



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® SW**

Mesure des bactéries dans l'eau sanitaire par ATP-métrie

- EAUX SANITAIRES (EFS & ECS) -

SOMMAIRE

GL BIOCONTROL	page 3
Qu'est-ce que l'ATP-métrie quantitative ?	page 4
Applications	page 5
Matériel nécessaire	page 6
Protocole	page 7
Interprétation des résultats	page 10
Gestion des anomalies	page 12
Contrôles	page 14
Contact	page 15

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**.

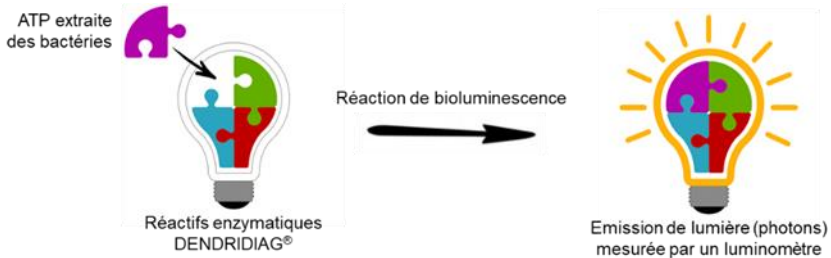


► Voir la vidéo

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. »

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.

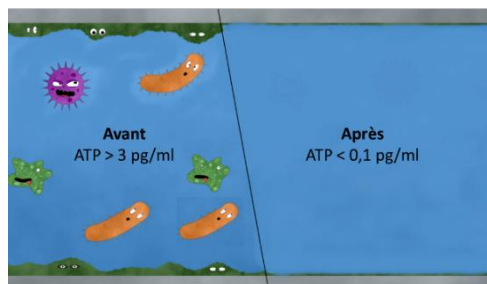


Chaque mesure est rendue **quantitative** grâce à l'ajout d'un standard qui prend en compte les facteurs environnementaux (température, pH, inhibiteurs...).

1 pg d'ATP \approx 1 000 bactéries

Cette analyse de terrain, simple et fiable, est un véritable **outil d'aide à la décision** permettant la validation des nettoyages et désinfections, la recherche de problèmes, la gestion de crise...

Exemple de nettoyage/désinfection



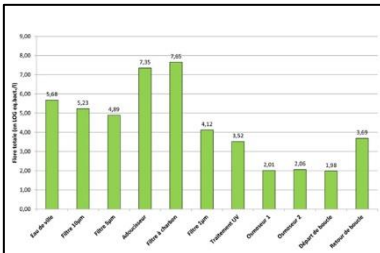
Applications

L'ATP-métrie de GL BIOCONTROL vous permettra :



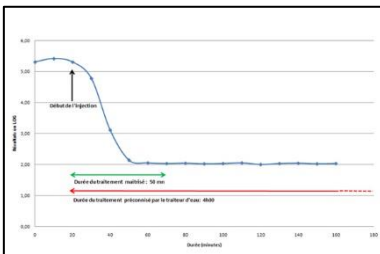
D'anticiper les dérives de votre installation :

- Maîtriser l'encrassement biologique entre deux contrôles réglementaires.
- Gérer les risques pour la santé publique.
- Éviter les arrêts de production.
- Optimiser les températures ou le traitement continu.



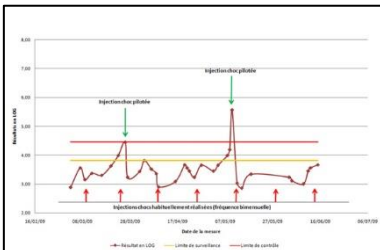
D'identifier les zones propices au développement :

- Caractériser les points critiques du circuit d'eau en temps réel.
- Détecter un élément de réseau produisant de la biomasse.
- Identifier un dysfonctionnement hydraulique (équilibrage) ou un défaut de température.



D'évaluer l'efficacité de vos procédures de nettoyage et désinfection :

- Valider les différentes phases de vos opérations de nettoyage (solution alcaline) et désinfection (biocide).
- Réduire le temps de mobilisation des hommes et le temps d'arrêt de l'installation.
- Limiter la corrosion.



De piloter les opérations d'exploitation :

- Déclencher les gammes de maintenance (chasses, purges...).
- Déclencher la désinfection d'un élément de réseau (ex : adoucisseur).
- Déclencher le remplacement d'un élément de réseau (filtre terminal, pompeau...).
- Valider les opérations d'exploitation.

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 50 ml	60
Filtre stérile de porosité 0,45 µm	60

Equipements

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

Selon les bonnes pratiques, flamber le point de prélèvement ou le nettoyer à l'aide d'une lingette. Purger le point de prélèvement pendant 30 sec minimum pour les eaux froides et jusqu'à obtenir une température stable pour les eaux chaudes.

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 l'heure suivant le prélèvement. Sinon, prélever l'eau dans un flacon contenant du thiosulfate de sodium.

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.

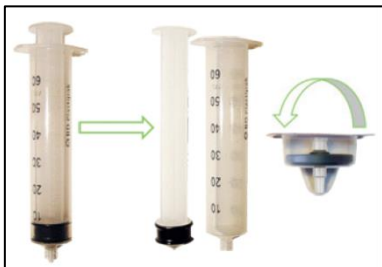
Préparer les consommables plastiques (flacon, seringue et filtre), et allumer le luminomètre.

Filtration de l'échantillon



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

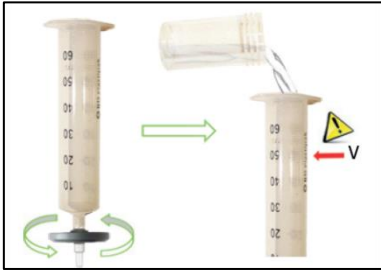
A l'aide du porte-tube, retirer le bouchon et déposer le lumitube sur le portoir fourni.



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.

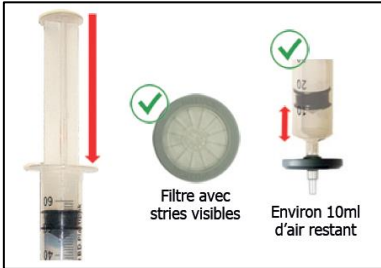


Visser fermement la seringue sur le filtre pour assurer l'étanchéité.

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.

Filtrer 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



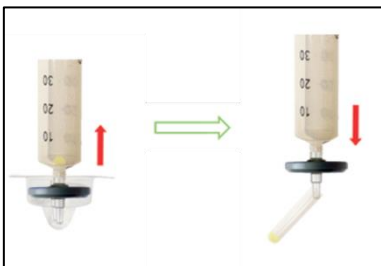
**S'assurer que le réactif soit proche de la température ambiante (>18°C).
Chauffer entre vos mains si nécessaire.**



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 sur le piston de la seringue (progressive au début puis forte et constante à la fin), repousser le réactif dans le lumitube jusqu'à l'apparition d'une mousse blanche. Pour plus de facilité, pousser avec la paume de la main.



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

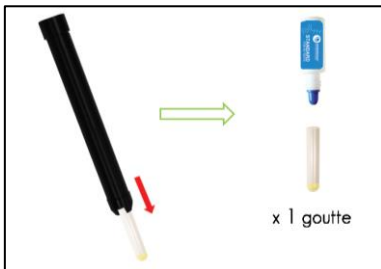
Une pression trop forte ou longue crée une mousse intermédiaire entre le réactif et le haut du lumitube (à éviter afin que le **STANDARD** se mélange correctement).



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.

[illegible]

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 la qualité d'eau.

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

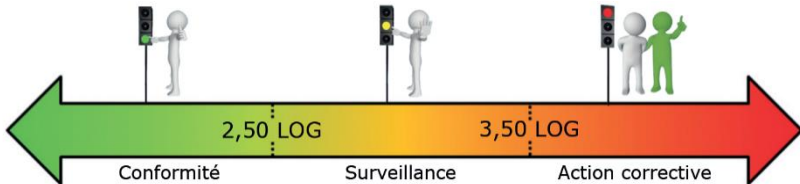
⇒ Il est conseillé de réaliser une mesure en amont et en aval de chaque élément important du réseau.



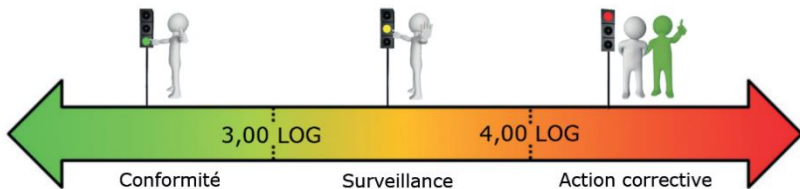
Une évolution de la flore totale est considérée comme significative si elle évolue de plus de 1,00 LOG.

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

Réseau d'eau froide sanitaire (en LOG eq.bact./ml) :



Réseau d'eau chaude sanitaire (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 <i>Contrôle de l'efficacité des réactifs</i> (cf. page 14).</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. Si le problème persiste :</p> <ul style="list-style-type: none">- L'enzyme contenue dans le lumitube n'est pas assez active (périmée, dégradée) ou l'EXTRACTANT est trop froid. Réchauffer les réactifs et effectuer un <i>Contrôle de l'efficacité des réactifs</i> (cf. page 14).- 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.	<p>La concentration en ATP dans l'échantillon est trop élevée. Recommencer en choisissant un volume de filtration plus faible ($\approx 1/10^{\text{ème}}$).</p>

Difficulté à obtenir la mousse.	Utiliser la paume de la main pour appuyer sur le piston et maintenir la pression quelques secondes. Si le problème persiste, demander conseil à GL BIOCONTROL.
Trop de mousse dans le lumitube.	Incliner le lumitube pour faire couler le réactif le long de la paroi et stopper la pression dès l'apparition de la mousse. Bien homogénéiser le lumitube 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.	<p>Le filtre peut se colmater si l'eau est fortement chargée en bactérie.</p> <ul style="list-style-type: none">- Si vous êtes parvenu à filtrer au moins 10% de l'échantillon : notez le volume filtré, dévissez le filtre et vider la seringue. Remplacez le piston en laissant une garde d'air de 10 ml. Revissez le filtre et continuez le protocole classique.- Si vous ne parvenez pas à filtrer : diluez votre échantillon en ne versant que 5 ml dans la seringue et en complétant jusqu'à 50 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 « 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 tube 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

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

5, avenue de l'Europe - Hélioparc

34 830 CLAPIERS (FRANCE)

Tél. : +33 (0)9 67 39 35 20

Email : contact@gl-biocontrol.com

Web : www.gl-biocontrol.com