

RIDA[®] Clean Extract

Kit zur Vorbereitung von ölhaltigen oder trüben Emulsionen,
Kühl- und Schmierstoffen, Farben und ähnlichen Lösungen
für die ATP-Messung mit Lumitester PD-20/PD-30
unter Verwendung von LuciPac[®] Pen AQUA

Kit for preparation of oil-containing or turbid emulsions,
cooling and other lubricants, paints and equal solutions
for measurement of ATP with Lumitester PD-20/PD-30
using LuciPac[®] Pen AQUA

Art. No.: ZLPP1002673

In vitro Test

Lagerung bei Raumtemperatur (2 – 30 °C)

Storage at room temperature (2 - 30 °C)

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Anschrift:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Telefon:

Zentrale / Auftragsannahme (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Auftragsannahme (0 61 51) 81 02-20
orders@r-biopharm.de

Marketing

(0 61 51) 81 02-40
info@r-biopharm.de

RIDA® und RIDASCREEN®
sind eingetragene Warenzeichen der R-Biopharm AG
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland
R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA® and RIDASCREEN®
are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany
R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

RIDA® y RIDASCREEN®
son marcas registradas de R-Biopharm AG
Fabricante: R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania
R-Biopharm AG cuenta con certificación ISO 9001.

1. Verwendungszweck

Der RIDA®Clean Extract ist ein Kit zur Aufarbeitung und Vorbereitung von ölhaltigen Emulsionen, Schmierstoffen, Farben und vergleichbaren Lösungen für die ATP-Messung mit LuciPac®Pen AQUA/Lumitester PD-20/PD-30. Hohe Konzentrationen von Mikroorganismen, die einen schädlichen Einfluss auf die Eigenschaften der genannten Emulsionen haben können, lassen sich durch die ATP-Messung im Anschluss an die Probenaufarbeitung mit RIDA®Clean Extract schnell und effizient nachweisen.

2. Allgemeines

Spezielle Mikroorganismen, vor allem Bakterien und filamentöse Pilze, können in ölhaltigen Flüssigkeiten oder auch in Kühl- und Schmierstoffen wachsen und durch ihren Stoffwechsel die Flüssigkeiten derart verändern, dass z.B. Motoren, Pumpen oder Getriebe geschädigt werden. Der Nachweis der Bakterien erfolgt bis jetzt über klassische Kultivierung von Proben auf Agar und ein Testergebnis ist oft erst nach 2 bis 5 Tagen erhältlich. Eine schnelle, angemessene Reaktion auf mikrobielle Kontaminationen ist dann oft nicht mehr möglich. Mit dem RIDA®Clean Extract Kit kann der Nachweis über mikrobielle Verunreinigungen innerhalb von Minuten durchgeführt werden.

3. Testprinzip

Wie alle Lebewesen enthalten auch Bakterien und Pilze die energiereiche Verbindung ATP (Adenosin-Triphosphat). Diese Verbindung kann im Biolumineszenzverfahren gemessen werden. Dazu muss das ATP zunächst über ein Lysereagens aus den Mikroorganismen komplett freigesetzt werden. Das freigesetzte ATP wird dann über eine Extraktion aus der öligen oder trüben Flüssigkeits-Phase in die wässrige Phase überführt. Die wässrige Phase wird mit dem Probennehmer des LuciPac®Pen AQUA aufgenommen und ins Teströhrchen überführt. In der anschließend einsetzenden enzymatischen Reaktion mit dem im Teströhrchen enthaltenen Luziferase-Reagens wird Licht freigesetzt, das mit dem Luminometer Lumitester PD-20/ PD-30 als „Relative Light Units“ (RLU) gemessen werden kann.

4. Packungsinhalt

Jeder Probenaufarbeitungskit enthält alle Reagenzien für die Vorbereitung von 20 Proben.

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
Reagent L1 Reagenz L1	blau	gebrauchsfertig	Lyse-Puffer	20 Stück
Reagent L2 Reagenz L2	rot	gebrauchsfertig	Extraktionslösung	20 Stück
Pipettes		Einweg		20 Stück

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

5.1. Geräte

- Lumitester PD-20 (wird nicht mehr hergestellt!)
- Alternativ: Lumitester PD-30 (Art. Nr. ZLT1402653)

5.2. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

- LuciPac[®]Pen AQUA (Art. Nr. ZLA1002673)

6. Vorsichtsmaßnahmen

Zur Extraktion verwendete Reagenzröhrchen (L1 und L2) enthalten Reste der aufgearbeiteten Flüssigkeiten und sollten entsprechend der Abfallregelungen der jeweiligen Flüssigkeiten entsorgt werden. Gebrauchte LuciPac[®]Pen AQUA Röhrchen können zum normalen Hausmüll gegeben werden.

7. Reagenzien und ihre Lagerung

Den RIDA[®]Clean Extract bei Raumtemperatur lagern. Die Haltbarkeit des Probenaufarbeitungskits ist auf dem Außenetikett unter „Expiry“ angegeben. Nach Ablauf des dort genannten Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

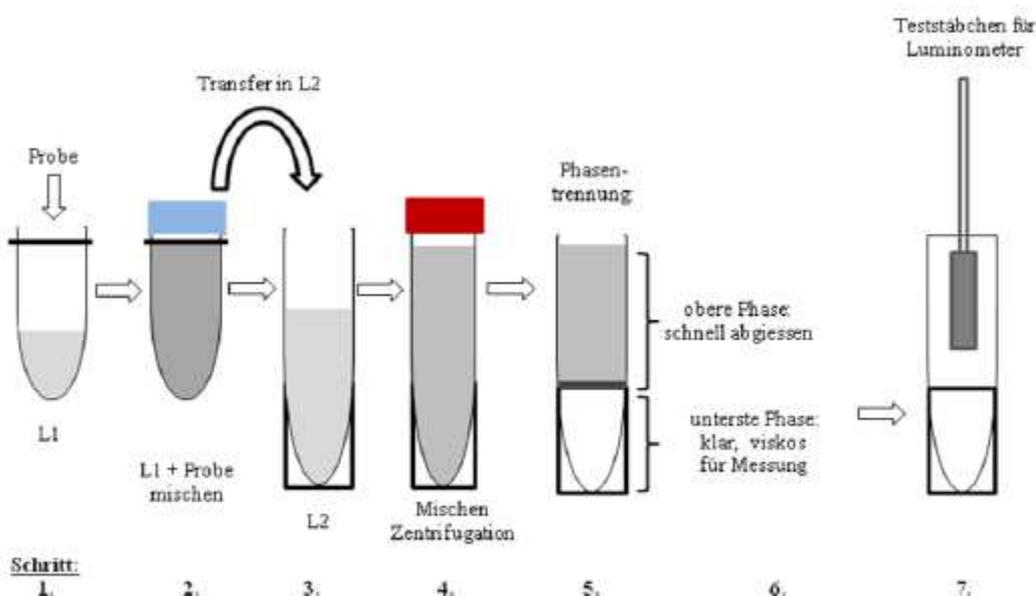
8. Anzeichen für Reagenzienverfall

Die Reagenzien zeigen keinen visuell erkennbaren Hinweis auf einen möglichen Rückgang der Reaktivität.

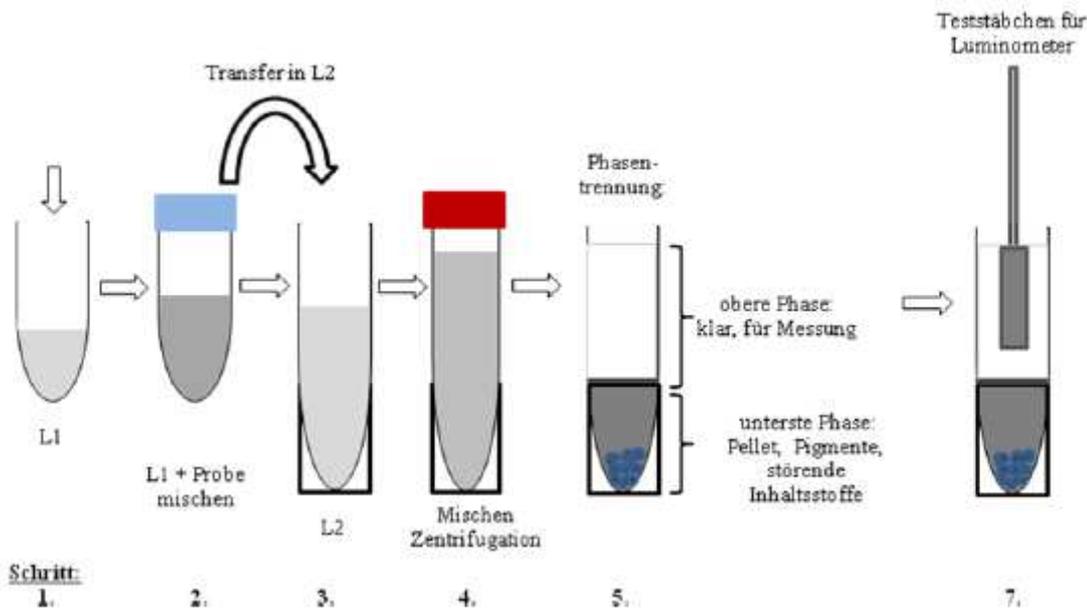
9. Probenvorbereitung

1. Probenflüssigkeit mit der Pipette entnehmen und so viel der Flüssigkeit in Röhrchen L1 (blauer Schraubdeckel) pipettieren, bis sich die Flüssigkeit direkt unterhalb der senkrechten Rillen befindet.
 2. Röhrchen L1 mit dem Schraubdeckel fest verschließen und intensiv mischen (ca. 45 sec kräftig schütteln oder vortexen). 1 min verschlossen stehen lassen um eine vollständige Lyse zu erreichen.
 3. Den kompletten Inhalt von Röhrchen L1 in Röhrchen L2 (roter Schraubdeckel) umfüllen und mit dem Schraubdeckel fest verschließen.
 4. Ca. 30 sec intensiv mischen (kräftig schütteln oder vortexen).
 5. Röhrchen L2 1 min zentrifugieren (ca. 6.000 bis 13.000 rpm) oder alternativ so lange stehen lassen, bis sich die Phasen getrennt haben.
 6. Bei Aufarbeitung von Ölen, Kühl-/Schmierstoffen, Fetten und wässrigen Lösungen die obere Phase durch Kippen des Röhrchens komplett abgießen. Da die untere, klare Phase stark viskos ist, bleibt sie im Röhrchen zurück.
- Bei Aufarbeitung von Farben und anderen trüben Flüssigkeiten setzt sich die klare Phase oben ab, sodass kein Abgießen notwendig ist.
7. Die Probenahme mit dem Probenstäbchen des LuciPac® Pen AQUA, wie unter Punkt „10. Testdurchführung“ beschrieben, durchführen.

Ablaufschema bei Ölen, Kühl-/Schmierstoffen, Fetten und wässrigen Lösungen:



Ablaufschema bei Farben und anderen trüben Flüssigkeiten:



10. Testdurchführung

1. Bei Ölen, Kühl-/Schmierstoffen, Fetten und wässrigen Lösungen das Probenstäbchen des LuciPac[®]Pen AQUA in die verbliebene, stark viskose Phase eintauchen, bis die Rillen des Probenkopfes komplett benetzt sind.

Bei Farben und anderen trüben Flüssigkeiten das Probenstäbchen direkt in die obere Phase eintauchen, bis die Rillen des Probenkopfes komplett benetzt sind.

2. Probenstäbchen herausziehen, ins Teströhrchen des LuciPac[®]Pen AQUA rückführen und bis zum Anschlag eindrücken. Reaktionsflüssigkeit durch zielgerichtetes Herunterschütteln in die Reaktionskammer befördern. Röhrchen sanft kreisend bewegen, um das Reagenz aufzulösen (s. Anleitung LuciPac[®]Pen AQUA). Anschließend die Messung, wie in der Anleitung zum LuciPac[®]Pen AQUA (bzw. im Lumitester PD-20/PD-30-Manual) beschrieben, durchführen.

11. Auswertung

Warnampel für Kühlschmierstoffe, Wasser- und Ölemulsionen und Farben

Grenzwert (KBE/ml)	Mikrobiologische Belastung	Qualität / Maßnahme	Ampelfarbe	relativer RLU-Messwert (unverdünnt)
$<10^2$	sehr gering	normal / keine	grün	20 - 1.000 Stufe A: bestanden
$10^3 - 10^4$	mittel - stark	Warnbereich / verstärkte Kontrollen / Reinigungsmaßnahmen	orange	1.000 - 10.000 Stufe B: Vorsicht - beobachten
$>10^5$	hoch - sehr hoch	kritisch / sofortiger Handlungsbedarf	rot	> 10.000 Stufe C: kritisch

Die RLU-Werte nach dem Ampelsystem ergeben die schnellst-mögliche innerbetriebliche Orientierung zu mikrobiellen Belastungen und Problemen direkt vor Ort. Die aufgeführte Korrelation zwischen RLU-Werten und klassischen KBE-Werten sind repräsentative Durchschnittswerte aus vielfältigen Messungen und Analysen von Proben aus der Praxis.

Da RLU-Werte je nach Art und Wachstumsaktivität der Mikroorganismen unterschiedlich sein können, sind die in der Tabelle angegebenen Grenzbereiche (z.B. 1.000 – 10.000) nicht exakt. Werte im Bereich der Grenze zwischen den jeweiligen „Ampelfarben“ sollten daher immer kritisch und unter der Prämisse, dass die eigentliche Anzahl der Mikroorganismen sich bereits weit in der darüber liegenden Stufe befinden kann, betrachtet werden. In einem solchen Fall sollten zusätzliche Proben/Messungen vorgenommen werden, um den Ampelbereich einzugrenzen.

Zusätzlich sollte jeder Betrieb, der ATP-Messungen in Kühlmitteln, Schmierstoffen Farben, etc. durchführt, bei Bedarf für seine spezifischen Systeme eine eigene Kalibrierung durchführen, um die RLU-Werte mit den individuellen Keimbelastungen korrelieren zu können.

Generell gilt:

Sind die RLU-Werte niedrig, so liegt keine kritische Belastung vor. Ergeben sich jedoch erhöhte RLU-Werte, ist meistens weiter zu prüfen, welche Ursachen vorliegen und ob dafür z.B. hauptsächlich Bakterien oder Pilze verantwortlich sind. In speziellen Fällen ist es sinnvoll, bei kritischen Werten ergänzend eine klassische KBE-Bestimmung durchzuführen, um die Art der Keime und ihr Gefährdungspotential abschätzen zu können.

Betriebsinterne zusätzliche Erfahrungs- und Messwerte zu den Emulsionen wie pH-Werte, Schaumbildung, Geruchsentwicklung sowie Trübung sind zusätzliche Kriterien, um über einen etwaigen Handlungsbedarf zu entscheiden.

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus der Nutzung der Produkte entstehen nicht.

RIDA[®]Clean Extract

1. Intended use

The RIDA[®]Clean Extract is a sample preparation kit for oil-containing emulsions, lubricants, paints and comparable solutions to make them suitable for measurement of ATP with LuciPac[®]Pen AQUA/Lumitester PD-20/PD-30. High concentrations of microorganisms which can have blight on the properties of these emulsions can be detected fast and efficiently using this system of ATP measurement subsequently to sample preparation with RIDA[®]Clean Extract.

2. General

Special microorganisms (bacteria or filamentous fungi) can grow in oil-containing liquids or lubricants or paints and change the nature of the liquid by their metabolism. This may lead to damages of e.g. motors, pumps or gears. The detection of the bacteria has to be done by classical cultivation on agar plates, yet. Results are very often available not earlier then after 2-5 days. Fast and appropriate counter-measures on contaminations are often not possible, anymore. Using RIDA[®]Clean Extract the detection of microbial contaminations can be done within a few minutes.

3. Test principle

As all living organisms bacteria and fungi contain the energy rich compound ATP (adenosine-triphosphate). This substance can be measured using a bioluminescence method. In order to do this ATP has to be released from microbial cells first by a lysis reagent. Released ATP will then be extracted from the oily or turbid liquid phase and transferred to the aqueous phase. The aqueous phase will be taken up by using the sampler stick of LuciPac[®]Pen AQUA and transferred into the test tube. Within the subsequent initiating enzymatic reaction (Luciferase-reaction) with the reagent in the tube, light will be emitted which can be measured with Lumitester PD-20/PD-30. The values will be given as “relative light units” (RLU).

4. Reagents provided

Each sample preparation kit contains sufficient reagents for preparation of 20 samples.

Component	Cap color	Format		Content
Reagent L1	Blue	Ready-to-use	Lysis buffer	20 pcs
Reagent L2	Red	Ready-to-use	Extraction solution	20 pcs
Pipettes		Disposable		20 pcs

5. Materials required but not provided

5.1. Equipment

- Lumitester PD-20 (will not be produced anymore!)
- Alternative: Lumitester PD-30 (Art. No. ZLT1402653)

5.2. Reagents

- LuciPac[®]Pen AQUA (Art. Nr. ZLA1002673)

6. Warnings and precautions for the users

Reagent tubes (L1 and L2) which have been used for extraction procedure will contain residues of treated sample liquids. They should be disposed according to current regulations for waste disposal of the respective liquid. Used LuciPac[®]Pen AQUA tubes can be disposed with the normal domestic waste.

7. Storage instructions

Store RIDA[®]Clean Extract at room temperature. The shelf life of the kit is mentioned as “Expiry” on the outer label. No quality guarantee is accepted after expiry of the kit.

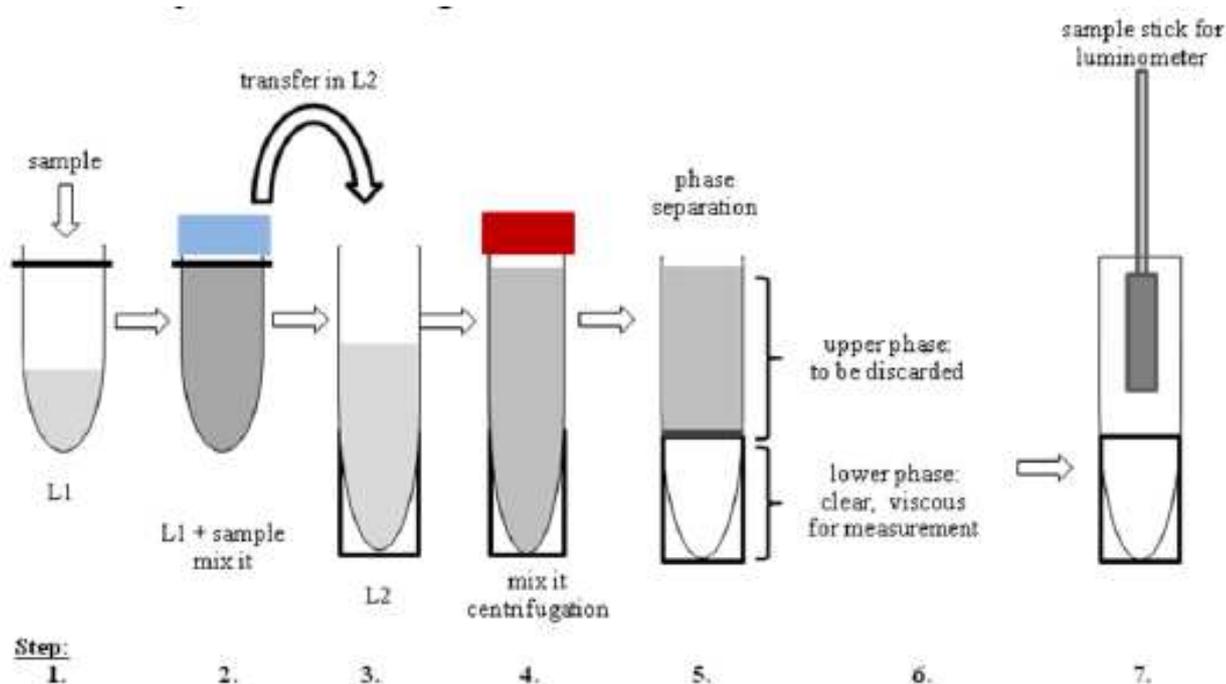
8. Indication of instability or deterioration of reagents

The reagents don't show any visually recognizable advice on a possible decrease of reactivity.

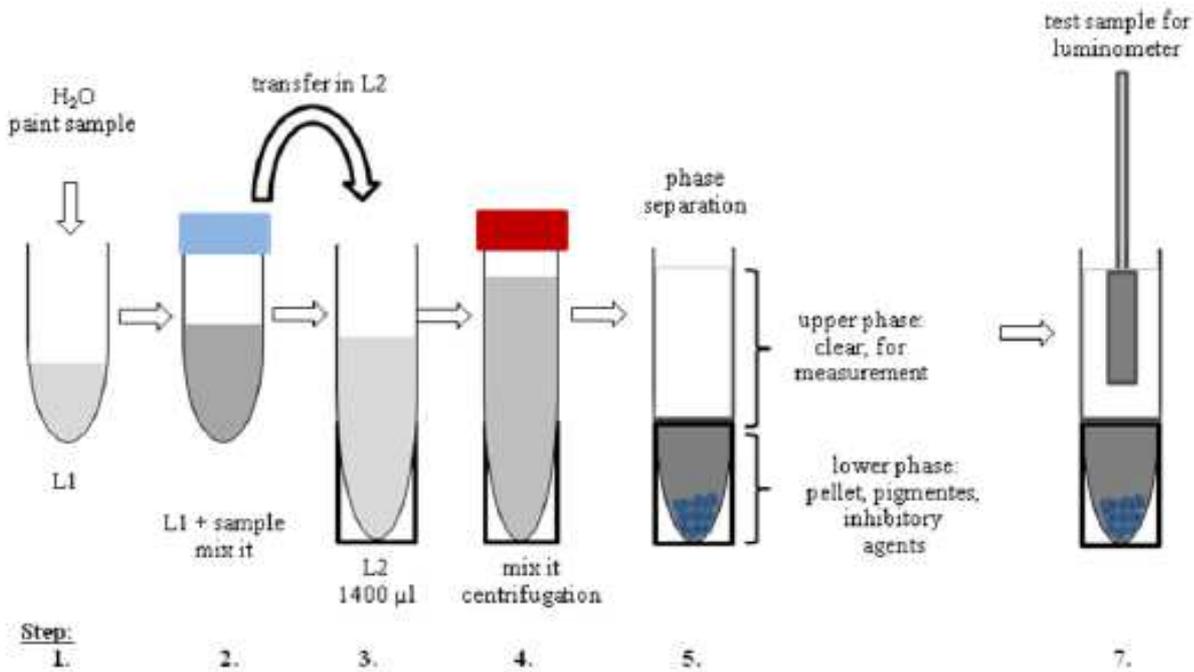
9. Preparation of Samples

1. Take a sample portion using a Pasteur pipette and transfer it to reagent tube L1 (blue closure). Fill up the tube until the liquid is directly underneath the vertical grooves.
2. Close tube L1 tightly by screwing up the closure and mix intensively (shake vigorously or vortex approx. 45 sec). Keep the tube closed and allow the liquid to stand for 1 min to reach a complete lysis.
3. Transfer the total content of tube L1 into tube L2 (red closure) and close tightly by screwing up the closure.
4. Mix intensively for approx. 30 sec (shake vigorously or vortex).
5. Centrifuge tube L2 for 1 min at 6.000 to 13.000 rpm. Alternatively allow the liquid to stand until the phases have separated completely.
6. In case of preparation of oils, cooling lubricants/lubricants, fats and aqueous solutions discard the upper phase completely by decantation. As the lower, clear phase is strongly viscous it will remain in the tube.
In case of preparation of paints and other turbid liquids the clear phase will go up to the top so that decantation is not necessary.
7. Perform sampling from the prepared solution using the sampler stick of LuciPac[®] Pen AQUA as described under “10. Test implementation”.

Flow chart in case of oils, lubricants, fats and aqueous solutions:



Flow chart in case of paints and other turbid liquids:



10. Test implementation

1. In case of oils, cooling lubricants/lubricants, fats and aqueous solutions dip the sampler stick of LuciPac[®]Pen AQUA into the remaining strongly viscous phase until the grooves of the sampling head are wetted completely.

In case of paints and other turbid liquids dip the sampler stick into the upper phase directly until the grooves of the sampling head are wetted completely.

2. Pull out sampler stick and transfer it back to the test tube of LuciPac[®]Pen AQUA. Press it in to the stop. Shake down the reaction liquid into the reaction chamber and rotate tube slightly to solve the reagent (s. instructions for LuciPac[®]Pen AQUA). Perform measurement as described in the instructions for LuciPac[®]Pen AQUA or in the Lumitester PD-20/PD-30 manual, respectively.

11. Results

Warning color code for lubricants, water based emulsions, oily emulsions and paints

Approx. limit value (CFU/ml)	Microbial contamination	Water quality/actions	Color code	Approx. RLU values (undiluted)
$<10^2$	very low	normal / no actions	green	20 - 1.000 level A: passed
$10^3 - 10^4$	medium - strong	warning range / increased control / cleaning actions	orange	1.000 - 10.000 level B: caution - failed
$>10^5$	high - very high	critical / urgent need for immediate action	red	> 10.000 level C: critical

RLU values according to the warning color code come along as the fastest possible guidance to microbial loads and corresponding problems. The shown correlation between RLU values and classical cfu values are representative average values which derive from several measurements and analyses with real life samples.

As RLU values may differ due to type and growth activity of microorganisms the border areas in the table (e.g. 1000 – 10000) are not exactly defined. Values which are more or less „between“ two different warning colors should be taken skeptically as the real amount of microorganisms in the sample may be different somehow. In such cases additional samples should be analyzed verify in which true condition the emulsion currently is.

Additionally every plant that performs ATP measurements in lubricants, paints or comparable liquids should carry out individual calibrations for his specific systems. This makes it possible to correlate the measured RLU values with individual loads of microorganisms.

General advices:

As long as the RLU values are low there is no serious load present. In the case of increased values appearing the reasons for that have to be checked out and it should be clarified if mainly bacteria or fungi are responsible. In cases of critical values it makes sense to perform classical cultivation based methods to determine the cfu value and to identify the microbial species to estimate their hazardous potential.

Additional plant internal experience and measured values as pH, frothing, odor development as well as turbidity, are criteria that may help to decide if urgent action is required or not.

R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, R-Biopharm will provide a replacement product. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.