

# Aquagenx® CBT EC+TC (Test de sachet à compartiments) Kit NPP (Numéro le Plus Probable) Instructions d'utilisation : Dilution 1:10 pour eaux de surface et récréatives

#### **Aperçu**

Le kit Aquagenx CBT EC+TC NPP détecte et quantifie simultanément les bactéries *E. coli* (EC) et Total Coliform (TC) dans un échantillon de 100 ml. Il utilise un milieu de croissance en poudre exclusif avec un substrat de glucose appelé X-Gluc. Lorsque E. coli métabolise ce substrat dans le milieu de croissance d'Aquagenx, la couleur de l'eau devient bleue, indiquant la présence d'E. coli. Le milieu de croissance contient également un substrat galactoside fluorogène appelé MUGal. Si des Total Coliformes sont présents, ils métabolisent ce substrat fluorogène et l'échantillon devient fluorescent en bleu sous une lumière UV (365 nm). Les résultats du test NPP (Numéro le Plus Probable) sont obtenus par une correspondance de couleur en utilisant le tableau NPP à code de couleur Aquagenx. Le groupe Total Coliformes de bactéries comprend E. coli, qui est un coliforme fécal ainsi qu'un coliforme thermotolérant. Toutes les bactéries Total Coliformes ne sont pas E. coli.

Guide de dilution et dilutions des eaux usées : <a href="https://www.aquagenx.com/dilutions-cbt-ectc/">https://www.aquagenx.com/dilutions-cbt-ectc/</a>
Documentation de produit : <a href="https://www.aquagenx.com/product-documents/">https://www.aquagenx.com/product-documents/</a>

#### Durée de conservation et stockage du milieu de croissance

Le milieu de croissance en poudre Aquagenx® EC+TC reste stable pendant trois ans après sa date de fabrication à une température de 25 °C. La date d'expiration et le numéro de lot sont imprimés sur le paquet du milieu.

Conserver à une température de 4 à 25 °C dans un environnement sec. Le milieu de croissance peut être conservé au réfrigérateur. La chaîne du froid du milieu de croissance Aquagenx EC+TC n'est pas nécessaire.

Résumé des procédures de test pour le kit CBT EC+TC NPP dilution 1:10

Prélevez un échantillon	Ajoutez le milieu de	Versez l'échantillon dans	Déroulez le joint Whirl-Pak
de 100 ml	croissance en poudre	le sachet à	et fixez le clip plastique
	Control of the contro	compartiments	2 2 2 2 5
Laissez incuber 20 à	Contrôlez les résultats EC	Contrôlez les résultats	Décontaminez
48 heures	à la lumière ambiante	TC à la lumière UV dans	l'échantillon
1 2 4 5		un environnement sombre	

Comment interpréter les changements de couleurs dans les résultats du test

Couleur du compartiment dans le sachet à compartiments	Jaune/jaune brun sous lumière ambiante sans fluorescence bleue sous lumière UV	Jaune/jaune brun qui Fluoresce bleu sous lumière UV	Bleu/bleu vert sous lumière ambiante	Bleu/bleu vert qui Fluoresce bleu sous lumière UV
E. coli	Négatif	Négatif	Positif	Positif
Total Coliformes	Négatif	Positif	Positif	Positif

#### Base du tableau des Nombres les Plus Probables (NPP) d'Aquagenx® CBT

Le tableau Aquagenx CBT NPP était à l'origine conçu pour les tests d'eau potable et se basait sur les Recommandations pour la Qualité de l'Eau Potable de l'Organisation mondiale de la Santé, 4e édition. Nous avons modifié le tableau NPP de la page 4 pour refléter une dilution de 1:10, qui augmente la gamme CBT de bactéries détectables selon un facteur de 10. Le NPP d'E. Coli pour 100 ml est estimé à partir de la combinaison des compartiments positifs (couleur bleue) et négatifs (pas de couleur bleue) dans le sachet à compartiments Aquagenx. Le NPP des Total Coliformes par 100 ml est estimé à partir de la combinaison des compartiments positifs (fluorescence bleue sous lumière UV) et négatifs (aucune fluorescence bleue sous la lumière UV) dans le sachet à compartiments.

#### Critères de qualité de l'eau récréative de l'U.S. EPA 2012

Les catégories de risque du tableau NPP d'Aquagenx sont basées sur la Recommandation 1 de l'EPA pour E. coli

CRITÈRES	Recommandation 1 Incidence de la malac	lie estimée 36/1,000	Recommandation 2 Incidence de la maladie estimée 32/1,000	
Indicateur	GM (cfu/100 ml)	STV (cfu/100 ml)	GM (cfu/100 ml)	STV (cfu/100 ml)
Enterococci (marine et fraiche)	35	130	30	110
E. coli (fraiche)	126	410	100	320

Source : Service des eaux de l'U.S. EPA, EPA-820-F-12-061, fiche sur les critères de qualité de l'eau récréative

## NOTES DE PROCÉDURE. VOIR VIDÉOS TUTORIELLES: https://www.aquagenx.com/how-to-use-cbt-ectc/

## 1. Préparez la surface de travail

• Désinfectez la surface de travail à l'aide d'une solution de désinfection, de papier absorbant ou de lingettes

# 2. Prélevez un échantillon de 100 ml d'eau à ajouter dans le Whirl-Pak $^{\circledR}$ Thio-Bag $^{\circledR}$

- Le port de gants en plastique est recommandé. Si vous n'avez pas de gants, ne touchez pas l'intérieur du sachet Thio à mains nues.
- La pastille blanche à l'intérieur du sachet Thio est du thiosulfate de sodium, qui neutralise le résidu de chlore encore présent dans l'échantillon. Ne la retirez pas du sachet.
- Remplissez une pipette stérile de 10 ml avec l'échantillon d'eau et versez-le dans le sachet Thio.

# 3. Ajoutez 90 ml de diluant au Thio-Bag Whirl-Pak

- Ajoutez 90 ml d'eau exempte de E. coli au sachet Thio-Bag (jusqu'à la ligne de remplissage de 100 ml).
- Options de diluant : méthodes standard tampon de phosphate ; réactif aqueux stérilisé en autoclave ou bouilli ; eau du robinet stérilisée en autoclave ou bouillie ; eau en bouteille de haute qualité certifiée. Certaines eaux vendues en bouteilles sont produites localement et ne sont pas saines microbiologiquement ; eau distillée de source commerciales et vendu en bouteilles correctement scellées. Bien que pas nécessairement stériles, elles doivent être exemptes de E. coli.
- Notez les détails de l'échantillon comme la date, l'heure et le lieu.

# 4. Ajoutez le milieu de croissance Aquagenx EC+TC à l'échantillon dans le sachet Thio Whirl-Pak

Nous recommandons de débuter la procédure de test dans les 6 heures qui suivent le recueil de l'échantillon. N'ajoutez

pas le milieu de croissance dans le sachet Thio avant d'être prêt à réaliser l'intégralité de la procédure de test.

- Ouvrez le paquet du milieu de croissance. Déchirez le côté dentelé du paquet de support le plus proche des lettres EXP.
- Versez le milieu de croissance dans le sachet Thio. Ne touchez pas le milieu de croissance à mains nues.
- Enroulez le joint Whirl-Pak et fermez le sachet Thio.
- Dissolvez le milieu dans l'échantillon. Agitez doucement le sac jusqu'à ce que le milieu soit complètement dissous.
   Vous pouvez presser les amas de poudre pour les aider à se dissoudre plus rapidement.

# 5. Versez l'échantillon contenant le milieu de croissance dissout du sachet Thio dans le sachet à compartiments Aquagenx

- Étiquetez le sachet à compartiments ou apposez l'étiquette de code-barres sur le sachet à compartiments.
- Détachez le joint perforé situé sur le haut du sachet.
- Frottez le haut et les côtés du sachet pour qu'il s'ouvre afin que l'échantillon puisse s'écouler dans chacun des compartiments.
- Utilisez les languettes blanches situées en haut du sachet à compartiments pour ouvrir le sachet. Ne touchez pas l'intérieur du sachet à mains nues.
- Versez délicatement l'échantillon dans le sachet tout en inclinant et en pressant légèrement le sachet pour répartir l'échantillon dans les cinq compartiments.
- Remplissez de manière égale les cinq compartiments jusqu'à la ligne de remplissage.

#### 6. Scellez le sachet à compartiments

- Enroulez le joint Whirl-Pak en haut du sachet à compartiments et fermez-le.
- Fixez le clip du joint en plastique sur le sachet à compartiments pour prévenir toute fuite dans les compartiments. Placez la partie en U du clip sur la largeur du sachet sur la ligne de remplissage et sous les ouvertures des compartiments. Placez la partie en forme de tige du clip de l'autre côté du sachet à compartiments et clipsez dans la partie en U pour fermer à demeure.

#### 7. Durée et températures d'incubation

- Durant la période d'incubation, les CBT peuvent développer une odeur. Pour contrôler celle-ci, placez les CBT dans un autre sachet en plastique scellé ou un conteneur pendant toute la durée de l'incubation.
- L'incubation à température ambiante fonctionne à une température comprise entre 25 et 37 °C pour la détection de E. coli et/ou de Total Coliformes.
- Le CBT fonctionnant à des températures variables, un contrôle constant de la température dans un incubateur n'est pas nécessaire.
  - Cependant, à des températures plus basses, une incubation à température constante est recommandée, si elle est possible.
- Notez : au-delà de 40 °C, certains Total Coliformes sont inhibés et les résultats peuvent être inexacts.
- Pour assurer la conformité avec la réglementation, les échantillons doivent être incubés à une température de 35 à 37 °C pendant une durée de 20 à 24 heures pour pouvoir détecter et quantifier *E. coli* et les Total Coliformes.
- Le CBT peut aussi être utilisé pour détecter et quantifier les coliformes thermotolérants (fécaux) au lieu des Total Coliformes, si les échantillons CBT sont incubés à une température de 44,5 °C (entre 44 et 45 °C) pendant une durée d'incubation de 20 à 24 heures. Un strict contrôle de la température est requis pour cette procédure.

#### Durée d'incubation recommandée dans des conditions de température ambiante :

Entre 35 et 37 °C: Laissez incuber 20 heures

Entre 31 et 34 °C : Laissez incuber entre 24 et 30 heures Entre 25 et 30 °C : Laissez incuber entre 40 et 48 heures

En-dessous de 25 °C : laissez incuber dans un incubateur portable à une température de 35 à 37 °C pendant 24 heures ou placez dans ou à côté d'une autre source de chaleur pendant 48 heures maximum, en fonction de la température. Au-delà de 40 °C : certains Total Coliformes sont inhibés et le résultat peut ne pas être précis pour les Total Coliformes.

#### Voir « Conseils sur durée d'incubation »: https://www.aquagenx.com/product-documentation/

#### 8. Notez et enregistrez les résultats du test NPP

- Maintenez le sachet à compartiments à côté du tableau Aquagenx NPP de la page 4 pour noter les résultats de test.
- E. coli vue sous lumière ambiante :
  - O Le compartiment jaune/jaune-brun est négatif pour E. coli (absence).
  - O Le compartiment bleu/bleu-vert est positif pour *E. coli* (présence). Les compartiments positifs comportent toute trace de bleu/bleu-vert, tel qu'une ou plusieurs tâches bleu/bleu-vert ou de sédiment bleu/bleu-vert au fond de l'un des compartiments.
- Total coliforme éclairage UV (365 nm) sur le sachet à compartiments dans un environnement sombre :
  - O Les compartiments qui fluorescent en bleu sont positifs aux Total Coliformes. Cela comprend les compartiments qui sont jaunes/jaunes bruns à la lumière ambiante qui fluorescent en bleu sous la lumière UV.
  - O Les compartiments qui fluorescent en bleu/bleu-vert à la lumière ambiante (positifs pour *E. coli*) sont par définition également positifs pour les Total Coliformes.
- Faites correspondre la séquence de couleur des cinq compartiments à l'une des lignes codées à 32 couleurs du tableau NPP pour obtenir les résultats du test NPP pour *E. coli* et les Total Coliformes.
- Enregistrez les résultats du test.

#### 9. Décontaminez l'échantillon

- Ajoutez 4 ml de javel liquide (NaOCl) ou suffisamment de tablettes de chlore (hypochlorite de calcium ou dichloroisocyanurate de sodium) au sachet à compartiments pour obtenir environ 200 milligrammes de chlore libre.
- Après 30 minutes, versez le contenu dans le bac, les toilettes ou un trou pratiqué dans le sol et éliminez le sachet à compartiments.
- Conservez le clip du joint en plastique en vue de sa réutilisation.

# Aquagenx® CBT Tableau : Le Nombre le Plus Probable (NPP) adapté pour une dilution 1:10

Alignez votre sachet à compartiments de sorte que le compartiment No 1 soit à gauche et le compartiment No 5 à droite. Associez la séquence de couleurs des cinq compartiments à l'une des 32 rangées à code couleur. Chaque compartiment est noté en fonction des critères suivants (voir également le diagramme de couleur à la page 1) :

- Le compartiment jaune avec et sans exposition à la lumière UV est négatif pour E. coli et les Total Coliformes.
- Le compartiment jaune avec une fluorescence bleue sous lumière UV est positif pour les Total Coliformes.
- Le compartiment bleu à la lumière ambiante est positif pour E. coli et par définition est également positif pour les Total Coliformes



	N° compartiment					MPN/100mL	Niveau de confiance supérieur à 95% / 100ml	Catégorie de risqué sanitaire des eaux récréatives de l'U.S. EPA basée sur le niveau de confiance MPN et supérieur à 95%
Ligne	1	2	3	4	5			
N°:	10 ml	30 ml	56 ml	3 ml	1 ml			
1						0	28.70	Faible risque / Sûr
2						10	51.40	
3						10	47.40	
4						11	51.60	
5						12	56.40	
6						15	78.10	
7						20	63.20	
8						21	68.50	
9						21	66.40	
10						24	78.10	Faible risque / Probablement sûr
11						24	81.20	
12						26	85.10	
13						32	83.80	
14						37	97.00	
15						31	113.60	
16						32	118.30	
17						34	125.30	
18						39	104.30	$\dashv$
19						40	109.40	
20						47	227.50	
21						52	147.30	
22						54	129.30	Faible risque / Possiblement sûr
23						56	171.40	1- OSSIDICITIENT SUI
24						58	168.70	
25						84	211.90	
26						91	370.40	Risque moyen /
27						96	376.80	Possiblement sûr
28						136	830.60	Risque élevé /
29						171	563.50	Probablement peu sûr
30						326	1455.50	Risque très élevé / Peu
31						483	3519.10	sur
32						>1000	94351.00	Très peu sûr
					Copyright	© 2013 Aquagen:	x, LLC	