



# Kit Aquagenx® GEL EC

## Test CFU (Colony Forming Units)

### Instructions d'utilisation : dilution de 1:10 des eaux de surface et récréatives

#### Aperçu

Le kit Aquagenx GEL EC CFU détecte et quantifie *E. coli* (EC) dans un échantillon d'eau de 100 ml. Sa limite de détection supérieure des eaux de surface et de plaisance est de 500 *E. coli* par 100 ml. Ce kit peut être utilisé pour analyser des échantillons d'eau de 100 ml, mais il peut s'avérer difficile de dénombrer les colonies de *E. coli* si ces colonies sont supérieures à 500 CFU/100 ml.

Le milieu de croissance EC du *E. coli* est un milieu de croissance de poudre chromogénique breveté composé d'un mélange de substrat qui permet de détecter la β-glucuronidase. La poudre GEL est un mélange breveté de gels absorbants d'origine végétale. Lorsque *E. coli* métabolise le support GEL d'Aquagenx, *E. coli* apparaît dans l'échantillon sous forme de colonies bleues. Ces colonies ont l'aspect de petits points ou de cercles.

Documentation de produit : <https://www.aquagenx.com/product-documents/>

Conseils de dilution : <https://www.aquagenx.com/dilutions-gel-ec/>

#### Durée de conservation du milieu de croissance

La poudre Aquagenx GEL et le milieu de croissance EC restent stables pendant trois ans après leur date de fabrication à une température de 25 °C. La date d'expiration et le numéro de lot sont imprimés sur les paquets du support.

#### Stockage du milieu de croissance

La plage de températures de stockage est de 4 à 25° Celsius dans un environnement sec. Le milieu de croissance peut être conservé au réfrigérateur. Une chaîne du froid de la poudre Aquagenx GEL et du milieu de croissance EC n'est pas nécessaire.

#### Résumé des procédures de test pour le kit GEL EC

Recueillir un échantillon de 10 ml, Ajouter 90 ml de diluant 	Ajouter le milieu de croissance en poudre EC dans le sachet Thio 	Ajouter la poudre GEL dans le sachet GEL 	Verser l'échantillon du sachet Thio dans le sachet GEL 
Dissoudre et mélanger le mélange GEL. Voir les étapes 4 et 5. 	Fermer le sachet GEL 	Laisser incuber à température ambiante ou dans un incubateur. Voir l'étape 6. 	Recenser les colonies bleues EC sous la lumière ambiante pour noter les résultats du test. Décontaminer l'échantillon. 

#### Comment identifier le changement de couleur des colonies

*E. coli* = colonies bleues (petits points ou cercles)

#### U.S. EPA 2012 critères de qualité des eaux de plaisance

CRITÈRES	Recommandation 1		Recommandation 2	
	Taux de morbidité estimé 36/1 000		Taux de morbidité estimé 32/1 000	
Indicateur	GM (cfu/100 ml)	STV (cfu/100 ml)	GM (cfu/100 ml)	STV (cfu/100 ml)
Enterococci (marine et frais)	35	130	30	110
<i>E. coli</i> (frais)	126	410	100	320

Source : Agence de l'eau de l'U.S. EPA, EPA-820-F-12-061, fiche des critères de qualité des eaux de plaisance

**NOTES DE PROCÉDURE. VOIR LES VIDÉOS PRATIQUES :** <https://www.aquagenx.com/how-to-use-gel-ec/>

#### 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. Recueillez un échantillon de 10 ml d'eau à l'aide du Thio-Bag™ Whirl-Pak™

- Portez des gants en plastique fins et jetables.
- 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 pipette avec un échantillon d'eau puis versez-la dans le sachet Thio.

#### 3. Ajoutez 90 ml de diluant dans le sachet Thio Whirl-Pak

- Ajoutez 90 ml d'eau exempte de *E. coli* dans le sachet Thio (jusqu'à la ligne de remplissage de 100 ml). Notez les détails de l'échantillon.
- Options de diluant : méthodes standards tampon de phosphate ; réactif aqueux bouilli ou stérilisé en autoclave ; eau du robinet bouillie ou stérilisée en autoclave ; eau en bouteille certifiée de haute qualité. Certaines eaux en bouteille sont produites localement et ne sont pas sûres au niveau microbiologique ; eau distillée d'origine commerciale et vendue en bouteilles correctement scellées. Bien que pas obligatoirement stérile, elle doit être exempte de *E. coli*.

#### 4. Ajouter le milieu de croissance Aquagenx EC 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.
- Déchirez vers le bas le côté dentelé du paquet de support EC le plus proche des lettres EXP. Versez le milieu de croissance en poudre dans le sachet Thio. Ne touchez pas le milieu de croissance à main nue.
- Déroulez le joint Whirl-Pak et fermez le sachet Thio.
- Répartissez le support dans l'échantillon. Secouez délicatement le sachet en appuyant sur les grumeaux de poudre jusqu'à ce que le support soit dissout.

#### 5. Préparez le sachet GEL plus important et ajoutez la poudre Aquagenx GEL

- Portez des gants en plastique fin jetables.
- Étiquetez le sachet GEL ou fixez l'étiquette de code-barres sur le sachet.
- Tenez le haut du sachet GEL à deux mains, retirez le joint refermable et secouez le sachet pour l'ouvrir partiellement.
- Déchirez le bord dentelé du paquet de poudre GEL le plus proche des lettres EXP. Versez la poudre GEL dans le milieu du sachet GEL. Ne touchez pas la poudre GEL à main nue.
- Répartissez la poudre dans le milieu du sachet en inclinant le sachet et en répandant la poudre avec les doigts.

•

## **6. Versez l'échantillon contenant le milieu de croissance EC dissout du sachet Thio dans le sachet Aquagenx GEL**

- Versez rapidement tout l'échantillon du sachet Thio dans le sachet GEL, mais ne fermez pas encore le sachet. Placez IMMÉDIATEMENT le sachet GEL sur une surface plate, utilisez RAPIDEMENT ET FERMEMENT la paume de la main pour forcer le mélange vers le fond du sachet. Écrasez les grumeaux de poudre pour faciliter leur disparition. Continuez jusqu'à ce que le mélange s'épaississe et devienne gélatineux.
- Lorsque la poudre est dissoute, répartissez le mélange jusqu'à obtenir une densité égale vers le haut du sachet.
- Lorsque le mélange est proche du haut du sachet, fermez le sachet.

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

- Pendant la période d'incubation, les tests GEL peuvent développer une odeur. Pour contrôler celle-ci, placez les sachets BAG dans une boîte ou un conteneur scellé. Déplacez les sachets GEL avec soin.
- Placez chaque sachet GEL sur une surface plate. N'empilez pas plus de deux sachets GEL l'un sur l'autre. Chaque sachet empilé doit être aligné bord à bord pour éviter que le sachet supérieur coule ou dépasse sur le sachet inférieur. À la fin de la durée d'incubation, déplacez les sachets avec soin.
- Une incubation à température ambiante fonctionne à n'importe quelle température comprise entre 25 et 37 °C pour pouvoir détecter *E. coli*.
- Le test GEL 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.
- Pour assurer la conformité avec la réglementation, les échantillons doivent être incubés à une température de  $35 \pm 0,5$  °C pendant une durée de 20 à 24 heures pour pouvoir détecter et quantifier *E. coli*. Si elle est possible, une incubation à une température de  $44,5 \pm 0,5$  °C pendant une durée de 2 à 24 heures permettra d'obtenir un fond plus net et de compter plus facilement les colonies de *E. coli* avec un échantillon de 100 ml.
- Le test GEL peut également permettre de détecter et de quantifier les coliformes thermotolérants (ou fécaux) si les échantillons de GEL sont incubés à une température de 44,5 °C (entre 44 et 4 °C) durant une période d'incubation de 20 à 24 heures. Un strict contrôle de 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 sur une surface plate

Entre 31 et 34 °C : Laissez incuber entre 24 et 30 heures sur une surface plate

Entre 25 et 30 °C : Laissez incuber entre 40 et 48 heures sur une surface plate

### **Durée d'incubation recommandée dans un incubateur**

35  $\pm$  0,5 °C : Laissez incuber entre 20 et 24 heures. En cas d'empilement de sachets GEL dans un incubateur, ne pas empiler plus de deux sachets l'un sur l'autre. Veillez à ce que les sachets soient couverts précisément pour éviter que le sachet supérieur ne coule ni ne dépasse sur le sachet du dessous. À la fin de la durée d'incubation, retirez les sachets de l'incubateur avec précaution.

## **8. Enregistrez les résultats du test CFU**

- À l'issue de la durée d'incubation adéquate, comptez le nombre de colonies dans le sachet GEL sous une lumière ambiante :
  - Les colonies *E. coli* sont les colonies bleues/bleues violettes.
  - Multiplier le nombre de colonies par 10. Par exemple : 28 points/colonies x 10 = 280 CFU/100mL
  - La limite de détection supérieure du test GEL de *E. coli* pour les eaux de surface et de plaisance est de 500 CFU/100 ml.

## **8. Décontaminez l'échantillon**

- Ajoutez 4 ml de javel liquide (NaOCl) ou suffisamment de tablettes de chlore pour fournir 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 GEL en respectant les consignes de sécurité.