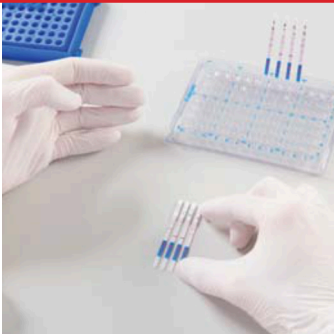




milenia biotec



## Nachweis bierschädigender Keime

einfach, schnell, zuverlässig

**Milenia GenLine**

## Inhalt

<a href="#">Über uns</a>	3
<a href="#">Milenia GenLine</a>	4
<a href="#">Technologie</a>	5
<a href="#">Benötigte Laborausstattung</a>	8
<a href="#">Probenvorbereitung</a>	9
<a href="#">Testdurchführung</a>	10
<a href="#">Interpretation der Testergebnisse</a>	11
<a href="#">Milenia GenLine Lactobacillus / Pediococcus Screening</a>	12
<a href="#">Leistungsdaten Milenia GenLine Lactobacillus / Pediococcus Screening</a>	15
<a href="#">Milenia GenLine Hopfenresistenz Screening</a>	16
<a href="#">Leistungsdaten Milenia GenLine Hopfenresistenz Screening</a>	17
<a href="#">Verfügbare Produkte</a>	18
<a href="#">Eigenschaften und Vorteile von Milenia GenLine</a>	19
<a href="#">Kontaktdaten</a>	20

## Über uns

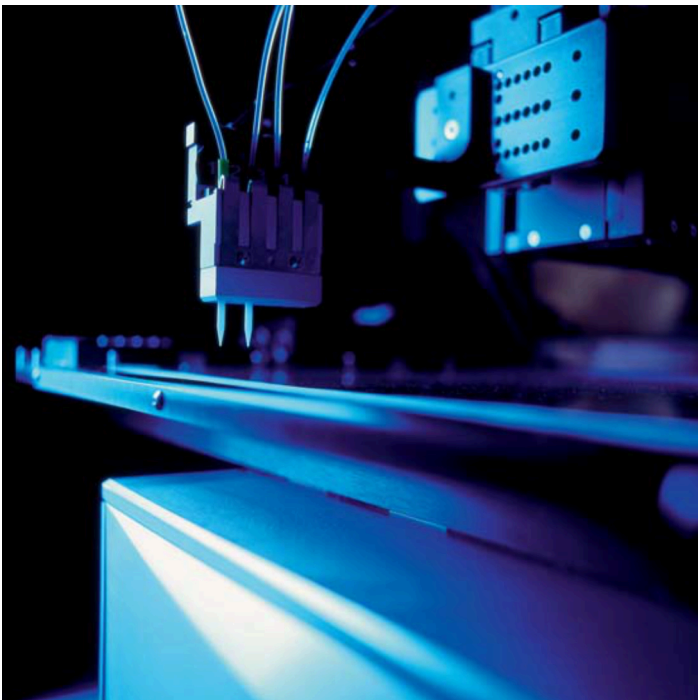
Milenia Biotec GmbH wurde im Jahr 2000 gegründet und beschäftigt sich mit der Entwicklung, der Produktion und dem Vertrieb diagnostischer Schnelltests, die auf der Technologiebasis der Lateral Flow Tests aufsetzen. Das bekannteste Beispiel ist der Corona Schnelltest.

Die Produkte sind sehr einfach in der Handhabung und können entweder visuell oder mit einfachen Geräten ausgewertet werden. Ergebnisse stehen in kurzer Zeit zur Verfügung.

Um in Hinblick auf Service und Qualität Produkte zur Verfügung zu stellen, die die Erwartungen unserer Kunden erfüllen, hat Milenia Biotec GmbH bereits seit dem Jahr 2003 ein Qualitätsmanagementsystem eingeführt, das nach EN ISO 13485:2012 vom TÜV Rheinland zertifiziert ist.

Mit Milenia GenLine steht eine Produktlinie molekularbiologischer Nachweissysteme zur Verfügung, die modular auf-gebaut ist. Alle GenLine-Tests basieren auf einem universellen Teststreifen, der beliebige molekularbiologisch hergestellte Produkte nachweisen kann. Die Streifen werden in einem „[PCR Universalmodul](#)“ zur Verfügung gestellt. Zusätzlich zu den Streifen werden die molekularbiologischen Module ([PCR Module](#)) entwickelt. Dieser Ansatz erlaubt uns, neue Entwicklungen zügig umzusetzen und auch Nischenmärkte zu bedienen.

Erste Produkte der Milenia GenLine-Produktlinie sind Tests zum Nachweis bierschädigender Keime.



## Hintergrund

Bier ist ein Medium, in dem Keime bedingt durch den Alkoholgehalt und dem niedrigen pH-Wert schlechte Wachstumsbedingungen finden. Ferner stellen das Kohlendioxid und die in Hopfen enthaltenen Bitterstoffe weitere Wachstumsbarrieren für Mikroorganismen dar.

Trotzdem ist es einigen Keimen gelungen, sich an die Umgebung des Bieres anzupassen und darin zu wachsen. Diese haben bierschädigendes Potential, indem ihr Wachstum zu Trübungen und auch Geschmacksveränderungen führen kann.

Deshalb ist die Untersuchung auf bierschädigende Keime eine zunehmende Herausforderung in Brauereien. Mit der **Milenia GenLine-Produktlinie** steht ein Testsystem zum molekularbiologischen Nachweis bierschädigender Organismen zur Verfügung, das **schnell, einfach und zuverlässig** ist.



## Technologie

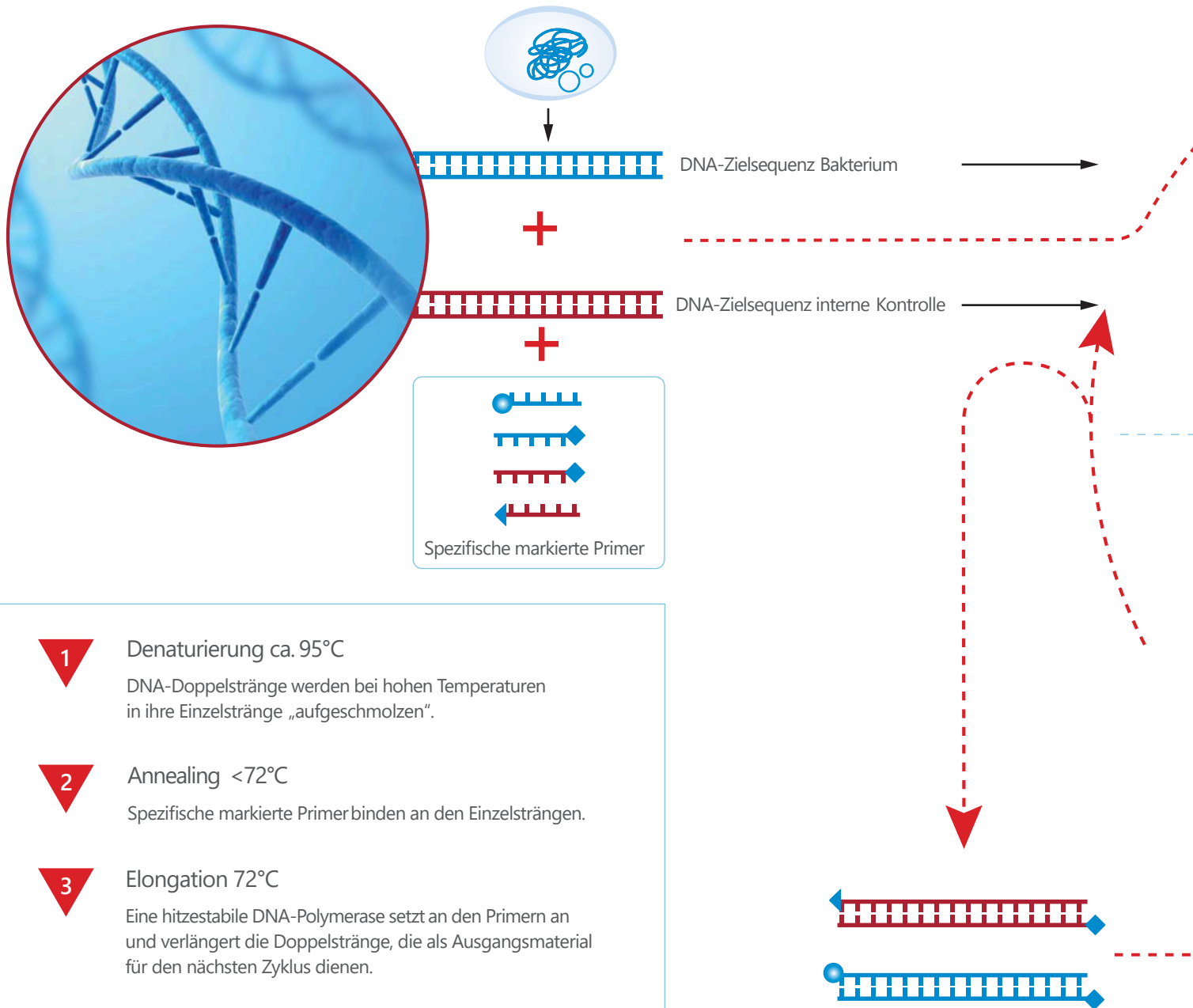
Als technologische Grundlage der Milenia GenLine-Tests findet die PCR (Polymerasekettenreaktion) Anwendung.

Dabei werden mit einer DNA-Polymerase und kurzen einzelsträngigen DNA-Stücken, Primer genannt, definierte DNA-Sequenzbereiche einer Probe *in vitro* vervielfältigt. Grundlage der PCR ist ein Temperaturprotokoll, bestehend aus mehreren Zyklen, die nacheinander durchlaufen werden. Auf diese Weise wird pro Zyklus eine Verdopplung der gene-tischen Zielsequenz erzielt. Nach diesem Prinzip werden aus einer einzigen Kopie des Ziel-DNA-Abschnitts nach 30 Zyklen über 1 Mrd. Kopien hervorgehen.

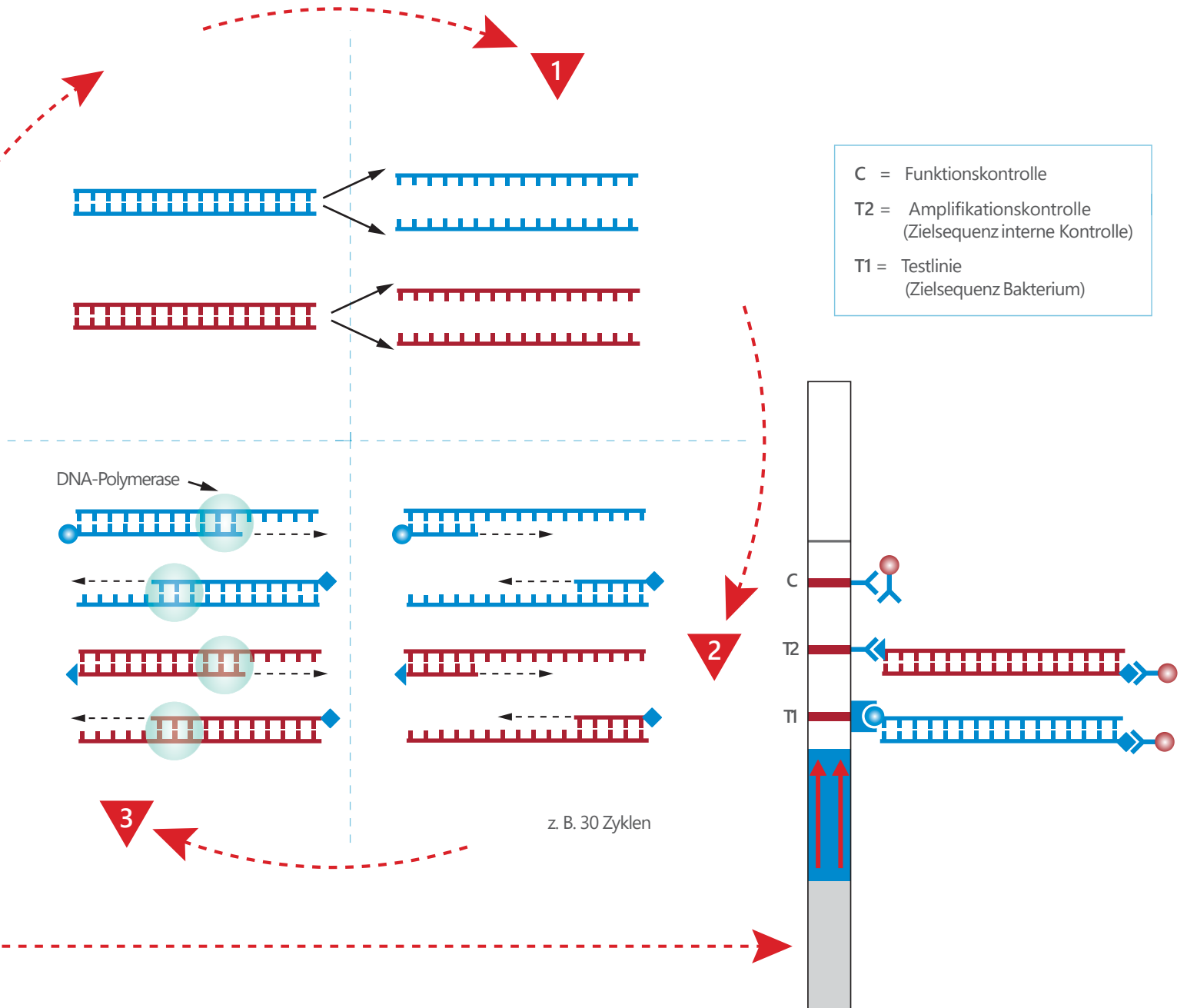
Die in den Milenia GenLine-Tests verwendeten Primer sind mit spezifischen Markierungen versehen, die von den Test-streifen erkannt werden. Der Milenia GenLine-Test ermöglicht den Nachweis von zwei verschiedenen Genprodukten auf einem Streifen. Durch die Zugabe eines Kontrollgens zu den Reaktionsansätzen kann somit eine Aussage getroffen werden, ob die PCR in dem speziellen Ansatz ordnungsgemäß abgelaufen ist.



# Technologie



# Technologie



## Benötigte Laborausstattung

- ▼ Einfacher Thermocycler
- ▼ Pipetten (2-20 $\mu$ l; 20-200 $\mu$ l)
- ▼ Pipettenspitzen
- ▼ PCR-Reaktionsgefäße
- ▼ Eppendorfhütchen
- ▼ Ständer für Reaktionsgefäße
- ▼ Minizentrifuge
- ▼ Vortexer
- ▼ Gefrierschrank





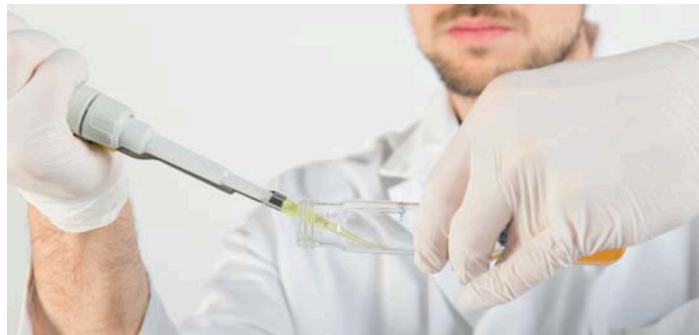
# Probenvorbereitung

Die Milenia GenLine-Tests zum Nachweis bierschädigender Keime können ohne eine DNA-Isolation aus der Probe durchgeführt werden. Als Probenmaterial eignen sich die meisten gängigen Flüssiganreicherungsmedien. Darunter befinden sich unter anderem die Medien der Firma Döhler (NBB-B, NBB-B-AM, NBB-C), weitere Medien auf MRS-Basis, Würze und Bier.

Sehr einfach können hausinterne Medien auf Kompatibilität untersucht werden. Auch hefehaltige Proben können direkt untersucht werden.

Ferner erlauben die Milenia GenLine-Tests Direktanalysen von Einzelkolonien von Festmedien (medienunabhängig).

## 1. Testung aus Flüssiganreicherung



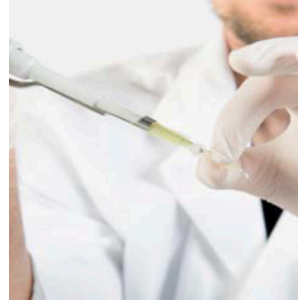
## 2. Direktanalyse von Einzelkolonien auf Festmedien



## Testdurchführung

1

2  $\mu\text{l}$  der vorbereiteten Proben in PCR-Röhrchen pipettieren, in den Thermocycler stellen und das Programm starten



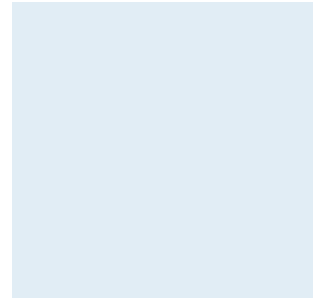
2

PCR-Röhrchen aus dem Thermocycler nehmen und daraus 2  $\mu\text{l}$  auf die Probenaufgabestelle des Teststreifens pipettieren.



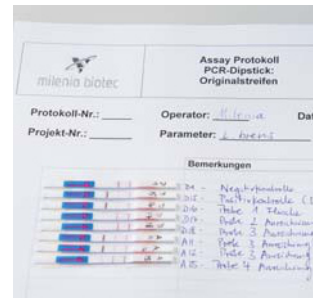
3

Den Streifen in ein Gefäß (z. B. Mikrotiterplatte) stellen, das 80  $\mu\text{l}$  Laufpuffer enthält.



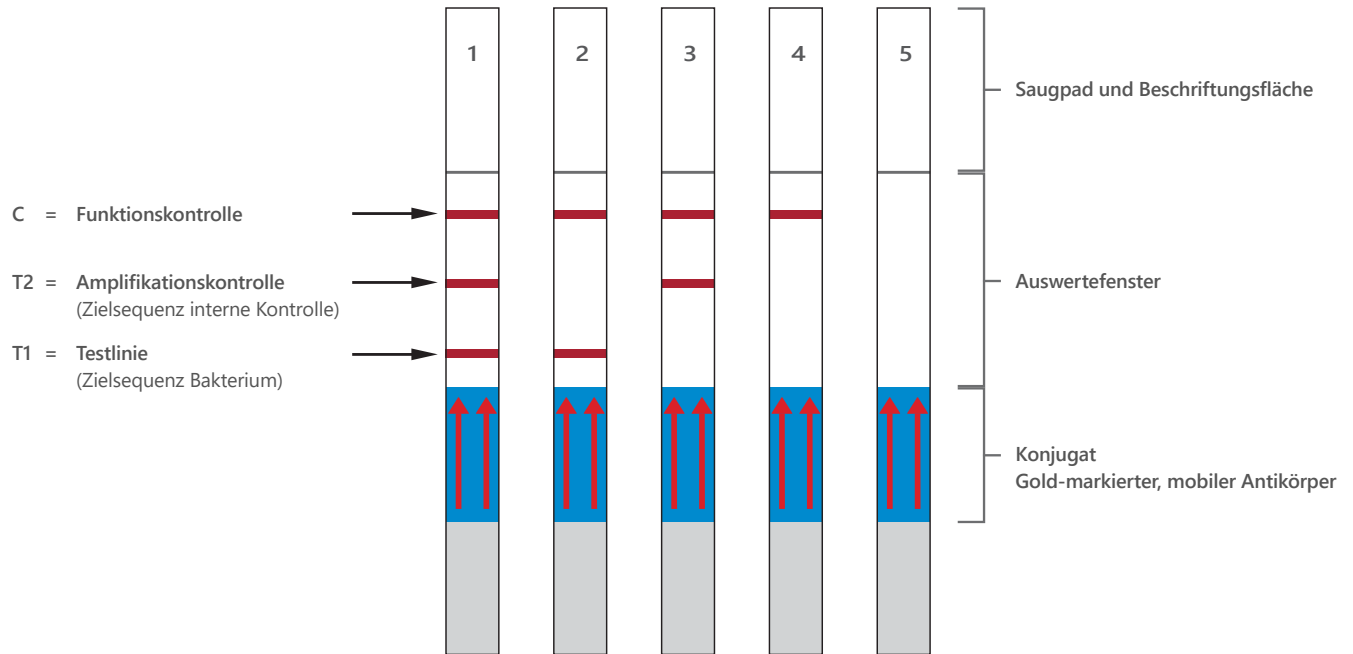
4

Nach 5 Minuten Streifen ablesen.



# Interpretation der Testergebnisse

Mögliche Ergebnisse der Auswertung von PCR-Produkten über den universellen Teststreifen ([REF MGUP 1](#))



- ▼ Streifen 1 und 2 sind als eindeutig positive Befunde zu interpretieren.
- ▼ Streifen 3 entspricht einem negativen Befund.
- ▼ Streifen 4 deutet auf eine vollständige Inhibition der PCR hin. Hierbei handelt es sich um keinen validen negativen Befund, sondern um eine nicht auswertbare Probe; die Probe muss wiederholt werden.
- ▼ Streifen 5 ist nicht auswertbar.

↑↑ Die roten Pfeile auf dem Teststreifen geben die Laufrichtung an.

## Milenia GenLine *Lactobacillus* / *Pediococcus* Screening

### Verwendungszweck

Bei dem Milenia GenLine *Lactobacillus* / *Pediococcus* Screening handelt es sich um einen Bestätigungs- und Suchtest für die häufigsten Bierverderber. Der Test weist die bedeutendsten Schädlinge der Gattungen *Lactobacillus* und *Pediococcus*, darunter *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lindneri*, *Lactobacillus casei* und *Pediococcus damnosus* nach. Die zur biologischen Säuerung verwendeten Lactobacillen (z.B. *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus amylovorus*, usw.), sowie die wichtigsten brauereirelevanten Hefen werden nicht detektiert.

Deshalb ist das Milenia GenLine *Lactobacillus* / *Pediococcus* Screening ein besonders nützliches Werkzeug für die Beurteilung von schwierig zu interpretierendem mikrobiologischem Probenmaterial, zum Beispiel hefehaltige Proben oder unselektive Anreicherungen, wie Abstrichproben angereichert in NBB-B-AM.

### nachweisbar ✓

*L. brevis*  
*L. backi*  
*L. casei*  
*L. paracasei*  
*L. collinoides*  
*L. paracollinoides*  
*P. damnosus*  
*L. lindneri*  
*L. plantarum*  
*L. harbinensis*  
*L. rossiae*  
*L. coryniformes*  
*L. acetotolerans*  
*L. frisingensis*  
*L. perolens*  
*P. clausenii*  
*P. inopinatus*

### nicht nachweisbar x

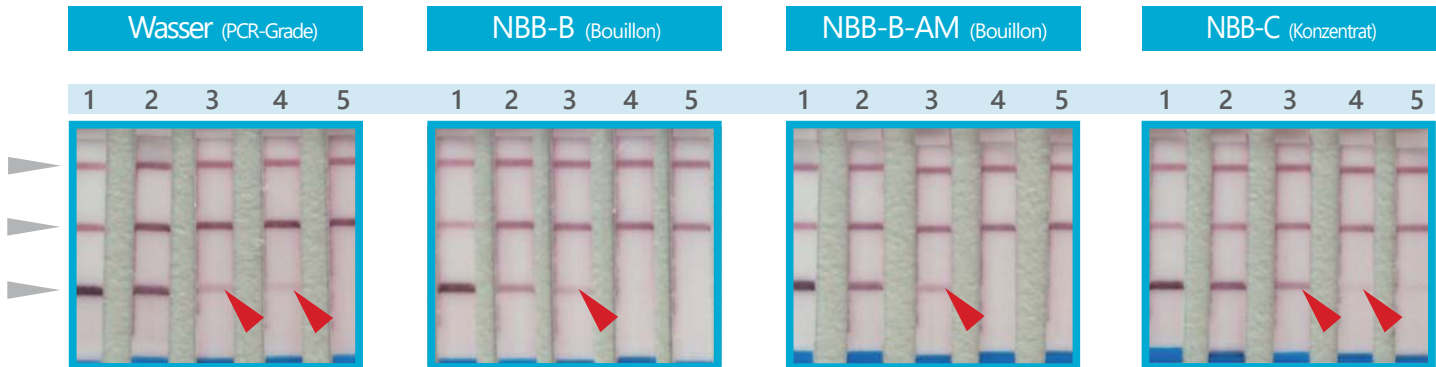
*L. delbrueckii*  
*L. amylovorus*  
*L. amylolyticus*  
*Megasphaera sp.*  
*Pectinatus sp.*  
*Acetobacteriaceae*  
*(Enterobacteriaceae)*  
*Torulaspora delbrueckii*  
*Wickerhamomyces anomalus*  
*Saccharomyces pastorianus* 34/70  
*Saccharomyces cerevisiae* 68  
*Saccharomycodes ludwigii*

# Milenia GenLine Lactobacillus / Pediococcus Screening

## Empfindlichkeit / Verwendete Medien

Mit den Milenia GenLine Tests können Direktanalysen aus Anreicherungen durchgeführt werden. Es ist keine DNA-Extraktion erforderlich. Dadurch reduzieren sich Arbeitsaufwand und Komplexität der Abarbeitung erheblich.

Alle Milenia GenLine Nachweise sind kompatibel mit den gängigen Nachweismedien. Die Abarbeitung per Direktanalyse funktioniert sowohl aus Flüssiganreicherungen, als auch als Kolonieanalyse von Festmedien.



### L. brevis: 1821B

1	ca. $1 \times 10^6$ cfu/mL
2	ca. $1 \times 10^5$ cfu/mL
3	ca. $1 \times 10^4$ cfu/mL
4	ca. $1 \times 10^3$ cfu/mL
5	ca. $1 \times 10^2$ cfu/mL

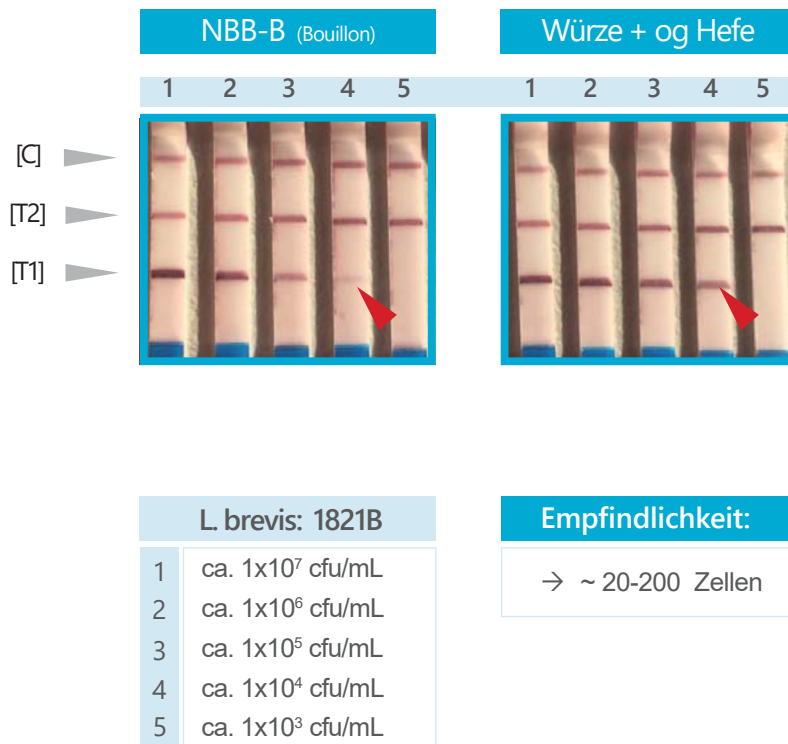
### Empfindlichkeit:

PCR-Wasser	→	~2-20	Zellen
NBB-B	→	~20-200	Zellen
NBB-B-AM	→	~20-200	Zellen
NBB-C	→	~20-200	Zellen

# Milenia GenLine Lactobacillus / Pediococcus Screening

## Empfindlichkeit / Hefehaltige Proben

Im Brauereiumfeld gestaltet sich häufig die Analyse hefehaltiger Proben als besonders schwierig. Mit den Milenia GenLine Tests ist es möglich, mit sehr guter Empfindlichkeit Direktmessungen aus hefehaltigen Proben durchzuführen. Daher sind die Nachweise ein wertvolles Werkzeug für die Analyse schwierig zu interpretierender Probenmatrizes.



## Leistungsdaten Milenia GenLine Lactobacillus / Pediococcus

		Milenia (LB-PC-Screen)		
		+	-	Summe
RT-PCR (sLP600, Brandl 2006)	+	16	0	16
	-	3	31	34
Summe		19	31	50
			Konkordanzindex 0,91	

# Milenia GenLine Hopfenresistenz Screening

## Hintergrundinformation

Bier ist ein für Mikroorganismen schwierig zu besiedelnder Lebensraum. Einige Spezialisten haben es jedoch geschafft, dieses Milieu zu tolerieren und im Bier zu wachsen. Ein oft entscheidender Punkt für mikrobielles Wachstum in Bier ist die Fähigkeit Hopfenbitterstoffe (vorrangig Iso-alpha-Säuren) zu tolerieren. Das Milenia GenLine Hopfenresistenz-Screening weist zwei der bedeutendsten artübergreifenden genetischen Marker für die Resistenz gegenüber Hopfen-bitterstoffen nach.

Verfügen nachgewiesene Bakterien über entsprechende Gene, hat man es höchst wahrscheinlich mit starken Verderb-ern zu tun, die ein erhebliches Produktschädigungspotenzial aufweisen.

## Verwendung und Vergleich mit dem Produktschädlichkeitstest

Das Milenia GenLine Hopfenresistenz-Screening eignet sich als Bestätigungs- und Suchtest für obligat bier-schädigende Vertreter der Gattungen *Lactobacillus* und *Pediococcus*. Mit Hilfe dieses Tests lässt sich das Schadpotenzial von potenziell bierschädigenden Bakterien abschätzen. Hierbei handelt es sich also um ein neuartiges Werkzeug, das in weniger als zwei Stunden Informationen liefert, die bisher über den klassischen Produktschädlichkeitstest mehr als 14 Tage erforderten.

Nr.	Organismus	Milenia GenLineTests		Kultivierung						
		Lacto-Pedio-Screen	Hopfen-resistenz-Screen	NBB-B-AM (Bouillon)	NBB-B (Bouillon)	Hefeweizen	Lager	Pilsener	Pale Ale	Double IPA
	Alkoholgehalt					<0,04	5,2	5,1	5,7	8,3
	pH-Wert					4,36	4,73	4,46	4,79	4,91
	IBU's					15	24	32	36	83
-	Negativkontrolle	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	<i>Lactobacillus brevis</i> I	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>Lactobacillus brevis</i> II	+	+	+	+	+	+	+	-	-
3	<i>Lactobacillus lindneri</i> I	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	<i>Lactobacillus lindneri</i> II	+	+	+	+	+	+	+	-	+
5	<i>Lactobacillus backi</i> 2334	+	+	+	+	+	-	+	+	+
6	<i>Pediococcus damnosus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	<i>Lactobacillus rossiae</i> I	+	+	+	+	+	+	-	-	-
8	<i>Lactobacillus rossiae</i> II	+	-	+	+	-	-	-	-	-
9	<i>Lactobacillus casei</i> 610	+	-	+	+	-	(+)*	(+)*	-	(+)*
10	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	+	-	+	+	n.a.	-	-	-	-
11	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-
12	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	-
13	<i>Lactococcus lactis</i>	-	-	+	+	n.a.	-	-	-	-

Analysen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt, \* nur in 1/2 Kulturen wurde bakterielles Wachstum verzeichnet; in diesen Proben war ein erneuter Test auf Hopfenresistenzen positiv.

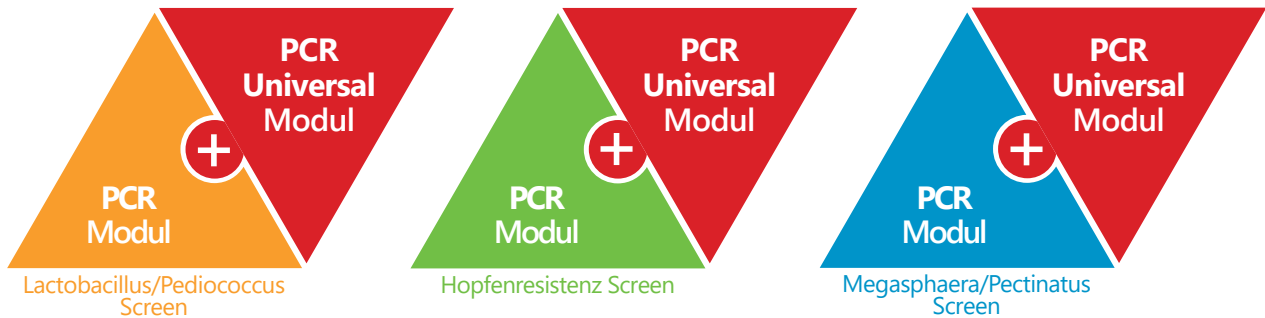


## Leistungsdaten Milenia GenLine Hopfenresistenz Screening

		Milenia (HOR)		
		+	-	Summe
RT-PCR (TUM FZWBLQ, Hor A oder Hor C Gen)	+	10	0	10
	-	0	7	7
Summe		10	7	17

Konkordanzindex 1

## Verfügbare Produkte



### PCR Universalmodul

MGUP 1

48 Tests

Das Universalmodul wird immer in Kombination mit den PCR-Modulen verwendet.

### PCR-Module



Lactobacillus / Pediococcus Screen

MGScLP 1

48 Tests



Hopfenresistenz Screen

MGScHOR 1

48 Tests



Megasphaera / Pectinatus Screen

MGScMP 1

48 Tests

## Eigenschaften und Vorteile von Milenia GenLine

- ▼ Sensitiv und spezifisch
- ▼ Interne PCR-Kontrolle
- ▼ Positive Kontrollen im Kit enthalten
- ▼ Direkter Probeneinsatz ohne DNA-Reinigung
- ▼ Geringe Investition in Geräte
- ▼ Geringe Beeinflussung durch Hefe
- ▼ Ergebnisse in 60 Minuten





**Milenia Biotec GmbH**

Versailler Str. 1  
35394 Gießen  
Germany

Tel.: +49 641-94 888 3-0

Fax: +49 641 888 3-80

E-Mail: [info@milenia-biotec.de](mailto:info@milenia-biotec.de)

Web: [www.milenia-biotec.com](http://www.milenia-biotec.com)

design: VISUV

fotos: Hendrik Roggemann, Matthias Hoffmann