**Etanol / Maursyreekstraksjon (Formic acid)= Extended Direct Transfer (EX)**

***Bruk hansker***

**Prøvepreparering**

1. Pipetter 300 µl destillert H2O i eppendorf-rør
2. Plukk, med øse (blank), kolonier fra stamme som skal testes og bland oppi eppendorf-røret
3. Bland godt (vortex-mikser)
4. Tilsett 900 µl absolutt alkohol Bland godt (vortex-mikser)
5. Sentrifuger 2 min, maks hastighet, med hengslene vendt ut ( Eppendorf-sentrifuge)
6. Dekanter supernatant ved bruk av steril pipette, evt. tøm forsiktig ut (Følg med på at bunnfall/pellet blir igjen)
7. La topp stå åpen ei kort stund slik at rester av alkohol diffunderer ut
8. Sentrifuger noen sekunder ved maks hastighet; trykk start / stopp
9. Pipetter forsiktig ut alt av etanolrester (Eppendorf-pipette)
10. La bunnfall tørke noen min (topp stå åpen ca.5 min / evt. i varmeskap ca.2-3 min)  NB! Bunnfall må være helt tørt
11. Tilsett 70 % Maursyre (Formic acid ( FA)) Vurder ut i fra hvor stor pellet er. Oppslemmet fra 1 µl øse tilsett 30 µl  Evt. reduser mengde FA. Se tabell

Tabell over mengde maursyre og acetonitrile i forhold til bakteriemengde

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **små enkelt kolonier** | **store enkelt kolonier** | **1µl øse** |
| **Maursyre****(Formic Acid) 70%** | 1-5µl | 10-20µl | 20-40µl |
| **Acetonitrile** | 1-5µl | 10-20µl | 20-40µl |

1. Bland godt (vortex-mikser)
2. La stå i 2 min
3. Tilsett lik mengde Acetonitril (AN) som FA under punkt 11
ALLTID; lik mengde FA og AN
4. Bland forsiktig med pipette (unngå bobler) Sentrifuger 2 min, maks hastighet
5. Pipetter 1,0 µl av supernatant på target
6. Lufttørk
7. Tilsett 1,0 µl matrix (straks det er tørt)
8. Lufttørk
9. **Klar til kjøring på MALDI – TOF**

**Forenklet maursyreekstraksjon**

* 1 enkelt koloni direkte på MALDI target.
* Tilsett 1,0 μl 70% maursyre i avtrekk
* Lufttørk
* 1,0 μl matrix løsning legges over straks det er tørt (innen 1 time)
* Lufttørk
* Target er klar til å kjøres på MALDI-TOF