

GLBIOCONTROL

R A P I D M I C R O B I A L D I A G N O S T I C

MODE OPERATOIRE DU KIT DENDRIDIAG® IW

Mesure des bactéries dans une eau industrielle par ATP-métrie

- EAU INDUSTRIELLE & EAU DE REFROIDISSEMENT -

SOMMAIRE

GL BIOCONTROL	page 3
Qu'est-ce que l'ATP-métrie quantitative ?	page 4
Applications	page 5
Matériel nécessaire	page 6
Répondre à la réglementation	page 7
Protocole	page 8
Interprétation des résultats	page 11
Gestion des anomalies	page 13
Contrôles	page 15
Contact	page 16

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.

Tous les produits développés par la société sont fabriqués en France.

Qu'est-ce que l'ATP-métrie quantitative ?

L'**ATP-métrie** est une technique microbiologique qui donne une **évaluation de la charge bactérienne** dans un échantillon d'eau en **2 minutes**.

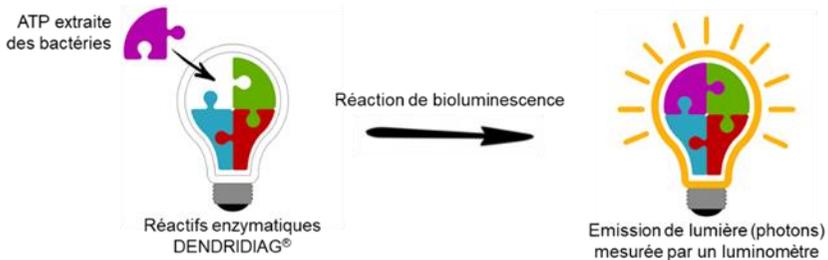


Elle est basée sur la détection des molécules d'ATP (carburant des cellules) qui sont présentes seulement chez les organismes vivants :

« Toute trace d'ATP est le témoin d'une trace de vie. »

► Voir la vidéo

Une fois extraite des bactéries, l'ATP réagit avec nos réactifs, dont l'enzyme luciférase issue de la queue des lucioles. La quantité de lumière émise, directement **proportionnelle au nombre de bactéries**, est mesurée par un luminomètre.

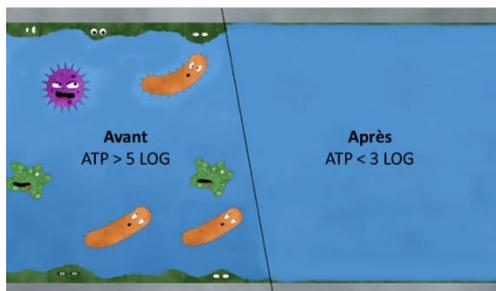


Chaque mesure est rendue **quantitative** grâce à l'ajout d'un standard qui prend en compte les facteurs environnementaux (température, pH, inhibiteurs...).

1 pg d'ATP ≈ 1 000 bactéries

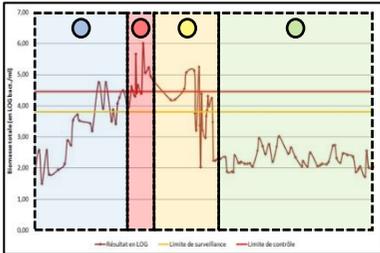
Cette analyse de terrain, simple et fiable, est un véritable **outil d'aide à la décision** permettant d'anticiper le risque « légionelle », valider les traitements, rechercher la cause de problèmes...

Exemple de nettoyage/désinfection



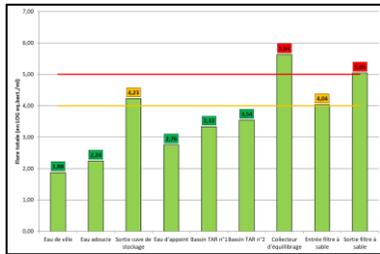
Applications

L'ATP-métrie de GL BIOCONTROL vous permettra :



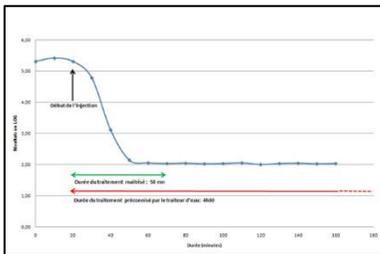
D'anticiper le risque « légionelles » :

- Eviter les non-conformités.
- Maitriser l'encrassement biologique.
- Éviter les arrêts de production.
- Optimiser la stratégie de traitement.



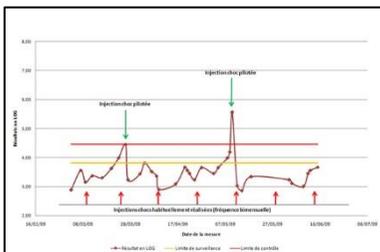
D'identifier les zones propices au développement biologique :

- Caractériser les points critiques du circuit d'eau en temps réel.
- Détecter un élément de réseau produisant de la biomasse (adoucisseur, stockage, filtre, collecteur d'équilibrage...).



D'évaluer l'efficacité des désinfections préventives ou curatives :

- Valider la procédure de désinfection.
- Sélectionner la molécule active optimale.
- Adapter la concentration et le temps de contact du biocide.
- Gagner du temps sur la mobilisation des hommes et l'arrêt des installations.



De préserver l'environnement et l'installation :

- Améliorer l'impact environnemental en réduisant la consommation de biocides.
- Limiter la corrosion.
- Adapter la stratégie de traitement des désinfections chocs.
- Réduire jusqu'à 40% les coûts de traitement.

Répondre à la réglementation

Arrêtés du 14 décembre 2013 (rubrique 2921)

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

L'exploitant peut mettre en œuvre tout procédé de traitement, physique et/ou chimique, dont il démontre l'efficacité sur la gestion du risque de prolifération et dispersion des légionelles.

(DC : article 3.7-I-2.b /
E : article II-5-I-2.b)

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

L'exploitant justifie du choix des produits de traitements utilisés [...] au regard des paramètres propres à l'installation.

(DC : article 3.7-I-2.b / E :
article II-5-I-2.b)



L'ATP-métrie permet de **valider le choix et l'efficacité des biocides** pendant toute la durée de fonctionnement de l'installation.

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

L'exploitant s'efforce de concevoir le traitement préventif de manière à limiter l'utilisation de produits néfastes pour l'environnement.

(DC : article 3.7-I-2.b / E :
article II-5-I-2.b)

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Les concentrations des produits dans l'eau du circuit sont mises en œuvre à des niveaux efficaces ne présentant pas de risque pour l'intégrité de l'installation.

(DC : article 3.7-I-2.b / E :
article II-5-I-2.b)



L'ATP-métrie permet d'**optimiser la stratégie de traitement** pour assurer en permanence un **dosage raisonné**.

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Si l'exploitant se trouve dans l'impossibilité technique ou économique de réaliser l'arrêt annuel, il doit proposer la mise en œuvre de mesures compensatoires.

(DC : article 3.7-I-2.c / E :
article II-5-I-2.c)

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

L'exploitant identifie les indicateurs physico-chimiques et microbiologiques pertinents qui permettent de diagnostiquer les dérives au sein de l'installation.

(DC : article 3.7-I-2.b / E :
article II-5-I-3)



L'ATP-métrie est un des **meilleurs indicateurs microbiologiques** du marché permettant d'anticiper toute dérive du circuit.

Matériel nécessaire

Kit de réactifs pour 60 mesures*

Produit	Quantité
Flacon compte-gouttes EXTRACTANT	1
Flacon compte-gouttes STANDARD	1
Sachet de 10 tubes de mesure LUMITUBE	6

Kit de consommables pour 60 mesures

Produit	Quantité
Flacon de prélèvement 60 ml stérile	60
Seringue stérile de 10 ml	60
Filtre stérile de porosité 0,45 µm	60

Equipement

Produit	Quantité
Luminomètre KIKKOMAN SMART ou équivalent	1
Porte-tube	1

* Les réactifs peuvent être stockés à température ambiante et à l'abri de la lumière pour une période de 3 mois. Pour une conservation optimale sur 1 an, nous vous recommandons de les stocker au réfrigérateur (2 - 8°C).

Protocole

Prélèvement

Réaliser le prélèvement selon les bonnes pratiques. A minima, purger le point de prélèvement pendant 30 sec puis placer le flacon sous le flux d'eau sans modifier le débit d'écoulement. Une fois plein, retirer le flacon du flux d'eau puis stopper l'écoulement.

L'analyse doit être effectuée dans les 4h qui suivent l'échantillonnage. Sinon, réaliser le prélèvement dans des flacons contenant du thiosulfate de sodium et conserver au réfrigérateur. Le délai entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 48h.

Installation



Sortir les flacons d'**EXTRACTANT** et de **STANDARD**, et un sachet de **LUMITUBE**.



S'assurer qu'ils soient à température ambiante (>18°C) avant de débiter l'analyse.

Préparer les consommables plastiques (flacon, seringue et filtre), et allumer le luminomètre.

Filtration de l'échantillon



Ouvrir un sachet de **LUMITUBE** et prendre un lumitube.

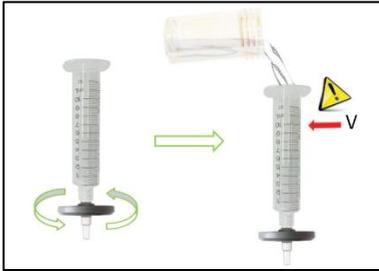
A l'aide du porte-tube, retirer le bouchon et déposer le lumitube sur le portoir fourni.



Sortir la seringue de son emballage.

Retirer le piston et le déposer en veillant à ne pas toucher l'extrémité noire avec la main ou le plan de travail.

Ouvrir l'opercule plastique du filtre sans jeter l'emballage.



Visser fermement la seringue sur le filtre pour assurer l'étanchéité.

Verser le contenu du flacon d'eau prélevée dans le corps de seringue.

 **Noter le volume d'eau filtré.**



Replacer le piston dans la seringue.

Filter la totalité de l'échantillon jusqu'à sentir une résistance. Stopper alors la pression.

Ne pas faire descendre le piston jusqu'au fond de la seringue pour ne pas sécher le filtre.

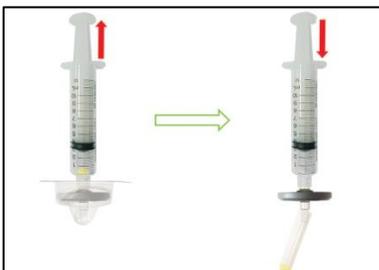
Mesure

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



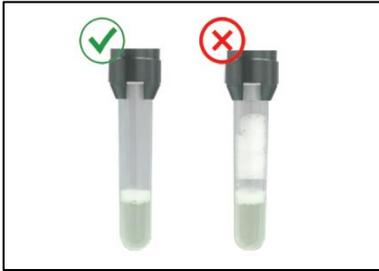
Déposer 4 gouttes d'**EXTRACTANT** au fond de la cupule plastique du filtre.

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



Placer la pointe du filtre dans le fond de la cupule, aspirer en une seule fois la totalité de l'**EXTRACTANT** et maintenir la dépression.

Par une pression constante sur le piston de la seringue, repousser le réactif dans le lumitube jusqu'à l'apparition d'une mousse blanche.



Stopper dès que la mousse apparait dans le lumitube. La photo ci-contre montre l'aspect que doit avoir le réactif dans le lumitube.

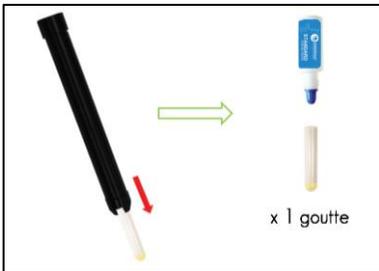
Une pression trop forte ou longue crée une mousse intermédiaire entre le réactif et le haut du lumitube (à éviter afin que le **STANDARD** se mélange correctement).



Fixer le lumitube au porte-tube.

Placer l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur « ENTER » pour lancer la mesure.

Noter le résultat R1 (en RLU).



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

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



Fixer le lumitube au porte-tube et **homogénéiser correctement** en tapotant le lumitube sur une surface plane.

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

Noter le résultat R2 (en RLU).

Interprétation des résultats

Pour interpréter les résultats, deux solutions s'offrent à vous :

- L'application tablette & smartphone : **DENDRIDIAG® APP**
- Le tableur Excel.



► Télécharger l'app



Entrez le volume filtré ainsi que les valeurs R1 et R2 mesurées par le luminomètre.

Les calculs se font automatiquement et sont donnés en :

- **picogramme** d'ATP par millilitre (pg ATP/ml),
- en **équivalent bactérie** par millilitre (eq.bact./ml),
- en **logarithme** par millilitre (LOG eq.bact./ml).

Grâce à un code couleur, vous visualisez immédiatement si une action corrective doit être mise en place.

Le fichier Excel offre une traçabilité des résultats et permet le suivi de l'installation dans le temps et dans l'espace.

Dans le cas où vous effectuez un **suivi de votre réseau dans le temps**, remplissez la feuille « BIOSURVEILLANCE ». Un graphique se trace automatiquement.

⇒ *Il est conseillé de réaliser un suivi hebdomadaire a minima de l'eau d'appoint et de l'eau du circuit.*

Dans le cas où vous effectuez une **cartographie de votre réseau**, remplissez la feuille « CARTOGRAPHIE ». Un graphique se trace automatiquement.

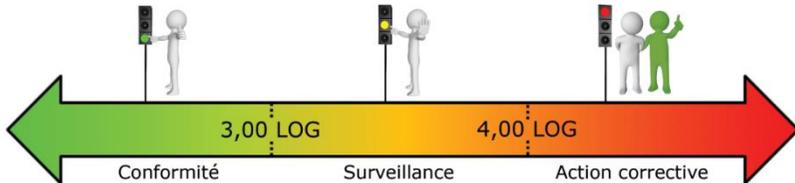
⇒ *Il est conseillé de réaliser une mesure en amont et en aval de chaque élément important du réseau.*



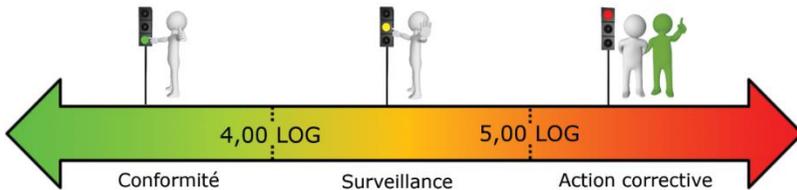
Une évolution de la flore totale est considérée comme significative si elle évolue de plus de 1,00 LOG.

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

Eau d'appoint du circuit industriel (en LOG eq.bact./ml) :



Eau du circuit industriel (en LOG eq.bact./ml) :



On considère que lorsqu'une mesure est :

- **Sous le seuil de surveillance**, l'installation est sous contrôle microbiologique,
- **Entre le seuil de surveillance et le seuil de contrôle**, l'installation 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**, l'installation 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 des réactifs. Augmentez le volume filtré. » dans le tableur Excel.	<p>L'enzyme contenue dans le lumitube n'est pas suffisamment active (périmée ou dégradée), ou l'EXTRACTANT est trop froid.</p> <p>Réchauffer l'ensemble des réactifs à une température supérieure à 18°C et filtrer un plus grand volume d'eau. Si le problème persiste, effectuer un Contrôle de l'efficacité des réactifs (cf. page 15).</p>
Affichage « Contrôlez le mélange du Standard, la température et l'état des réactifs. » dans le tableur Excel.	<p>L'ajout dosé ne s'est pas effectué correctement. Tapoter le lumitube sur une surface plane, homogénéiser et relancer la mesure.</p> <p>Si le problème persiste :</p> <ul style="list-style-type: none">- L'enzyme contenue dans le lumitube n'est pas suffisamment active (périmée, dégradée) ou l'EXTRACTANT est trop froid. Réchauffer les réactifs et effectuer un Contrôle de l'efficacité des réactifs (cf. page 15).- L'échantillon a un effet inhibiteur. Recommencer la mesure en rinçant la membrane avec de l'eau stérile ou une solution spécifique après filtration de l'échantillon (consulter GL BIOCONTROL).

Affichage « Echantillon fortement contaminé. Si nécessaire, réduisez le volume filtré. » dans le tableur Excel. La concentration en ATP dans l'échantillon est trop élevée. Recommencer la manipulation en choisissant un volume de filtration plus faible (1/10ème environ).

Trop de mousse dans le lunitube. Incliner le lunitube pour faire couler le réactif le long de la paroi et stopper la pression dès l'apparition de la mousse. Bien homogénéiser le lunitube après l'ajout du **STANDARD** en tapotant la base sur une surface plane.

Peu de réactif ressort de la seringue. Vous avez certainement séché le filtre. Recommencer la manipulation en veillant à ne pas sécher le filtre lors de l'étape de filtration. Stopper la pression sur la seringue lorsque vous sentez une résistance.

Colmatage du filtre. Le filtre peut se colmater si l'eau est fortement chargée en bactérie.

- Si vous êtes parvenu à filtrer au moins 10% de l'échantillon : notez le volume filtré, dévissez le filtre et vider la seringue. Replacez le piston en laissant une garde d'air de 3 ml. Revissez le filtre sur la seringue et continuez le protocole.
- Si vous ne parvenez pas à filtrer : diluez votre échantillon en ne versant qu'1 ml dans la seringue et en complétant jusqu'à 10 ml avec de l'eau stérile (consulter GL BIOCONTROL).

Contrôles



Afin d'optimiser le fonctionnement de votre luminomètre et de le maintenir en bon état de marche, nous vous conseillons **d'effectuer une révision annuelle**. Nous restons à votre disposition pour effectuer cette prestation.

Contrôle de la contamination de l'appareil

- Introduire le porte-tube dans le luminomètre et appuyer sur « ENTER »,
- Le résultat doit être inférieur ou égal à 2 RLU. Si ce n'est pas le cas, 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 du réactif

- Dans un lumitube, déposer 4 gouttes d'**EXTRACTANT**,
- Fixer le lumitube au porte-tube,
- Introduire l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur « ENTER »,
- Le résultat doit être inférieur à 5 RLU. Si ce n'est pas le cas, votre flacon d'**EXTRACTANT** est probablement contaminé. Contactez GL Biocontrol pour plus de support technique.

Contrôle de l'efficacité des réactifs

- Dans un lumitube, déposer 4 gouttes d'**EXTRACTANT** et 1 goutte de **STANDARD** (la température des réactifs doit être supérieure à 18°C),
- Fixer le lumitube au porte-tube,
- Homogénéiser en tapotant le fond du lumitube sur une surface plane,
- Introduire l'ensemble dans le luminomètre et appuyer sur « ENTER »,
- Pour une bonne efficacité des réactifs, le résultat affiché doit être supérieur à 400 RLU. Si ce n'est pas le cas, les lumitubes sont probablement dégradés. Eliminer ce sachet et choisir un nouveau sachet de **LUMITUBE**.

Contact

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

Yannick FOURNIER

Ingénieur Commercial

5, avenue de l'Europe - Hélioparc

34 830 CLAPIERS (FRANCE)

Tél. : +33 (0)6 33 64 42 29

Tél. : +33 (0)9 67 39 35 20

Email : y.fournier@gl-biocontrol.com

Nicolas FABRE

Dirigeant technique

5, avenue de l'Europe - Hélioparc

34 830 CLAPIERS (FRANCE)

Tél. : +33 (0)6 81 71 31 83

Tél. : +33 (0)9 67 39 35 20

Email : n.fabre@gl-biocontrol.com

Un tutoriel vidéo est disponible dans la clé USB livrée avec l'appareil de mesure, sur notre site internet (<https://gl-biocontrol.com/tutoriels>), ou ici :



◀ **Tutoriel vidéo**

3 façons de commander facilement

@ par email à sales@gl-biocontrol.com,

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

✉ par courrier à GL BIOCONTROL - 5, avenue de l'Europe, Hélioparc - 34 830 CLAPIERS (FRANCE).

>>> www.gl-biocontrol.com