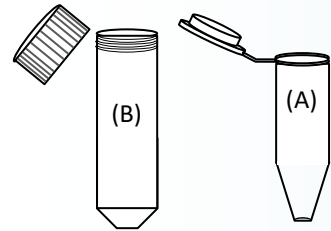


Probenaufarbeitung aus Abstrich-Tupfern

Nachweis von bierschädigenden Bakterien

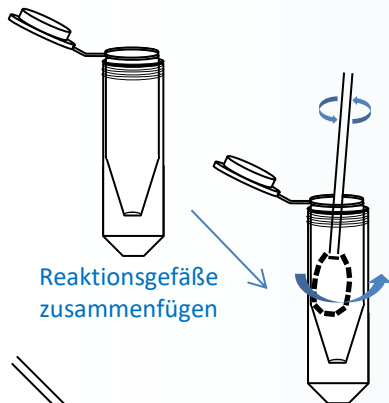
Hinweis: Für die Bearbeitung der Abstrich-Proben (swabs) wird das S.E.T.S. (swab extraction tube system) der Firma Roche verwendet.



Achtung: Bei der Probennahme ist darauf zu achten, dass der Abstrich-Tupfer (swab) nicht mit zu viel Biomasse (Biofilm / Schleim) oder ölhaltigen Verschmutzungen beladen ist. Dies kann zur Inhibierung der PCR führen!

Probenaufarbeitung :

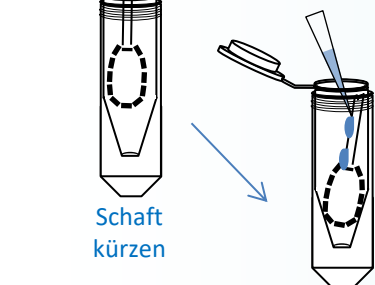
1. Das Reaktionsgefäß (A) in das Reaktionsgefäß (B) stellen.
2. Direkt nach der Probennahme den *swab* in das Reaktionsgefäß (A) überführen und mindestens 10 mal kräftig an der Eppi-Innenwand entlang drehen.
3. Den Schaft abtrennen und 100 μ l *swab extraction buffer* auf den *swab* geben. Puffer langsam über den verbliebenen Schaft auf den *swab* laufen lassen. Eppi verschließen und mindestens 2 min bei RT inkubieren.
4. Die Proben für 1 min zentrifugieren ($> 10.000g$). Reaktionsgefäß (A) verwerfen und Reaktionsgefäß (B) mit Deckel verschließen. Das Eluat mittels Vortex für ca. 1 min kräftig resuspendieren. Abschließend 2 μ l entnehmen und für den jeweiligen PCR-Nachweis verwenden!



ReaktionsgefäÙe zusammenfügen



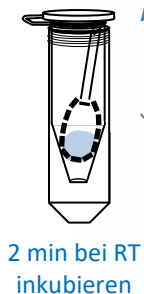
swab kräftig drehen + reiben



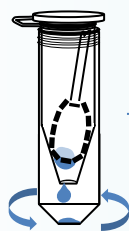
Schaft kürzen



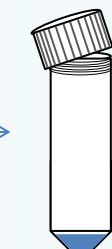
Puffer hinzugeben



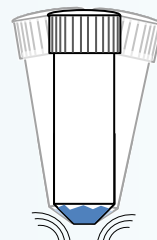
2 min bei RT inkubieren



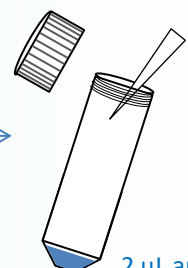
1 min zentrifugieren



verschließen



ca. 1 min intensiv vortexten



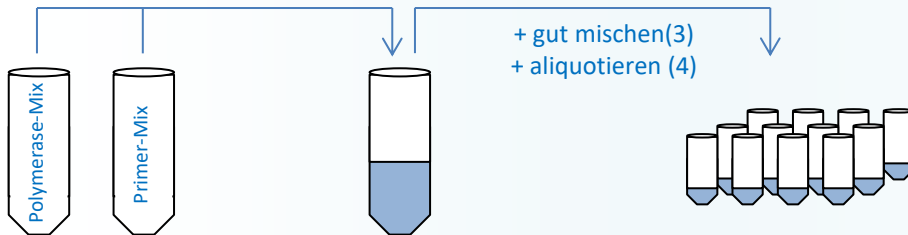
2 μ l aus dem Eluat in die PCR einsetzen

Hinweis: Das Eluat im Reaktionsgefäß (B) kann bei -20°C gelagert und zu einem späteren Zeitpunkt untersucht werden.

A. Vorbereitung des Reaktionsmix

- 1) Pro Reaktion 13 μL Polymerase-Mix mit 11 μL Primer-Mix mischen
- 2) Gründlich vermischen (per Vortex)
- 3) Je 23 μL Mix in ein steriles PCR-Gefäß pipettieren

Hinweis: Polymerase-Mix und Primer-Mix vor Verwendung vollständig auftauen und mischen. Die Lösungen zügig pipettieren, um das Kontaminationsrisiko so gering wie möglich zu halten.

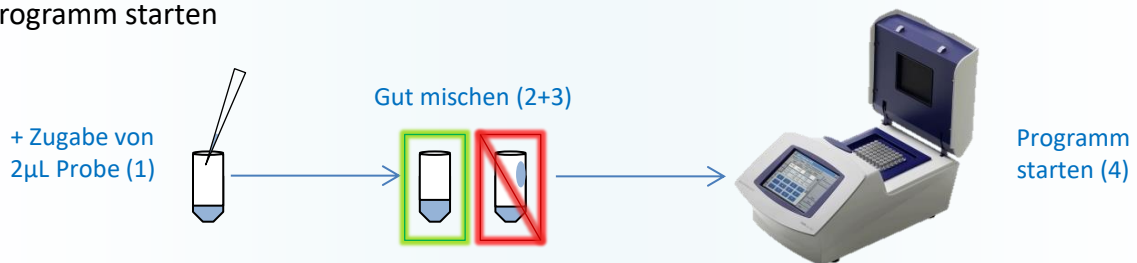


Anzahl Reaktionen	Polymerase-Mix	Primer-Mix
1	13 μL	11 μL
5	65 μL	55 μL
10	130 μL	110 μL
20	260 μL	220 μL

B. Durchführung der Amplifikationsreaktion

- 1) In einen vorbereiteten Reaktionsmix werden 2 μL Probe gegeben
- 2) Das Gesamtvolumen von 25 μL gut mischen (Pipette/ Vortex)
- 3) Stellen Sie sicher, dass das Gesamtvolumen am Boden des Gefäßes ist
- 4) Jedes Reaktionsgefäß in den Thermocycler stellen und das entsprechende Programm starten

Hinweis: Bitte nicht vergessen, alle Reaktionsgefäße gut zu beschriften. Vergewissern Sie sich das korrekte Programm zu wählen.



C. Analyse über den universellen Teststreifen

- 1) 80 μL Laufpuffer je zu analysierender Probe in 96-well-Platte vorlegen
- 2) 2 μL der Amplifikationsreaktion auf die Auftragsfläche des Teststreifen geben
- 3) Den Teststreifen aufrecht in den vorgelegten Laufpuffer stellen
- 4) Nach 5 Minuten dokumentieren

Hinweis: Unbedingt jeden Teststreifen exakt beschriften, damit es nicht zu Verwechslungen kommt.

