



# MODE OPERATOIRE DU KIT **DENDRIDIAG<sup>®</sup> BF**

Quantification de la flore totale présente sur une surface par ATP-métrie

*- LUMINOMÈTRE KIKKOMAN PD30 -*



## **SOMMAIRE**

<b>GL BIOCONTROL</b>	<b>page 4</b>
<b>Qu'est-ce que l'ATP-métrie ?</b>	<b>page 5</b>
<b>L'ATP-métrie de GL BIOCONTROL</b>	<b>page 6</b>
<b>Matériel nécessaire</b>	<b>page 7</b>
<b>Protocole</b>	<b>page 8</b>
<b>Interprétation des résultats</b>	<b>page 11</b>
<b>Gestion des anomalies</b>	<b>page 13</b>
<b>Contrôles</b>	<b>page 14</b>
<b>Contact</b>	<b>page 15</b>

## GL BIOCONTROL

La société GL BIOCONTROL est spécialisée dans la maîtrise des risques environnementaux.

Nos clients sont des professionnels de l'environnement : industriels, exploitants, sociétés de maintenance, traiteurs d'eau, laboratoires, bureaux d'études et collectivités publiques.

Nous sommes organisés autour de 5 activités : les études, la recherche & développement, les analyses, les produits et les formations. À travers ces domaines d'activité, GL BIOCONTROL :

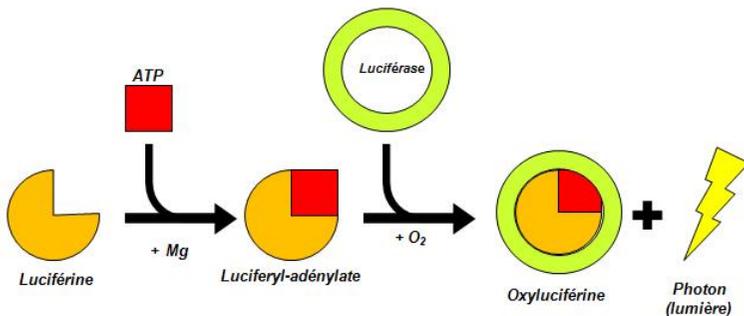
- **Développe** des outils de surveillance du risque microbiologique (mesures par ATP-métrie permettant de quantifier la flore totale présente dans les eaux et sur les surfaces).
- **Utilise** des méthodologies et les outils modernes de la biologie pour étudier le monde microbien (qPCR, NGS, ATP-métrie...).
- **Étudie** les écosystèmes de l'environnement pour anticiper et prévenir les risques sanitaires liés en particulier aux genres *Legionella* et *Pseudomonas* (analyse méthodique des risques, diagnostic microbiologique, cartographie ATP...).
- **Conseille** les acteurs de « la filière eau » dans la conduite de leurs installations pour réduire le risque sanitaire et l'empreinte environnementale (biosurveillance des circuits, pack de surveillance, évaluation de l'efficacité des procédés et des procédures de traitement...).
- **Forme** les professionnels de l'environnement sur la gestion des risques microbiologiques et sur les techniques de laboratoire.

## Qu'est-ce que l'ATP-métrie ?

L'**adénosine triphosphate** (ATP) est l'intermédiaire énergétique majeur et obligatoire de très nombreuses réactions du métabolisme cellulaire. Toute cellule vivante produit et consomme de l'ATP. Ce coenzyme est **spécifique des milieux vivants**, on considérera que toute trace d'ATP est le témoin d'une trace de vie.

Quantifier l'ATP présent à l'intérieur des cellules revient à **quantifier les microorganismes totaux** (flore totale ou biomasse totale).

L'**ATP-métrie** est une technique de mesure basée sur le principe de la **bioluminescence**. La lumière émise par une **réaction enzymatique** utilisant la luciférine et la luciférase de luciole est mesurée :

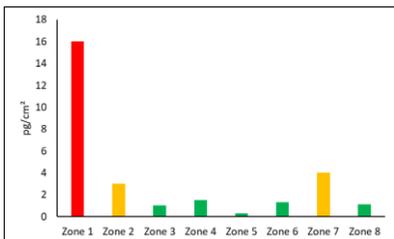


L'ATP, en présence d'un complexe Luciférine/Luciférase et d'un catalyseur, libère de l'énergie sous forme de **lumière**. En mesurant la quantité de lumière émise à l'aide d'un **luminomètre**, on en déduit la **quantité d'ATP en picogramme par centimètre carré**. La flore totale, exprimée en **équivalent bactéries par centimètre carré**, est calculée à partir de la relation suivante : 1 picogramme  $\approx$  1 000 bactéries.

La méthode de mesure de la flore totale par ATP-métrie est un **test de terrain** dont le résultat est obtenu en quelques minutes.

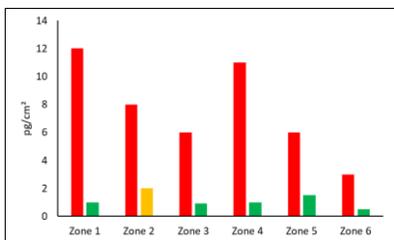
## L'ATP-métrie de GL BIOCONTROL

L'ATP-métrie de GL BIOCONTROL vous permettra :



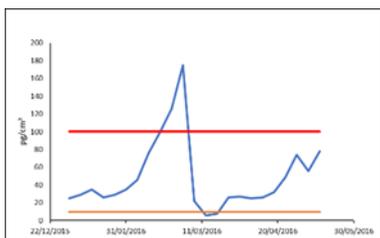
### De contrôler l'état des locaux :

- Maitriser l'encrassement biologique.
- Gérer les risques pour la santé publique.
- Éviter les arrêts de production.



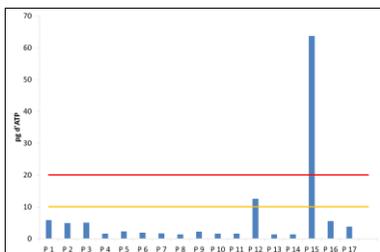
### D'évaluer l'efficacité de vos procédures de traitement :

- Valider les différentes phases :
  - Nettoyage (biodispersant),
  - Désinfection (biocide).
- Valider les procédures de traitement.



### Gérer l'évolution du biofilm dans une canalisation :

- Contrôler l'état d'encrassement de la canalisation.
- Déclencher et valider les procédures de nettoyage.



### D'identifier les zones posant problème :

- Caractériser les zones critiques à forte prolifération.
- Adapter la stratégie de nettoyage et de désinfection.
- Identifier le dysfonctionnement d'un élément d'un process.

## Matériel nécessaire

### Kit de réactifs pour 100 mesures

Produit	Quantité
Flacon compte-gouttes DENDRIDIAG® BF *	5
Flacon compte-gouttes EXTRACTANT *	5
Flacon compte-gouttes STANDARD 1000 *	2

### Kit de consommables pour 100 mesures

Produit	Quantité
Ecouvillon de prélèvement stérile	100
Tube en polypropylène stérile	100

### Equipements

Produit	Quantité
Gabarit de prélèvement en acier inoxydable de 20 cm <sup>2</sup>	1
Luminomètre KIKKOMAN PD30 ou équivalent	1
Porte-tube compatible PD30	1

*\* Les flacons compte-gouttes doivent être stockés au congélateur (env. -18°C) et à l'abri de la lumière. Ils peuvent être conservés 12 mois a minima. Suite à leur première utilisation, ces réactifs seront préférentiellement recongelés, ou à défaut conservés au réfrigérateur (3 - 8°C) et à l'abri de la lumière jusqu'à 8 semaines.*

## Protocole

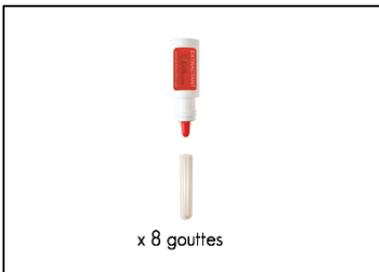
### Installation



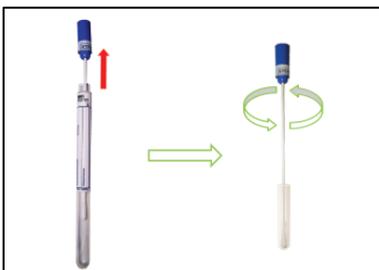
Décongeler un flacon de chaque réactif (**DENDRIDIAG® BF**, **EXTRACTANT** et **STANDARD 1000**). Laisser les revenir à température ambiante (supérieure à 18°C).

Préparer les consommables plastiques (écouvillon et tube) ainsi que le gabarit de prélèvement. Allumer le luminomètre et attendre 10 secondes la fin de la calibration de l'appareil.

### Prélèvement



S'assurer que le réactif **EXTRACTANT** ait atteint une température proche de la température ambiante (< 18°C) et déposer 8 gouttes d'**EXTRACTANT** au centre du tube de mesure.



Sortir l'écouvillon de son emballage en prenant soin de ne pas toucher (doigt ou surface) l'extrémité en coton.

Plonger l'extrémité en coton dans le tube de mesure contenant l'**EXTRACTANT**.



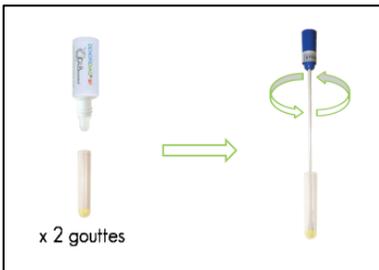
Présenter le gabarit sur la surface à prélever.

Frotter la surface délimitée par le gabarit (20 cm<sup>2</sup>) à l'aide de l'écouvillon. Effectuer *a minima* deux passages sur la surface dans deux sens différents.



**A partir de cette étape, aucun temps de pause n'est permis.**

### Mesure



**S'assurer que le réactif soit proche de la température ambiante (>18°C). Chauffer entre vos mains si nécessaire.**

Déposer 2 gouttes de **DENDRIDIAG® BF** au centre du tube de mesure contenant l'**EXTRACTANT**.

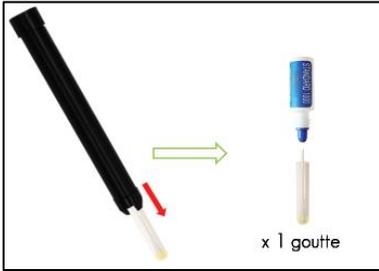
Introduire l'écouvillon dans le tube et homogénéiser en tournant l'écouvillon.



Casser le bâtonnet au niveau du point de rupture en maintenant l'écouvillon dans le tube.

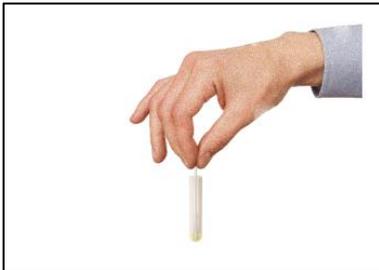
Fixer le tube au porte-tube compatible PD30. Placer l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur « Entrer » pour lancer la mesure.

Noter le résultat R1 (en RLU).



Immédiatement, sortir l'ensemble (porte-tube & tube) du luminomètre.

Décrocher le tube et introduire au centre une goutte de **STANDARD 1000** (ajout dosé).



Homogénéiser correctement le milieu réactionnel en utilisant la tige de l'écouvillon.



Fixer le tube au porte-tube compatible PD30.

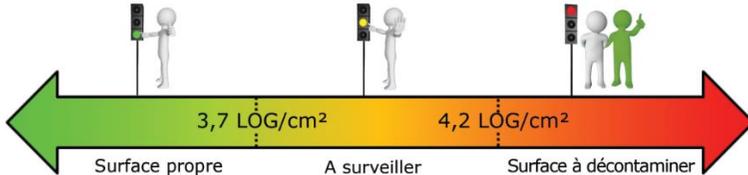
Replacer l'ensemble dans le luminomètre, refermer le capot et appuyer sur « Enter ».

Noter le résultat R2 (en RLU).



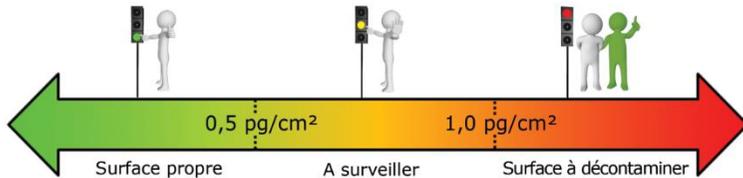
Des limites de surveillance et de contrôle ont été établies à partir de notre expérience. Ces seuils sont à affiner en fonction des premiers résultats obtenus sur vos installations. Les flèches suivantes vous aideront à **interpréter vos résultats** :

Surface piscine en cours d'exploitation (en LOG/cm<sup>2</sup>)

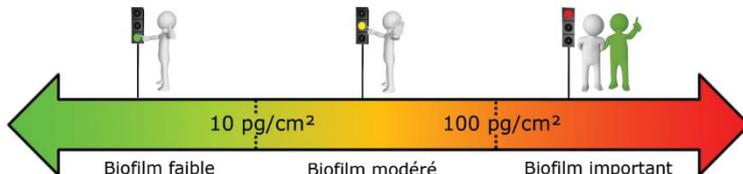


NB : un livret est spécialement dédié à cette application.

Surface en production agroalimentaire (en pgATP/cm<sup>2</sup>)



Surface d'une canalisation d'un circuit d'eau (en pgATP/cm<sup>2</sup>)



On considère que lorsqu'une mesure est :

- **Sous le seuil de surveillance**, la surface est sous contrôle microbiologique,
- **Entre le seuil de surveillance et le seuil de contrôle**, la surface ne présente pas de danger immédiat. Une action corrective est recommandée si 3 mesures consécutives se situent dans cette zone,
- **Supérieure au seuil de contrôle**, la surface n'est pas sous contrôle microbiologique. Une action corrective rapide est recommandée.

Dans le fichier Excel, le résultat est affiché en vert, orange ou rouge selon s'il se trouve sous le seuil de surveillance, entre le seuil de surveillance et de contrôle ou au-dessus du seuil de contrôle.

## Gestion des anomalies

Problème rencontré	Commentaires et suggestions
Affichage « Faible sensibilité. Si nécessaire, prélevez une surface plus grande. » dans le tableur Excel.	Le réactif DENDRIDIAG® BF n'est pas suffisamment actif (périmé, dégradé ou trop froid) pour obtenir une bonne sensibilité. Réchauffer le réactif DENDRIDIAG® BF et l'EXTRANCTANT. Prélever une surface plus grande. Si le problème persiste, effectuer un <i>Contrôle de l'efficacité des réactifs</i> . Reportez-vous en page 14.
Affichage « Contrôlez le mélange du Standard, la température et l'état des réactifs. » dans le tableur Excel.	L'ajout dosé ne s'est pas effectué correctement. Tapoter le tube sur une surface plane, homogénéiser le mélange en tournant l'extrémité de l'écouvillon dans le tube, et relancer la mesure. Si le problème persiste, le réactif DENDRIDIAG® BF n'est pas actif (périmé, dégradé ou froid). Réchauffer le réactif DENDRIDIAG® BF et l'EXTRANCTANT et effectuer un <i>Contrôle de l'efficacité des réactifs</i> . Reportez-vous page 14.
Affichage « Echantillon fortement contaminé. Si nécessaire, prélevez une surface plus petite. » dans le tableur Excel.	La concentration en ATP dans l'échantillon est trop élevée. Recommencer la manipulation en prélevant une surface plus petite.

## Contrôles

### *Contrôle de la contamination de l'appareil*

- Fixer un tube de mesure vide au porte-tube compatible PD30,
- Introduire l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur le bouton « Enter »,
- Le résultat doit être inférieur ou égal à 2 RLU. Sinon, à l'aide d'un écouvillon en coton, nettoyer les surfaces internes de la chambre de mesure (réceptacle au porte-tube).

### *Contrôle de la contamination des réactifs*

- Dans un tube, déposer 2 gouttes de **DENDRIDIAG® BF** et 4 gouttes d'**EXTRACTANT**,
- Fixer le tube au porte-tube compatible PD30,
- Introduire l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur le bouton « Enter »,
- Le résultat doit être inférieur à 5 RLU. Sinon, éliminer les réactifs contaminés et choisir un nouveau flacon de **DENDRIDIAG® BF** et d'**EXTRACTANT**.

### *Contrôle de l'efficacité des réactifs*

- Dans un tube, déposer 2 gouttes de réactif **DENDRIDIAG® BF**, 4 gouttes d'**EXTRACTANT**, et 1 goutte de **STANDARD 1000** (la température des réactifs doit être supérieure à 18°C),
- Fixer le tube au porte-tube compatible PD30,
- Homogénéiser en tapotant le fond du tube sur une surface plane,
- Introduire l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur le bouton « Enter »,
- Pour une bonne efficacité des réactifs, le résultat affiché doit être supérieur à 130 RLU. Sinon, éliminer les réactifs qui ne présentent pas une efficacité optimale et choisir un nouveau flacon de **DENDRIDIAG® BF** et d'**EXTRACTANT**.

## Contact

Pour toute aide ou informations complémentaires sur l'interprétation des résultats, le protocole de mesure ou pour des informations commerciales, contacter par mail ou téléphone :

**Yannick FOURNIER**

**Ingénieur Commercial**

9, avenue de l'Europe - Cap Alpha

34 830 CLAPIERS (FRANCE)

GSM : +33 (0)6 33 64 42 29

Tél. : +33 (0)9 67 39 35 20

Email : [y.fournier@gl-biocontrol.com](mailto:y.fournier@gl-biocontrol.com)

**Clément FAYE**

**Ingénieur de recherche**

9, avenue de l'Europe - Cap Alpha

34 830 CLAPIERS (FRANCE)

GSM : +33 (0)6 72 70 46 98

Tél. : +33 (0)9 67 39 35 20

Email : [c.faye@gl-biocontrol.com](mailto:c.faye@gl-biocontrol.com)

Un tutoriel vidéo du protocole de test est disponible dans la clé USB livrée avec l'appareil de mesure ou sur notre site internet dans l'onglet Produits – Kit d'ATP-métrie pour surface :

[www.gl-biocontrol.com](http://www.gl-biocontrol.com)

### 4 façons de commander facilement



par email à [contact@gl-biocontrol.com](mailto:contact@gl-biocontrol.com),



par fax au + 33 (0)9 55 25 40 31,



par téléphone au + 33 (0)9 67 39 35 20,



par courrier à GL BIOCONTROL - 9, avenue de l'Europe, Cap Alpha - 34 830 CLAPIERS (FRANCE).

>>> [www.gl-biocontrol.com](http://www.gl-biocontrol.com)



9, avenue de l'Europe - Cap Alpha

34 830 CLAPIERS (FRANCE)

GSM : +33 (0)9 67 39 35 20

Tél. : +33 (0)9 67 39 35 20

Email : [contact@gl-biocontrol.com](mailto:contact@gl-biocontrol.com)

Web : [www.gl-biocontrol.com](http://www.gl-biocontrol.com)