Digoxigenin

(s. „Allgemeines Testprinzip“ Seite 13).

Die zu untersuchende Probe wird mit den entwickelten Analyt A- und B-spezifischen Pufferlösungen gemischt und der Dipstick dann in die Lösung gestellt

Der Analyt A-Komplex, markiert mit FITC und Biotin, bindet an die mit Gold-markierten FITC-spezifischen Antikörper im Probenauftrag des Dipsticks, genauso bindet der Analyt B-Komplex, markiert mit FITC und Digoxigenin, an die mit Gold-markierten FITC-spezifischen Antikörper. Durch Kapillarkräfte diffundieren die Gold-Komplexe A und B über die analytische Membran. Bei Überströmen des an der Testbande A immobilisierten Biotin-Liganden werden nur die mit Analyt-A gekoppelten Goldpartikel gebunden und bilden mit zunehmender Testzeit eine rot-blaue Testbande A. Bei Überströmen der an der zweiten Testbande B immobilisierten anti-Digoxigenin-Antikörpern werden nur die mit Analyt-B gekoppelten Goldpartikel gebunden und bilden mit zunehmender Testzeit eine rot-blaue Testbande B. Nicht abgefangene Goldpartikel überströmen die Kontrollbande und werden dort durch Spezies-spezifische Antikörper gebunden. Mit zunehmender Testzeit wird dort die Ausbildung einer intensiv gefärbten Kontrollbande beobachtet.

# Zusätzlich verfügbare Produkte

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Produktname** | **Bestell-Nr.** | **Inhalt** | **Beschreibung** |
| Milenia® HybriDetect | MGHD 1 | 100 Tests | Dipsticks mit **einer** Testbande |
| Milenia® HybriDetect HS | MGHT 1 | 40 Tests | Teststreifen mit **einer** Testbande in einem Plastikgehäuse |
| Milenia® POCScan Reader | MSCAN 1 | 1 Gerät | Auswertegerät für HybriDetect Produkte |
| Milenia® Carrier | MGCA 1 | 15 Stück | Halterung zum Einlegen von Milenia® Dipsticks in den Milenia® POCScan Reader |

# Allgemeines Testprinzip

Symbole:

1) Gebrauchsfertiger (Analyt-unabhängiger) Dipstick





**Proben-Auftragsstelle**

2) Zugabe von Probe, bzw. Analyt A- und B-spezifischer Lösung



3) Inkubation

4) Ergebnisse:

A-positiv, B-positiv A und B negativ





**Kontroll-Bande**

**Dipstick**

**Testbande B**

**Testbande A**

A positiv, B negativ A negativ, B positiv





**Kontroll-Bande**

**Dipstick**

**Testbande B**

**Testbande A**

# Kontroll-Bande Dipstick

**Die Kontroll-Bande muss immer sichtbar werden!**

Sie dient als Funktionskontrolle und kann nicht zur Beurteilung der Testbande herangezogen werden. Wenn die Kontroll-Bande nach der Inkubationszeit nicht sichtbar ist, ist das Ergebnis ungültig! Der Test muss mit einem neuen Dipstick wiederholt werden!

# Auswertung der Ergebnisse

Es gibt drei verschiedene Möglichkeiten die Milenia® HybriDetect 2T Dipstick-Ergebnisse auszuwerten:

**1) Qualitativ: visuelle Auswertung**

z.B.: A, B negativ A, B positiv



Kontrol-Bande

Testbande B

Testbande A

**2) Semi-quantitativ mit Auswertekarte**



**3) Quantitative Auswertung mittels Milenia® POCScan Reader und dazugehöriger Software**



# Testdurchführung „PCR Produkte“

**1.** Die erforderliche Anzahl Dipsticks aus dem Röhrchen



nehmen und beschriften.

**2.** Für jede zu untersuchende Probe **100 µl** HybriDetect Puffer bzw. individuell entwickelten Puffer in einzelne Reaktionsgefäße oder in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte vorlegen.

**3.** **5 – 10 µl** des Hybridisierungsansatzes direkt auf den Probenauftrag pipettieren oder

**alternativ: 5 – 10 µl** des Hybridisierungsansatzes zu der Lösung im Reaktionsgefäß / in die Vertiefung einer Mikrotiterplatte pipettieren.

**4.** Dipsticks mit dem Probenauftrag in die Lösung stellen und z.B. **5 - 15 Minuten** aufrecht stehend inkubieren.

**5.** Nach Ablauf der Testzeit die Dipsticks aus der Lösung nehmen und auswerten.

**Hinweise:**

**Für eine höhere Nachweisempfindlichkeit des Tests kann es hilfreich sein, ein größeres Volumen des PCR-Produktes einzusetzen.**

**Volumina, Pufferlösungen und Inkubationszeit sind immer Teil der individuellen Testentwicklung!**

# Interpretation der „PCR“-Ergebnisse

**Verwendung mit interner PCR-Kontrolle:**

Während das Biotin-markierte **Amplikon A** hauptsächlich für den spezifischen Nachweis einer bestimmten Zielsequenz verwendet wird, ist das Digoxigenin-markierte **Amplikon B** als interne PCR-Kontrolle vorgesehen.



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Testbande A** | **Testbande B** | **Kontrollbande** | **Interpretation** |
| positiv | positiv | positiv | 🞄 Kontrollbande ist positiv, gültiger Testlauf 🞄 **Amplikon A ist nachweisbar (positiv)**  🞄 interne PCR-Kontrolle (Amplikon B) ist positiv |
| negativ | positiv | positiv | 🞄 Kontrollbande ist positiv, gültiger Testlauf 🞄 **Amplikon A ist nicht nachweisbar (negativ)** 🞄 interne PCR-Kontrolle (Amplikon B) ist positiv |
| positiv | negativ | negativ | 🞄 Testläufe sind ungültig, da Kontrollbande nicht nachweisbar ist  🞄 Testläufe wiederholen |
| negativ | positiv |
| negativ | negativ |
| negativ | negativ | pospositiv | 🞄 Testläufe sind ungültig  🞄 Schnelltest ist ordnungsgemäß entwickelt, da die Kontrollbande positiv is  🞄 Amplifikationsreaktionen sind nicht  ordnungsgemäß verlaufen (Amplikon B ist nicht nachweisbar)  🞄 Amplifikationsreaktionen wiederholen |
| positiv |

# Fehlerquellen und Lösungen „PCR“

| Problem | Mögliche Ursache | Empfehlung |
| --- | --- | --- |
| Es ist keine Kontrollbande sichtbar. | a) falscher oder nicht mehr funktionsfähiger Assaypuffer  b) Haltbarkeit der Dipsticks überschritten  c) falsche Lagerung der Dipsticks | Neue Chemikalien verwenden |
| Mit dem Teststreifen wird ein negatives Ergebnis erhalten, aber auf einem Agarosegel ist eine Bande sichtbar. | a) Die Bande auf dem Gel resultiert von einem unspezifischen PCR-Produkt  b) Die Hybridisierung war nicht erfolgreich | PCR-Produkt auf Identität überprüfen (z. B. Southern  Blot oder Sequenzierung)  Hybridisierungsbedingungen überprüfen. |
| Mineralöl | a) Mineralöl verändert die Fließeigenschaften des Testsystems.  b) Die Entwicklung der Banden könnte verlangsamt oder verhindert sein. | PCR-Produkt langsam vom Boden des Reaktionsgefäßes pipettieren. |

# Testsensitivität „PCR“

Die analytische Sensitivität des Milenia® HybriDetect 2T entspricht derjenigen eines mit Ethidiumbromid gefärbten Agarosegels. Abhängig von der Größe des PCR-Produktes sowie der Zahl der durchgeführten Amplifikationszyklen können bis zu 5 pg DNS nachgewiesen werden.

# Literatur-Referenzen

Kiatpathomchai W, et al, J Virol Methods (2008); 153: 214-217

Puthawibool T, et al, J Virol Methods (2009); 156 (1-2): 27-31

Jaroenram W, et al, Mol Cell Probes (2009); 23 (2): 65-70

Nimitphak T, et al, Mol Cell Probes (2009); 24 (1): 1-5

Kikuchi T, et al, Nematology (2009) ; 99 (12): 1365-1369

Piepenburg O, et al, PloS Biology 2006, Volume 4, Issue 7, e204

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Date/ Datum** | **Revision** | **Cause of Revision/ Änderungsgrund** |
| 10.01.2013 | MGHD2 / B / 2013-01-10 | Symbols adapted according DIN EN ISO15223 Symbole gemäß DIN EN ISO15223 angepasst |
|  |  |  |
|  |  |  |