

Kurz-Protokoll (im Überblick)

AMODIA easyFlow® QC Combo 1

Anreicherungskultur vorhanden?




JA

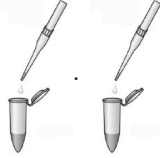

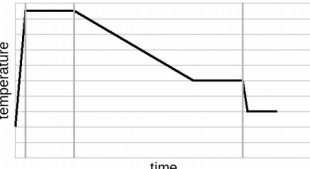

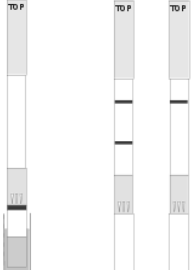
weiter mit Schritt 1.1



NEIN

Anreicherungskultur durchführen!
(Materialien nicht im Kit enthalten)

Beispiel für flüssige Anreicherungskulturen		z.B.: 1 g Produkt 9 g Inaktivatorlösung 90 ml Nährmedium Inkubation z.B. 24 Std., 30°C - 35°C
--	---	---

1.1 Vorbehandlung	1x Gefäß E (Escherichia/Shigella) 1x Gefäß P (<i>P. aeruginosa</i>) 1x Gefäß S (<i>S. aureus</i>) 	Für jede Spezies/Gruppe (drei Gefäße pro Probe): 1 ml aus Anreicherungskultur in 1,5 ml Reaktionsgefäß überführen 10 min Zentrifugieren bei 13'000g Überstand verwerfen 100 µl Suspendierungspuffer: Pellet resuspendieren (alternativ: 1 mg/ml Lysostaphin und anschließend inkubieren bei 37°C für 10 min)
1.2 Hybridisierungsansatz	E: P: S: 	Drei Mastermixe für alle Reaktionen ansetzen. Pro Probe jeweils drei Ansätze vorlegen: 30 µl Hybridisierungspuffer (fablose Kappe): alle 5 µl Sondenmix (rote Kappe): nur E/S-Gruppe 5 µl Sondenmix (blaue Kappe): nur P. aeruginosa 5 µl Sondenmix (grüne Kappe): nur S. aureus Dann einzeln hinzufügen 100 µl Probe (aus Schritt 1.1) in jedes Gefäß
1.3 Hybridisierungsreaktion		Temperatureinstellungen: • 95°C, 5 min • Rampe mit Kühlrate 0,1°C/s bis 50°C • 50°C, 5 min • 30°C
2.1 LFD-Detektion - Auftrag		10 µl Reaktionsansatz auf den LFD Streifen Die Zuordnung zwischen den Mixen und den Streifen beachten (E → E, P → P, S → S)
2.2 LFD-Detektion - Entwicklung		150 µl Chromatographiepuffer (Blaue Kappe) LFD Streifen in den Chromatographiepuffer stellen 20 min LFD Streifen bei RT entwickeln Resultat ablesen