

## RAPID'*P. aeruginosa* Agar pour le contrôle des eaux

356-4900  
356-3984

### DOMAINE D'APPLICATION

Le RAPID'*P.aeruginosa* (RAPID'PsA) est un milieu de culture chromogénique sélectif pour le dénombrement direct (sans confirmation) de *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode de filtration sur membrane.

Il est particulièrement adapté au contrôle des eaux de consommation humaine, notamment les eaux embouteillées et les eaux non traitées telles que les eaux de puits, lacs et rivières où la flore commensale hydrique est abondante et pour lesquelles le milieu normalisé est peu spécifique de *P. aeruginosa*.

### CERTIFICATION AFNOR selon le protocole AFNOR Rev 1

La méthode RAPID'*P.aeruginosa* pour le contrôle des eaux est certifiée NF Validation comme méthode alternative à la norme ISO 16266 pour le dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* à 36°C dans les eaux embouteillées selon le Référentiel de validation « Protocole de Validation d'une méthode alternative commerciale par rapport à une méthode de référence (révision 1) » (adopté par AFNOR Certification le 10/05/2010), sous le n° d'attestation :

**BRD 07/21 – 04/12.**

Pour toute information concernant la validité de la certification NF VALIDATION, consulter l'attestation disponible auprès de votre représentant BIO-RAD ou d'AFNOR Certification.



BRD 07/21 – 04/12  
Méthodes d'analyse de l'eau  
Performances analytiques certifiées  
[www.afnor-validation.org](http://www.afnor-validation.org)

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S) EAUX

- **EN ISO 16266 (08/2008)** : Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* - Méthode par filtration sur membrane.
- **NF T90-461/A2 (Mai 2007)** : Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture.

### PRINCIPE

Le principe du milieu RAPID'PsA repose sur la détection d'une activité enzymatique typique de *P.aeruginosa*. Sous son action, un substrat chromogénique spécifique est clivé conduisant à la formation d'un précipité bleu à bleu-vert sur les colonies de *Pseudomonas aeruginosa*.

Le mélange sélectif permet d'inhiber la majorité de la flore interférente, très importante dans l'eau, notamment les *Pseudomonas* non *aeruginosa*.

D'autres microorganismes peuvent cependant présenter une croissance. Leurs colonies apparaissent alors transparentes ou pigmentées jaune-vert et sont facilement distinguables de celles de *Pseudomonas aeruginosa*.

### PRESENTATION

- **RAPID'*P.aeruginosa* Agar\_ précoulé**  
55 mm x 20 boîtes **code 356-3984**
- **RAPID'*P.aeruginosa* Agar\_ déshydraté**  
500 g **code 356-4900**

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : +2-8°C à l'abri de la lumière.
- Déshydraté : +2-8°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit sec.
- Boîtes de Petri préparées par l'utilisateur : 15 jours à +2-8°C, à l'abri de la lumière
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

### FORMULE THEORIQUE

#### Milieu RAPID'*P.aeruginosa*

Mélange nutritif	14 g
Système tampon	2,15 g
Substrat chromogénique	0,13 g
Mélange sélectif	0,11 g
Agar	10 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,1 ± 0,2	

### AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

Eau distillée stérile

## MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Agitateur-homogénéisateur
- Dispositif de filtration
- Pinces pour la manipulation des membranes
- Pipettes stériles (1 ml, 5 ml...)
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 55 mm)
- Membranes filtrantes stériles
- Bain-marie avec une précision de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Tout matériel courant d'un laboratoire

## PREPARATION DU MILIEU

**Toujours agiter avant chaque utilisation.**

- Reprendre 26,4 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. En maintenant l'agitation, chauffer lentement et porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à  $121 \pm 3^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes.
- Refroidir jusqu'à environ  $44-47^{\circ}\text{C}$ .
- Répartir en boîte de Petri stérile (Ø 55 mm, épaisseur de 3 mm à 5 mm) à raison de 8 à 10 ml par boîte.
- Laisser solidifier sur une surface fraîche et horizontale.

**Taux de reconstitution : 26,4 g/l**  
**500 grammes de poudre permettent de réaliser 18,9 litres de milieu.**

## PROTOCOLE

### • Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

### • Ensemencement et incubation

- Filtrer stérilement sur membrane le volume d'eau à analyser selon l'origine de l'échantillon (par exemple 250 ml pour un échantillon d'eau embouteillée)
- Déposer la membrane, face quadrillée vers le haut, à la surface des milieux préalablement ramenés à température ambiante, en veillant à ce que le contact membrane-gélose soit parfait.
- Retourner les boîtes et incuber à  $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant **22-30 h**.

## LECTURE ET INTERPRETATION

### • Comptage des colonies (UFC)

Après incubation, effectuer la lecture par le dessus de la membrane. Compter comme *Pseudomonas aeruginosa* toutes les colonies bleues à bleues vertes quel que soit leur forme.

### • Expression des résultats/Calculs

Reporter le nombre *Pseudomonas aeruginosa* totaux par unité de volume d'échantillon filtré.

## PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le format déshydraté contient du Triclosan à 0,028%, classifié produit dangereux pour l'environnement :



N – Dangereux pour l'environnement

- **R51/53** : Toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.
- **S57** : Utiliser un récipient approprié pour éviter toute contamination du milieu ambiant.
- **S60** : Éliminer le produit et son récipient comme un déchet dangereux.  
La fiche de données de sécurité est disponible sur demande.
- Eviter d'enfermer des bulles d'air en dessous de la membrane lors de son dépôt sur la gélose. Un mauvais contact membrane-gélose peut entraîner un résultat erroné. Si nécessaire, aplatir doucement et avec précaution la membrane avec la pince.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

## PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

SOUCHES	Résultats après 22-30 h d'incubation à 36°C	
	CROISSANCE	COULEUR
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	+	bleue
<i>E. coli</i> ATCC 11775	Inhibition	NA

\*Rendement de fertilité : R = [66% - 150%]

NA : Non Applicable

## CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits Finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Balasubramanian D, K. Mathee (2009).** Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. Hum. Genomics, vol. 4. p. 349-361.
- **Husson MO, M. Hamze, S. Verhille, D. Izard. (2000).** *Pseudomonas* et *Burkholderia*. In: Précis de bactériologie Clinique. Freney F, F. Renaud, W. Hansen and C. Bollet. Eska. p.1259-1285.
- **Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007).** A glance on *Pseudomonas aeruginosa* phosphorylcholine phosphatase, an enzyme whose synthesis depends on the presence of choline in its environment. Applied Microbiology. p. 255-262.
- **Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998).** Constitutive choline transport in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiology Letters, vol. 162. p. 123-126 .

## MOTS CLES

RAPID'*P.aeruginosa* / *Pseudomonas aeruginosa* / Eaux / Eaux embouteillées / Dénombrement / Chromogène / Filtration / Milieu.