

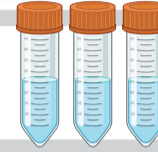
## Schrittweise Anleitung

## Warnungen

1. Alle Geräte einschalten.



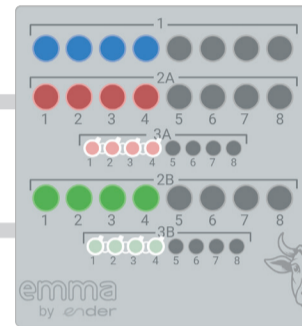
2. Proben mit den Nummern 1–8 beschriften und sie der Reihenfolge nach in einem geeigneten Gestell platzieren.



3. Das Programm «Real-time PCR system» auf dem Analyse-Laptop starten und alle nötigen Daten eingeben.



4. Die benötigte Anzahl **Röhrchen 1** vorbereiten und mit Probenamen/-nummer beschriften. In den Kühlblock stellen.



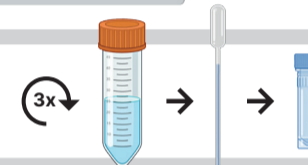
5. Die benötigte Anzahl Röhrchen von Komponente **2A** and **2B** und an die entsprechende Stelle im Kühlblock stellen.

Die Flüssigkeit runterschütteln. Nicht verwendete Röhrchen sofort zurück in den Kühlschrank stellen.

6. Von Komponenten **3A** and **3B** jeweils benötigte Menge der Streifen zuschneiden und an die entsprechende Stelle im Kühlblock stellen.

Die Flüssigkeit runterschütteln. Nicht verwendete Röhrchen sofort zurück ins Gefrierfach stellen.

7. Die Proben 3-mal invertieren und ~0.5ml jeder Probe mit einer neuen Pasteurpipette in das dazugehörige **Röhrchen 1** transferieren.



8. Die Proben homogenisieren (40s, bei 4350xg), dann die Röhrchen zurück in den Kühlblock stellen.

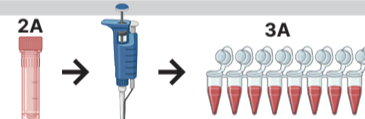


9. Aus dem **Röhrchen 1**, 10 µl vorsichtig entnehmen und direkt ins Röhrchen **2A** geben. Mit derselben Spitze, gut auf- und abpipettieren (10–20-mal), bis eine homogene Lösung entsteht.

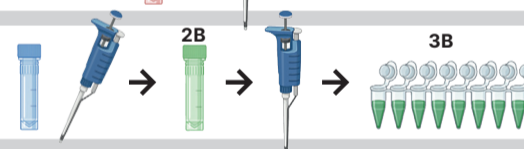


Volume von der Schicht zwischen Fett (die oberste Schicht) und Kügelchen.

10. Mit derselben Spitze 10 µl des Gemischs aufsaugen und ins Röhrchen **3A** geben, ohne zu mischen. Den Deckel des Röhrchens schliessen.



11. Schritte 9–10 **mit einer neuen Pipettenspitze**, mit Komponente **2B** und **3B** wiederholen.



12. Für die weiteren Proben **mit einer neuen Pipettenspitze** Schritte 14–18 wiederholen.

13. Die Streifen leicht auf den Tisch klopfen und kontrollieren, dass die ganze Flüssigkeit unten im Röhrchen ist.

Sicherstellen, dass alle Deckel gut verschlossen sind. **WICHTIG!** Dies hilft, dass die gesamte Probe mit den Reagenzien vermischt wird

14. Die Streifen der Komponenten **3A** und **3B** in den Gentier Mini+ stellen und auf die Farbmarkierungen achten. Den Deckel des Geräts anschliessend zudrücken bis er einrastet.



**ACHTUNG!** Die Öffnung der Röhrchen zeigt immer nach vorne und von links mit Auffüllen beginnen.

15. Am Laptop das PCR-Programm starten. Nach dem Lauf wird die Datei automatisch exportiert.

START

16. Wenn das Gerät mit den Messungen fertig ist, die Analyse-Software im Web-Browser unter [pcr.emma.vet](http://pcr.emma.vet) öffnen und sich einloggen.

17. Die zu importierende Datei im Ordner «lis» (in Quick Access) auswählen, und danach auf «Importieren» klicken.

18. Die Resultate exportieren oder drucken, je nach Bedarf. Sollte die Probe als Resultat «Invalid» erhalten, sollte sie wiederholt werden. Dazu werden 10µl der homogenisierten Probe aus Röhrchen 1 zur Komponente 4 «Magic tube» geben. Anschliessend das Röhrchen 4 invertieren, sodass sich die Probe gut mischt. Weiter mit Röhrchen 4 analog zu Schritt 9 bis zum Ende dieses Protokolls fortfahren.

19. Geräte ausschalten und Arbeitsplatz aufräumen und reinigen.