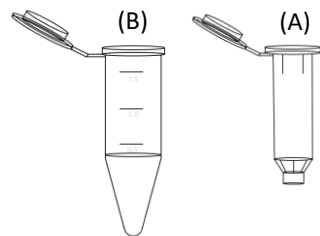


# Probenaufarbeitung aus Abstrich-Tupfern

## Nachweis von bierschädigenden Bakterien

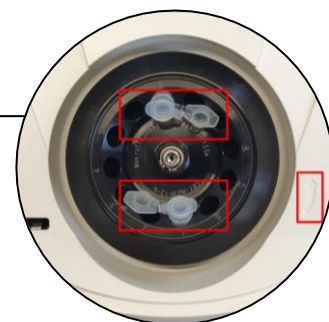
**Hinweis:** Für die Bearbeitung der Abstrich-Proben (swabs) wird das Extraktionssystem (MGES 1) von Milenia Biotec verwendet.



**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!

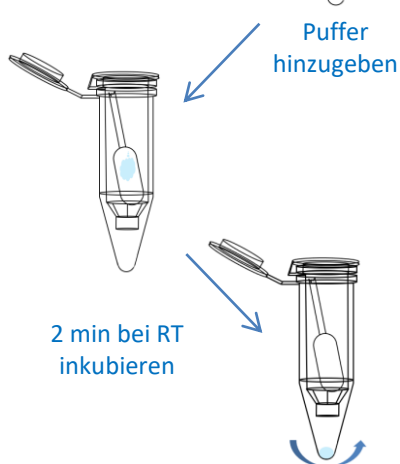
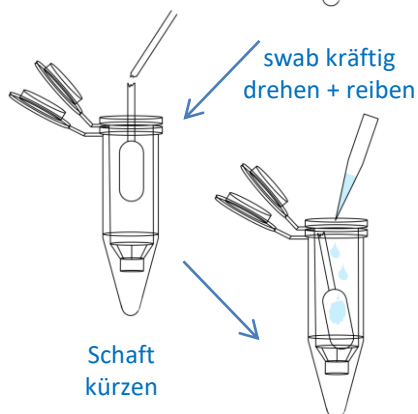
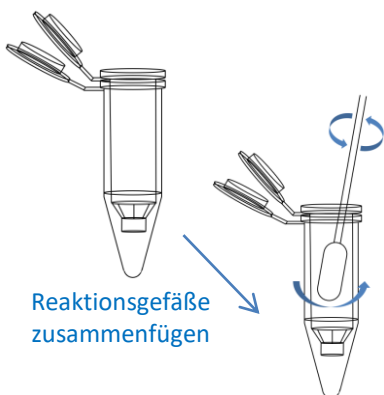
### Probenaufarbeitung :

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 Gefäßinnenwand entlang drehen.
3. Den Schaft abtrennen und 100  $\mu$ l *swab detection buffer* (MGSDB) auf den *swab* geben. Puffer langsam über den verbliebenen Schaft auf den *swab* laufen lassen. Reaktionsgefäß (A) verschließen und mindestens 2 min bei RT inkubieren.
4. Die Proben für 1 min zentrifugieren (> 10.000g). Dabei den Deckel entgegen der Rotationsrichtung positionieren. Reaktionsgefäß (A) werfen und Reaktionsgefäß (B) verschließen.

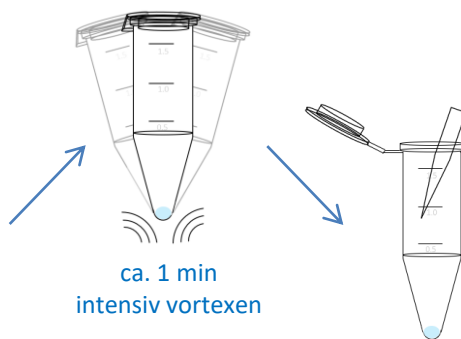


5. Das Eluat mittels Vortexer für ca. 1 min kräftig resuspendieren. Abschließend 2  $\mu$ l entnehmen und für den jeweiligen PCR-Nachweis verwenden!

**Hinweis:** Das Eluat im Reaktionsgefäß (B) kann bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert und zu einem späteren Zeitpunkt untersucht werden.



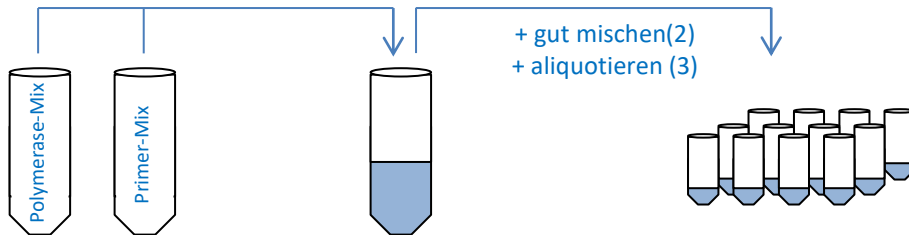
1 min zentrifugieren



2  $\mu$ l aus dem Eluat in die PCR einsetzen

### A. Vorbereitung des Reaktionsmix

- 1) Pro Reaktion 13  $\mu\text{L}$  Polymerase-Mix mit 11  $\mu\text{L}$  Primer-Mix mischen
- 2) Gründlich vermischen (per Vortex)
- 3) Je 23  $\mu\text{L}$  Mix in ein steriles PCR-Gefäß pipettieren



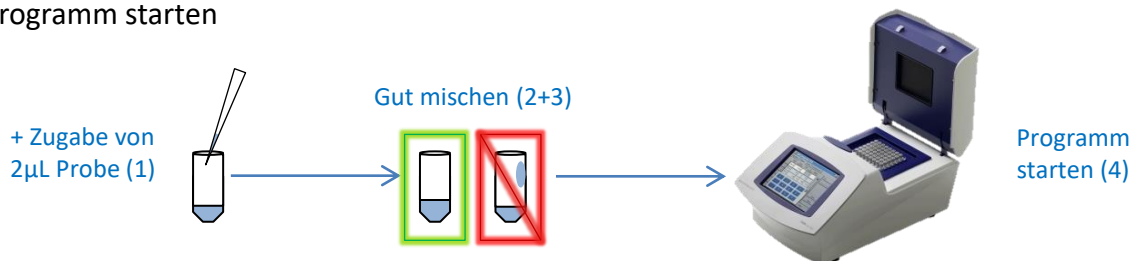
**Hinweis:** Polymerase-Mix und Primer-Mix vor Verwendung vollständig auftauen und mischen. Die Lösungen zügig pipettieren, um das Kontaminationsrisiko so gering wie möglich zu halten.

Anzahl Reaktionen	Polymerase-Mix	Primer-Mix
1	13 $\mu\text{L}$	11 $\mu\text{L}$
5	65 $\mu\text{L}$	55 $\mu\text{L}$
10	130 $\mu\text{L}$	110 $\mu\text{L}$
20	260 $\mu\text{L}$	220 $\mu\text{L}$

### B. Durchführung der Amplifikationsreaktion

- 1) In einen vorbereiteten Reaktionsmix werden 2  $\mu\text{L}$  Probe gegeben
- 2) Das Gesamtvolumen von 25  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  Laufpuffer je zu analysierender Probe in 96-well-Platte vorlegen
- 2) 2  $\mu\text{L}$  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.

