



Milenia GenLine – Direktnachweis bierschädigender Bakterien aus Abstrichen (swabs)

Hintergrund

Aus mikrobiologischer Sicht gibt es in der Brauerei kritische Bereiche, an denen produktschädigende Mikroorganismen in das Bier gelangen können. Diese Bereiche werden routinemäßig intensiv gereinigt und zur Begutachtung einer permanenten Hygienekontrolle unterzogen.

Für die Untersuchung von Hygiene-Abstrichen in Brauereien wird vornehmlich die klassische Kultivierung herangezogen. Speziell bei der Detektion anaerob wachsender Keime wie *Megasphaera* und *Pectinatus* Arten sind zum Teil jedoch mehrere Wochen für einen sicheren Nachweis erforderlich

Hier verstreicht wertvolle Zeit, in der bereits ein mikrobielles Sicherheitsproblem vorliegen könnte.

Die passende Lösung ...

Mit den PCR-Nachweisen von Milenia Biotec GmbH können bierschädigende Bakterien **direkt aus Abstrich-Proben (swabs)** nachgewiesen werden. Dadurch erhalten Sie die Möglichkeit auf mikrobiologische Schwachstellen zeitnah zu reagieren.





Von Arbeitern und heimlichen Mitbewohnern

Die Brauerei ist ein Ort an dem nicht nur Menschen Arbeit verrichten, um ein qualitativ hochwertiges Produkt zu produzieren. Bei der Bierherstellung handelt es sich um einen biotechnologischen Prozess, bei dem bewusst **Mikroorganismen** genutzt werden. Die Rede ist natürlich von einem der fleißigsten Mitarbeiter im Betrieb: der Brauhefe.

Aus Sicht von Mikroorganismen ist die Brauerei aber nicht nur Arbeitsplatz, sondern vielmehr eine ganz besondere **ökologische Nische**. Und in dieser Umgebung tummeln sich einige Zeitgenossen, die dem Produkt erhebliche qualitative Mängel zufügen können.

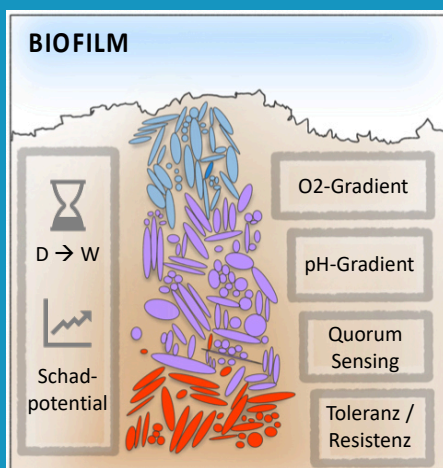


Wenn Leben ins Bier kommt

Im Bereich des direkten Füllerumfelds kommt die geöffnete Flasche, sowie das Produkt mit der Umgebung in Kontakt. Durch hohe Luftfeuchte, viel Bewegung und ständig überfließendes Bier ist dieser Bereich trotz intensiver Reinigungen immer wieder anfällig für mikrobielles Wachstum. Gerade in den warmen Monaten des Jahres können sich Biofilme in rasanter Geschwindigkeit aufbauen und ein Milieu schaffen, in dem bierschädigende Mikroorganismen wachsen. Aus diesem Grund ist das Thema Sekundärkontamination allgegenwärtig. Ein engmaschiges mikrobiologisches Monitoring ist gerade in diesem Bereich als besonders wichtig zu erachten.

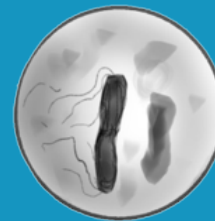


Anwesenheit von Mikroorganismen, Keimdruck, Anwesenheit potentieller und obligater Bierschädiger: Das Mittel der Wahl zur Identifizierung ist der **Hygieneabstrich**.



Aus biologischer Sicht sind Biofilme extrem spannende Lebensformen. Es handelt sich hierbei um sehr **komplexe** und variable Lebensgemeinschaften verschiedenster Spezies, darunter: Bakterien, Pilze, Algen und Protozoen.

In der Brauerei können sich Biofilme mit **Schädigungspotential** rasch aufbauen. Baut sich ein Biofilm gerade im Füllerumfeld so weit auf, dass anaerobes Wachstum im Biofilm möglich wird, treten neben **produktschädigenden Milchsäurebakterien** auch weitere obligate Schädiger auf den Plan. In der Praxis spielen die Bakteriengattungen **Megasphaera** und **Pectinatus** eine entscheidende Rolle.



Diese obligat anaerob wachsenden Bakterien sind besonders gefürchtet. Kontaminationen in zumeist nicht pasteurisierten Bieren haben für die Produktqualität z.T. verheerende Folgen.

Eintrübungen und Fehlgerüche, die an einen kanalartigen Geruch erinnern, sind charakteristisch für das Schadbild. Der kulturelle Nachweis gestaltet sich häufig schwierig und ist relativ zeitintensiv. Dabei sind entsprechende Befunde für das Brauereilabor von großer Bedeutung im übergeordneten Brauereikontext.

Statistische Häufigkeit Bierschädigender Bakterien

<i>Lactobacillus brevis</i> [40,9%]		<i>Lactobacillus (para-)casei</i> [10,5%]	<i>L. lindneri</i> [6,5%]	<i>Ped. damnosus</i> [5,2%]
	Other <i>Lactobacillus</i> spp.* [20,5%]	<i>Lactobacillus backi</i> [9,7%]	<i>Pect. **</i> Gruppe	<i>Mega*</i> **

Schneiderbanger et al. 2017 TUM BLQ Weihenstephan: „Statistical evaluation of beer spoilage bacteria by real-time PCR analyses from 2010-2016“



Ein in der Brauereimikrobiologie häufig auftretendes Phänomen ist die Ansammlung hochspezialisierter Bakterien, insbesondere in Biofilmen. Diese Bakterien werden als vital, jedoch nicht kultivierbar eingestuft **‘Viable But Non-Culturable’** (VBNC-Zustand). *Lactobacillus acetotolerans* ist ein gutes Beispiel für einen potentiellen Schädiger, der in Standard-Anreicherungsmedien sehr schlecht wächst. **Mit einem PCR-basierten Direkt-Analytik werden solche Organismen jedoch nachweisbar.**

Die Idee hinter dem Produkt



In enger Kooperation mit Praxispartnern wurde der Wunsch formuliert, insbesondere obligat anaerob wachsende Bierschädiger direkt aus einem Abstrich nachzuweisen.

Der kulturbasierte Nachweis dauert einfach sehr lange, sodass die Ergreifung echter Gegenmaßnahmen praktisch unmöglich wird.

Gerade in den warmen Sommermonaten, wenn viel Bier abgefüllt werden muss und Bakterien richtig in Fahrt kommen, geht der Überblick über den mikrobiologischen Status durch lange Anreicherungszeiten schnell verloren.

Aus diesem Grund sind Ergebnisse, die am Tag der Probenahme zur Verfügung stehen, besonders wertvoll.

Herkömmliche Methode-

Anreicherung obligater Anaerobier



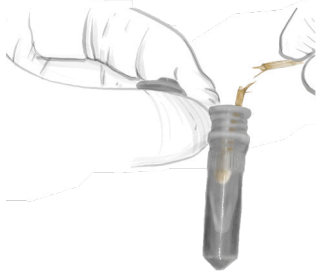
Dauer bis zum Ergebnis: Tage bis Wochen

Die kulturelle Anreicherung erfolgt unter recht selektiven Bedingungen unter der Verwendung von bspw. alkoholfreiem Bier. Die verwendeten Volumina sind häufig groß (0,2 – 0,5 L). Eintrübungen sind im Falle einer Kontamination nach einigen Tagen bis **mehreren Wochen** erkennbar.

Methode swabPCR - 3 Schritte bis zum Ergebnis

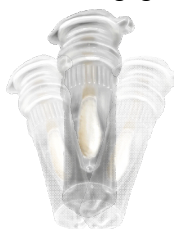
Schritt 1: Extraktion aus dem Abstrichtupfer (swab)

Mechanisches
Aufbrechen des Biofilms
durch kräftiges Drehen
des Abstrichtupfers
(swab).

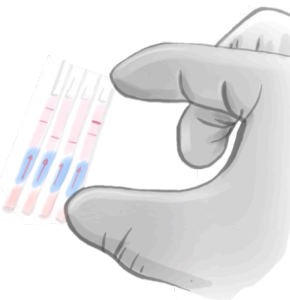


Um alle Bestandteile des
Biofilms vom
Abstrichtupfer zu
erhalten, werden die
Röhrchen zentrifugiert.

Nach ausgiebigem Mischen
werden 2 µL in den PCR-Mix
gegeben.



Der Abstrichtupfer wird
abgebrochen, und der
Milenia Swab Extraktions-
puffer aufpipettiert



Nach der PCR erfolgt
die Auswertung über
Lateral Flow Teststreifen.

Schritt 2: DNA-Amplifikation

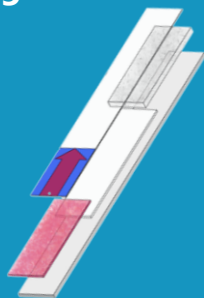
Die Nachweisführung der Milenia GenLine Test erfolgt PCR-basiert. Hierbei werden sehr spezifisch Bruchstücke der bakteriellen Erbinformationen vermehrt.

Diese enzymbasierte DNA-Vervielfältigung findet in einem Thermocycler statt, der sehr schnell und definiert gewünschte Temperaturprofile wiedergibt.

Die PCR dauert ca. 50 Minuten.

Schritt 3: Lateral Flow Technologie

Die resultierenden PCR-Produkte lassen sich einfach und schnell mit dem Lateral-Flow-Teststreifen des Universalmoduls (REF: MGUP 1) nachweisen. 2 µl der PCR-Probe werden direkt auf den Streifen pipettiert, der anschließend für 5 Minuten in einen Puffer getaucht wird. Der Streifen ist so einfach zu interpretieren wie ein Schwangerschaftstest.



Lateral-Flow-Teststreifen

Dauer von Probenahme bis zum Ergebnis in ca. 2 Stunden



Fazit:

Das **Milenia swabPCR-System** ermöglicht den direkten Nachweis obligater Schädiger aus Abstrichproben. Explizite Hygieneschwachstellen und Hotspots im Biofilmaufbau können so schnell und einfach überwacht werden.

In Praxisversuchen korrelierte der Milenia GenLine *Megasphaera/Pectinatus* Nachweis mit der Referenz-Kultivierung.

- ▼ Sensitiv und spezifisch
- ▼ Interne PCR-Kontrolle im Test
- ▼ Positive Kontrollen im Kit enthalten
- ▼ Direkter Probeneinsatz ohne DNA-Reinigung
- ▼ Geringe Investition in Geräte
- ▼ Geringe Beeinflussung durch Hefe
- ▼ Einfache und schnelle Aufarbeitung des Probenmaterials
- ▼ Robuste Nachweisführung
- ▼ Ergebnisse in 2h

Bestellinformationen

Milenia Extraktion aus Abstrichen (swabs)

Produkt	REF	Inhalt
<u>Swab Extraktionspuffer</u>	MGSDb	10 ml
<u>Milenia GenLine Extraktionssystemtem</u>	MGES 1	1000 Reaktionen

PCR und Lateral Flow Auswertung

<u>PCR-Universalmodul</u>	MGUP 1	48 Tests
Das Universalmodul wird immer in Kombination mit den PCR-Modulen verwendet.		
PCR-Module		
<u>Lactobacillus/Pediococcus-Screen</u>	MGScLP 1	48 Tests
<u>Hopfenresistenzgen-Screen</u>	MGScHOR 1	48 Tests
<u>Megasphaera/Pectinatus-Screen</u>	MGScMP 1	48 Tests

Zubehör

<u>LabCycler 48s - PCR-Thermocycler</u>	MLCY	1 Gerät
---	------	---------

Haben Sie Fragen an uns, Wünsche oder Anregungen? Kontaktieren Sie uns jederzeit.



Milenia Biotec GmbH

Versailler Str. 1

35394 Gießen

Deutschland



www.milenia-biotec.com



info@milenia-biotec.de



+49 641 948883-0