

Anlage von Mykoplasmen-Referenzkeimen für die Verwendung in einer Kryobank mit Hilfe des Mycoview® Systems

Für die **Anzucht** der Mykoplasmen-Referenzkeime (z.B. *Ureaplasma parvum* ATCC 27813, *Mycoplasma hominis* ATCC 15488) wird das Produkt **Mycoview® Screen 40 Quantum** (MD1002565) benötigt.

Die Mykoplasmen-Referenzkeime dienen der **Qualitätskontrolle** der **Mycoview® ID 20 Quantum** (MD1002566) und **Mycoview® RT 20 Quantum** (MD1002567) Testkits.

Steriles Arbeiten und Beschriftung aller Komponenten und Röhrchen zur eindeutigen Zuordnung wird vorausgesetzt.

Anzucht von lyophilisierten Mykoplasmen-Keimen mit dem Mycoview® Screen 40 Quantum

1. Das Transportmedium (T-Broth, 2 ml) auf Raumtemperatur bringen. Das Lyophilisat des Referenzkeims mit Hilfe einer 1000 µl Pipette im Transportmedium auflösen. Sanft auf und ab pipettieren. Dabei löst sich das dunkle Trägerpapier des LYFO DISK® langsam auf und schwimmt in Fragmenten in der farblosen Flüssigkeit herum.
2. 500 µl des angeimpften Transportmediums in das Fläschchen mit dem C-Medium (= Anzuchtmedium mit Lyophilisat auf dem Boden des Fläschchens) überführen. Das lyophilisierte Medium vorsichtig mit der Pipette lösen. Das Fläschchen wieder verschließen und bei 36±1°C für 24 Stunden inkubieren.
3. Verbleibende 1,5 ml angeimpftes Transportmedium verschließen und im Kühlschrank aufbewahren (für mindestens 48 Stunden nach erstem Animpfen kann das Medium für weitere Verwendungen aufbewahrt werden).
4. Nach 24 Stunden das Wachstum des Keims überprüfen. Deutliche rot/pink Färbung des Mediums zeigt eine gelungene Anzucht des Keims an. Sollte das Medium sich erst nach gelb/orange-rötlich verfärbt haben, weitere 24 Stunden im Brutschrank inkubieren.
5. 4-5 Kryoröhrchen beschriften (Name des Stamms, ggf. Datum). In jedes Kryoröhrchen 100 µl des bewachsenen rot/pinken C-Mediums überführen. Mit der Pipette **vorsichtig** 2x auf und ab pipettieren, danach den Überstand abnehmen und anschließend alle Röhrchen in der Kryobank verwahren (Lagerung der Kryobank bei -20°C).

Überprüfung des Erfolgs der Kryobank-Anlage

1. Ein Kügelchen aus dem angeimpften Kryoröhrchen in ein Fläschchen C-Medium überführen und mit 500 µl eines neu geöffnetem Transportmediums befüllen. Vorsichtig das Lyophilisat durch pipettieren lösen. Das Fläschchen wieder verschließen und bei 36±1°C für 24 Stunden inkubieren.
Bei Erstanlage vor dem ersten Einfrieren diesen Test durchführen und nach 24 Stunden mit einem gefrorenen Kryo-Kügelchen wiederholen.
2. Nach 24 oder 48 Stunden sollte eine deutliche rot/pink Färbung des C-Mediums das Wachstum der Mykoplasmen bestätigen.