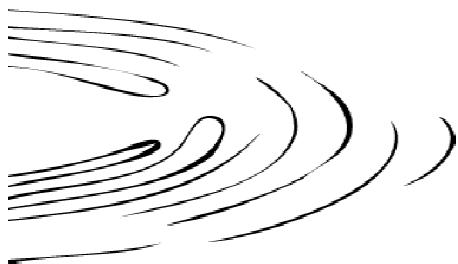




QUALIFICATION DE L'ATP-METRIE HAUTE SENSIBILITE POUR LE MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

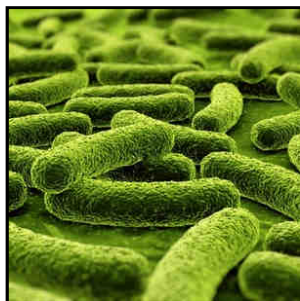
*2^{ème} Congrès International – A3P Algérie
(Sidi-Fredj – Jeudi 9 juin 2011)*



GL BIOCONTROL – Laurent GARRELY (Directeur Scientifique)
Le Mas Bas – CIDEX 1040 – 30 250 ASPERES
GSM : +33 (0)6 81 71 31 83 - Fax : +33 (0)9 55 25 40 31
Email : contact@gl-biocontrol.com - Web : www.gl-biocontrol.com

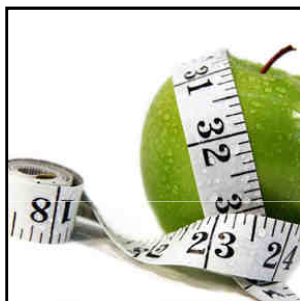


PRESENTATION



Activité

Créée en octobre 2006, la société GL BIOCONTROL est un bureau d'étude spécialisé en ingénierie sanitaire et en stratégie de surveillance biologique des eaux.



Savoir-faire

Diagnostic microbiologique, analyse méthodique des risques, évaluation de l'efficacité des procédés et des procédures de traitement, diagnostic technique et sanitaire, formations...



Références clients

EDF, ALTIS SEMICONDUCTOR, BWT PERMO, CNRS, SOCODEI, INSTITUT PASTEUR, CREDIT AGRICOLE, BNP PARIBAS, GDF SUEZ, COFELY, CLIMESPACE...



Surveillance DES EAUX ULTRA-PURES

LE CONTEXTE

- Dans l'industrie pharmaceutique, l'eau est la **matière première la plus utilisée** (ingrédient, nettoyant, solvant, agent de stérilisation, excipients...).
- L'eau est le plus souvent **produite et distribuée par l'établissement pharmaceutique** (système de production d'eau ultra-pure).
- La **contamination bactérienne** de ce type d'eau entraîne des coûts de non qualité conséquents et un investissement important pour l'entretien du système de production.
- La méthode de surveillance microbiologique la plus répandue reste la **culture des germes revivifiables** à 30°C de 24 heures à 5 jours.



MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

LE BESOIN

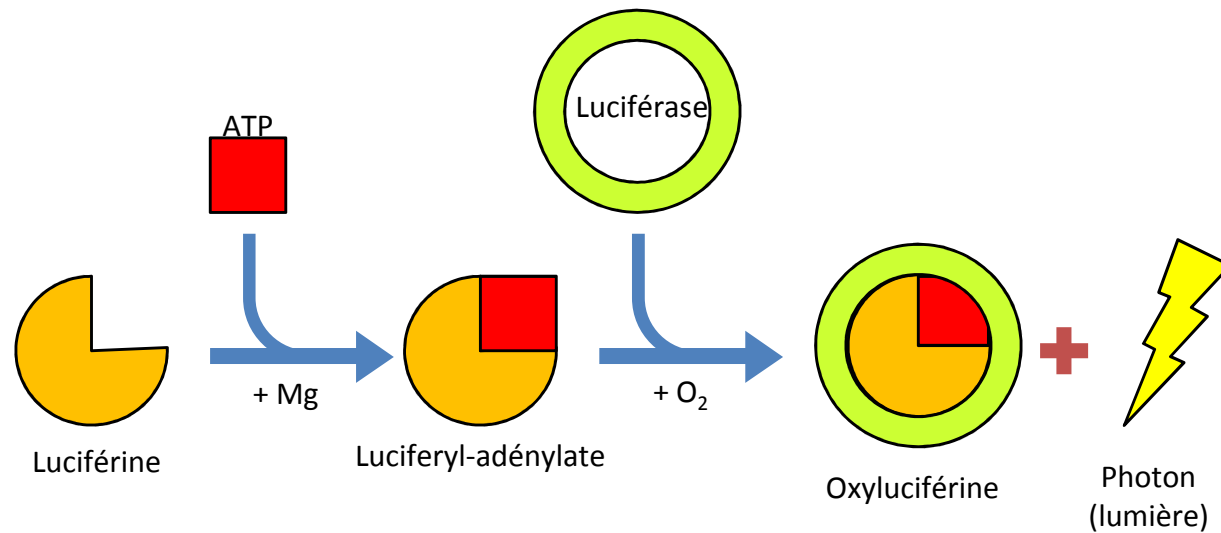
- **Inconvénients** de la méthode de surveillance par culture :
 - Résultats obtenus après minimum 24 heures, alors que l'eau a déjà été utilisée (faible réactivité, impact économique important hors limites de qualité),
 - Aucune méthode par culture ne permet de dénombrer la flore dite « totale », d'une culture à l'autre : 0,1 à 1% de la flore est cultivée (non détection et le biofilm prolifère),
 - La mesure ne prend en compte que les bactéries aérobies ; or faible taux d'oxygène dissous dans l'eau ultra-pure,
 - La technique est peu sensible pour de faibles concentrations de micro-organismes.

- **Besoin** : un monitoring spécifique de **haute sensibilité** et la mise en place d'une mesure **plus fiable et plus pertinente**.

MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

QUANTIFICATION DE LA FLORE TOTALE PAR BIOLUMINESCENCE

L'adénosine triphosphate (ATP) est l'intermédiaire énergétique de toutes les réactions métaboliques chez **tous les organismes vivants** = carburant des cellules.



MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

PRINCIPE DE LA METHODE (PROTOCOLE SIMPLIFIE)



1- **Prélèvement** d'un échantillon de 1 litre d'eau à analyser (ou filtration directement sur le point de prélèvement),



2- **Concentration** des bactéries par filtration sur membrane de porosité 0,45µm,



3- **Lyse** des microorganismes et extraction de l'ATP sur le filtre,



4- **Mesure** de la luminescence issue de la réaction dans un luminomètre,



5- **Contrôle** et **calibration** par ajout dosé dans chaque extrait.



MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

PERFORMANCES validées

- **Sensibilité** de la mesure (détection à partir de 0,1 picogramme d'ATP par litre).
- **Volume de prélèvement** représentatif (filtration sur 1 litre).
- Méthode **quantitative** (unité : picogramme d'ATP/ml). Un consensus international scientifique a établi la relation suivante : 1pgATP = 1000 bactéries (en moyenne).
- Méthode **robuste, fidèle** avec une **incertitude connue** et maîtrisée (0,2 log).
- **Etalonnage** et **vérification** de l'activité enzymatique avec contrôle de l'inhibition par ajout dosé à chaque mesure.
- **Rapidité** de la réponse (test réalisé en moins de 2mn).
- **Accessibilité** sur le terrain.



MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

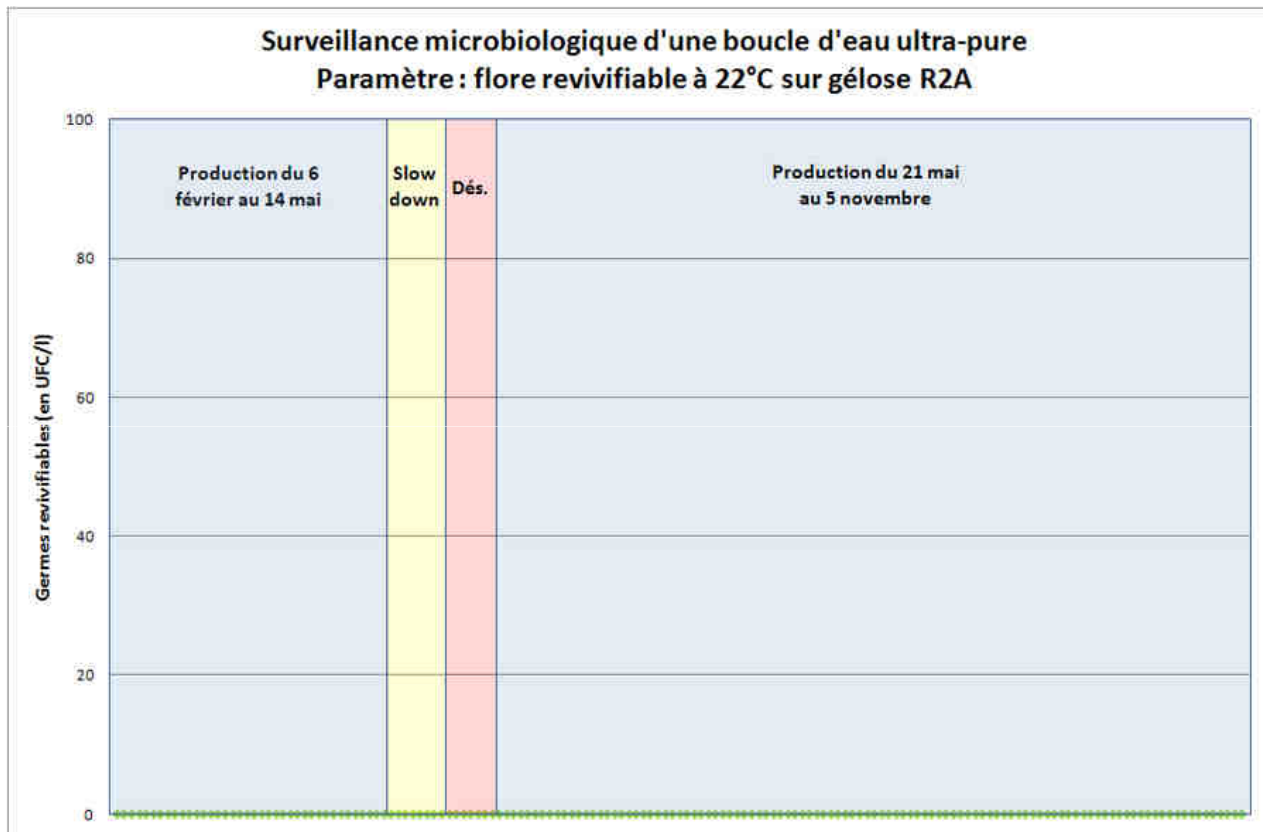
PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

- **Objectif** : comparaison des méthodes de surveillance microbiologique
 - Quantification des germes revivifiables sur milieu R2A à 22°C pendant 48h,
 - Quantification de la biomasse totale par ATP-métrie (kit **DENDRIDIAG® UPW**).
- **Installation étudiée** : boucle d'eau ultra-pure en industrie de la micro-électronique.
- **Echantillonnage** : prélèvement 3x/semaine de l'eau ultra-pure sur 9 mois.

Période de test	Nombre d'échantillons
Production du 6 février au 14 mai	39
Slow Down	7
Production du 21 mai au 5 novembre	87
Opération de désinfection	6

MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

RESULTATS OBTENUS – PARAMETRE CULTURE (en UFC/litre)



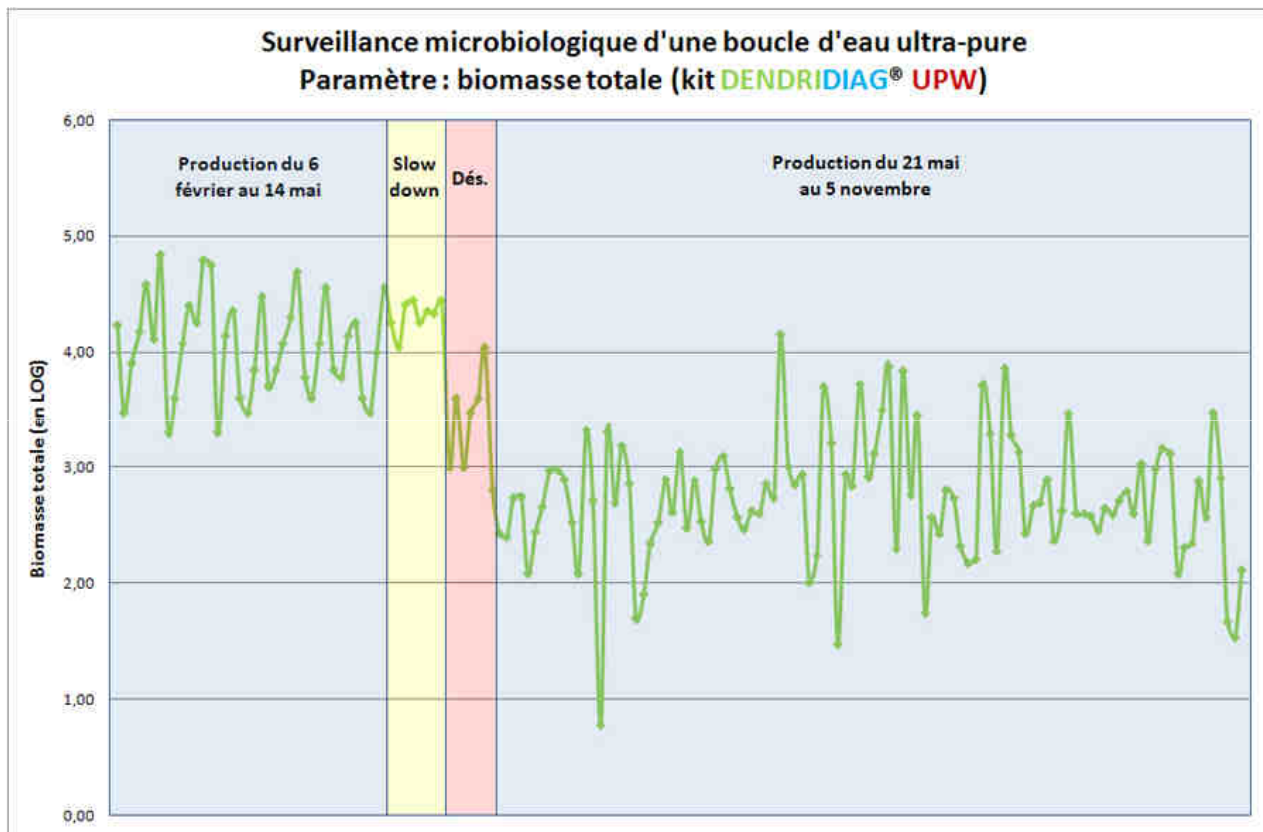
- Sur 9 mois de tests (157 analyses), toutes les analyses par culture présentent un **résultat négatif** (0 UFC/l).

- La mesure est **peu fiable** et **peu pertinente**.

- La méthode par culture reste **peu sensible** pour de faibles concentrations de micro-organismes.

MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

RESULTATS OBTENUS – PARAMETRE ATP (en fg ATP/litre - Echelle log)



- Le paramètre ATP semble intéressant au regard des sensibilités observées.

- Evaluation de l'impact des traitements et optimisation de ces derniers.

- Mesure de toutes les bactéries viables, cultivables et non cultivables.

- Pas de corrélation avec la culture.



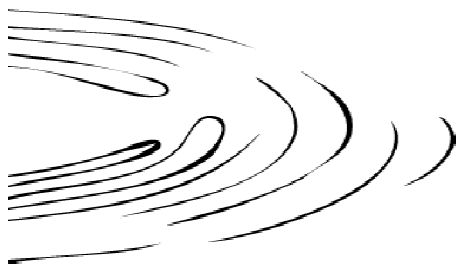
MONITORING DES EAUX ULTRA-PURES

CONCLUSIONS

- **Sécurisation** de la production.
- **Compréhension** et **amélioration** de la maîtrise des phénomènes microbiologiques.
- Mise en place des **limites de qualité** (carte de contrôle) et des **actions correctives** et accroissement de la **réactivité**.
- **Optimisation** traitements et opérations de maintenance.
- Évaluation de **l'efficacité des procédures** de nettoyage et de décontamination.
- Cette démarche s'inscrit logiquement dans l'objectif de **réduction des coûts** de production (diminution des coûts de non qualité), et de **réduire l'empreinte environnementale** de l'usine par économie de produit de traitement.



MERCI DE VOTRE ATTENTION



GL BIOCONTROL – Laurent GARRELY (Directeur Scientifique)
Le Mas Bas – CIDEX 1040 – 30 250 ASPERES
GSM : +33 (0)6 81 71 31 83 - Fax : +33 (0)9 55 25 40 31
Email : contact@gl-biocontrol.com - Web : www.gl-biocontrol.com