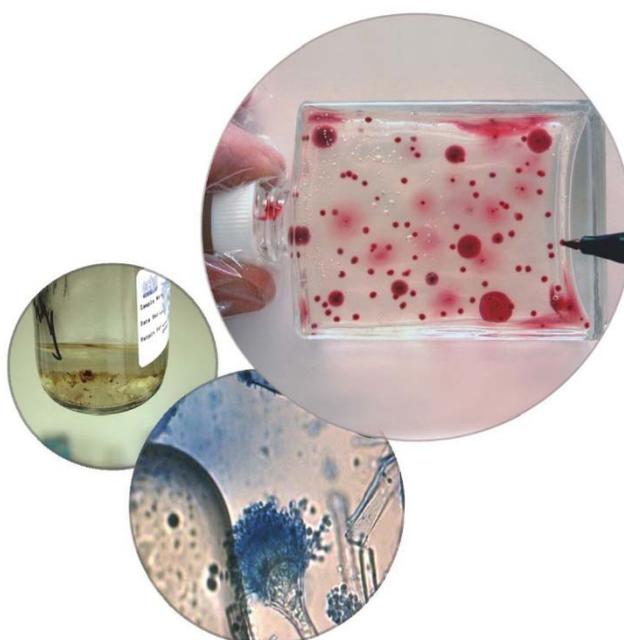


# MICROBMONITOR<sup>®</sup> 2

Pour la détection et le dénombrement des micro-organismes contaminant les carburants, les lubrifiants et l'eau

## Consignes d'utilisation



### Remarques importantes

Lisez attentivement les consignes d'utilisation avant de tester des échantillons.

Utilisez le test uniquement pour déceler une contamination des hydrocarbures et de l'eau associée. Utilisez le kit de test en respectant scrupuleusement les consignes d'utilisation et/ou les méthodes de test standard IP613 ou ASTM D7978, ou d'autres instructions approuvées par ECHA Microbiology Ltd. Les résultats se rapportent à la portion d'échantillon testée, et non nécessairement à d'autres hydrocarbures présents dans le système. Bien que l'utilisateur puisse demander de l'aide pour l'échantillonnage et l'interprétation des résultats, la responsabilité de conduire correctement l'échantillonnage et les procédures de test incombe à l'utilisateur final et non à ECHA Microbiology Ltd. Le kit de test est conçu pour détecter un spectre de micro-organismes reconnus et pertinents dans le domaine industriel. Toutefois, en microbiologie, il est normal que certains micro-organismes présents puissent ne pas être détectés par la procédure de test. ECHA Microbiology Ltd. n'endosse aucune responsabilité pour quelque décision ou jugement que ce soit découlant des résultats obtenus.

ECHA, Sig Test(s), Sig Sulphide et **MicrobMonitor** sont des marques déposées d'ECHA Microbiology Ltd. au Royaume-Uni, et sont des marques déposées et non déposées dans certaines autres régions du monde.

ECHA Microbiology Ltd, Units 22 & 23 Willowbrook Technology Park, Llandogo Road, St Mellons, Cardiff, RU, CF3 0EF  
Tél. : (44) 2920 440 350 Fax : +44 (0) 2920 361195 [sales@echamicrobiology.com](mailto:sales@echamicrobiology.com)

## QU'EST-CE QUE LE TEST MICROBMONITOR<sup>®</sup>2 ?

**MicrobMonitor2** est un kit de test simple et facile d'utilisation permettant l'évaluation quantitative du contenu microbien viable dans les hydrocarbures, y compris les carburants liquides, les huiles et les eaux associées. **MicrobMonitor2** permet d'effectuer des tests suivant les normes ASTM D7978 et IP613 (*Determination of the viable aerobic microbial content of fuels and associated water - Thixotropic Gel Culture Method*). **MicrobMonitor2** est recommandé dans le manuel *IATA Guidance Material on Microbiological Contamination in Aircraft Fuel Tanks* pour vérifier la contamination des réservoirs de kérosène par des micro-organismes et est mentionné dans les manuels de maintenance d'Airbus, de Boeing, de BAE Systems et d'autres grands constructeurs aéronautiques. Ce test est utilisé par de nombreuses organisations militaires pour vérifier la contamination des carburants d'aéronefs, de navires et d'engins terrestres. De plus, ce produit est codifié par l'OTAN (6640-99-834-3573).

**MicrobMonitor2** fournit un dénombrement complet des unités microbiennes formant colonie (CFU). La CFU (de l'anglais *Colony Forming Unit*) est l'unité conventionnelle de mesure de la contamination microbienne utilisée dans de nombreuses industries. **MicrobMonitor2** détecte les principales bactéries, levures et moisissures susceptibles de contaminer les hydrocarbures, notamment *Hoimoconis resiniae*, *Aspergillus*, *Candida* et *Pseudomonas*.

Le test **MicrobMonitor2** consiste en un flacon muni d'une capsule à vis et contenant un gel nutritif thixotropique. Un échantillon est introduit dans le gel à l'aide d'une anse en plastique stérilisée ou d'une seringue (incluses). On agite le flacon pour liquéfier le gel, et l'échantillon, ainsi que tous les micro-organismes qui y sont présents, sont dispersés. Le gel se solidifie à nouveau en une couche plate et le flacon est incubé dans le l'obscurité. Le gel renferme des produits favorisant la croissance des micro-organismes viables, et l'échantillon lui-même leur apporte des nutriments supplémentaires. Les micro-organismes se multiplient et forment des taches visibles appelées « colonies ». Un composé réactif colore ces colonies en rouge ou en violet, de sorte qu'elles soient facilement visibles.

Le nombre de colonies qui se forment fournit une estimation directe du nombre de particules microbiennes viables (CFU) présentes dans l'échantillon. Le nombre exact des colonies est compté ou estimé en se référant au tableau de résultats (page 9). Le volume testé peut être de 0,01 ml (avec une anse d'inoculation stérilisée) ou de 0,1 ml à 0,5 ml (avec une seringue stérilisée). Le nombre de colonies formées est estimé relativement au volume d'échantillon utilisé pour le test. Il est exprimé en CFU/litre de carburant ou en CFU/ml d'huile ou d'eau associée à l'hydrocarbure.

**MicrobMonitor2** est disponible en lots de 5 et de 50 tests, chacun comprenant tout le nécessaire :

- des flacons de test **MicrobMonitor2**
- des seringues stérilisées\*
- des anses stériles\*
- des étiquettes pour les flacons
- le présent mode d'emploi

\*Le pack de 50 est disponible avec ou sans seringues et anses d'inoculation stériles.

**MicrobMonitor2** a été développé et breveté par ECHA Microbiology Ltd. et est une marque déposée internationale d'ECHA et de ses distributeurs.

## À QUOI SERT LE TEST MICROBMONITOR<sup>®</sup>2 ?

Le test **MicrobMonitor2** sert à tester les hydrocarbures pour y déceler une contamination microbienne. Il sert aussi à surveiller la prolifération de micro-organismes dans les réservoirs de stockage et les installations d'approvisionnement. **MicrobMonitor2** peut être utilisé comme outil de contrôle routinier, pour garantir la qualité des produits, pour des enquêtes sur des incidents ainsi que pour attester de l'efficacité de mesures prises dans le but de prévenir ou d'éliminer la prolifération des microbes et la contamination qu'ils causent.

La notice d'instructions fournit des consignes générales d'utilisation de **MicrobMonitor2**. Pour plus d'instructions techniques relatives à l'utilisation de **MicrobMonitor2** dans des applications spécifiques, vous pouvez consulter les notices d'application technique listées ci-dessous (téléchargeables gratuitement sur le site [www.echamicrobiology.com](http://www.echamicrobiology.com)). Ces notices contiennent des conseils concernant l'échantillonnage, la préparation des échantillons, l'interprétation des résultats de test et les mesures à prendre en cas de contamination :

- EP096 *How to Interpret MicrobMonitor2 Test Results in Accordance with IATA Guidelines for Aircraft Drain Samples.*
- EP119 *Routine Monitoring of Aviation Fuels in Supply and Distribution Facilities, Airport Depots and Into-plane Operations with MicrobMonitor2.*
- EP132 *Routine Monitoring of Diesel Fuel Tanks and Distribution Systems with MicrobMonitor2.*
- EP166 *Routine Monitoring of Marine Diesel on Ships and Offshore Installations with MicrobMonitor2.*
- EP157 *Technical Assistance Reading Results of MicrobMonitor2.*

## PRÉPARATION DU TEST

### Remarques concernant l'échantillonnage

L'échantillonnage doit être réalisé proprement et sans interruption, de manière à empêcher la contamination en arrière-plan de l'échantillon. Une fois les échantillons d'hydrocarbures prélevés, tous les microbes contenus dans l'échantillon mourront lentement. Il est donc important de tester les échantillons le plus rapidement possible. Si le test est effectué plus de 24 heures après le prélèvement de l'échantillon, il est possible que les résultats ne reflètent pas le contenu en micro-organismes viables au moment de l'échantillonnage. Afin d'éviter cette erreur, la procédure de test **MicrobMonitor2** peut être réalisée intégralement ou en partie sur le lieu de l'échantillonnage.

### Types d'échantillon et volume recommandés

**MicrobMonitor2** peut être utilisé pour tester de nombreux hydrocarbures et les eaux associées. Le volume de l'échantillon à tester dépend du type d'échantillon. Référez-vous au tableau ci-dessous pour déterminer le volume approprié d'échantillon à tester et l'appareil de mesure à utiliser.

Tableau 1

Échantillon	Volume recommandé	Appareil de mesure
Kérosène d'aviation	0,5 ml	Seringue
Autres distillats moyens (diesel, gasoil marin, huile de chauffage, etc.), biocarburants et gasoil	0,25 ml	
Phase aqueuse issue des réservoirs de carburant d'aviation	0,1 ml	
Huile lourdes et résiduelles	0,01 ml	Anse
Lubrifiants, huiles hydrauliques et autres huiles	0,01 ml	
Phase aqueuse des réservoirs de stockage de carburant	0,01 ml	

Le volume de l'échantillon peut être changé afin d'augmenter ou de réduire le niveau de détection du test. Cependant, des volumes supérieurs à ceux recommandés ci-dessus peuvent, dans certaines circonstances, entraîner une sous-estimation de la population microbienne.

### Déterminer s'il faut tester le carburant/l'huile ou la phase aqueuse

Selon le système à tester et l'endroit de l'échantillonnage, les échantillons sont susceptibles de contenir du carburant/de l'huile et/ou une phase aqueuse libre. **MicrobMonitor2** peut servir à tester le carburant/l'huile ou l'eau associée. La phase aqueuse contient habituellement bien plus de micro-organismes que le carburant ou l'huile, c'est pourquoi un volume plus petit en est testé. Parce qu'il n'est pas toujours possible de récupérer des échantillons de la phase aqueuse, par assurer la précision du contrôle régulier de la présence microbienne, il est généralement recommandé de tester la phase de carburant ou huileuse située au-dessus de toute phase aqueuse libre. Toutefois, dans certains cas, il est recommandé de tester également la phase aqueuse (par ex. des échantillons issus des réservoirs de kérosène, et lors de la recherche de prolifération microbienne dans les installations). Vous trouverez plus d'informations dans les manuels techniques listés à la page 2.

Pour déterminer la présence d'eau libre, tenez l'échantillon à la lumière et examinez-le visuellement. Il peut être utile de remuer doucement l'échantillon pour générer un vortex. Pour pouvoir accéder à l'échantillon avec les appareils de mesure fournis, il peut être nécessaire d'en transférer une partie, après l'avoir agité, dans un récipient propre plus petit.

### Préparation des flacons de test **MICROBMONITOR®2**

Si les flacons de test **MicrobMonitor2** ont été conservés dans un milieu réfrigéré, laissez-les se remettre à température ambiante au préalable. Retirez le sceau de la capsule de chaque flacon avant d'utiliser le test **MicrobMonitor2**. Évitez d'exposer longuement les flacons de test à la lumière directe du soleil ou à toute lumière intense pendant la préparation, l'incubation et l'examen des tests.

### Propreté durant le test

Les tests **MicrobMonitor2** peuvent être réalisés sur le terrain, dans un bureau ou dans un laboratoire. Cependant, il convient de prendre des précautions pour s'assurer que le test est réalisé dans un milieu suffisamment propre. Cela évitera la contamination de l'échantillon et du test par des microbes autres que ceux présents dans l'échantillon. Lavez-vous les mains avant et après le test. Pendant le test, équipez-vous de gants propres en nitrile, en vinyle ou en polythène. Évitez de toucher les parties de la seringue et de l'anse d'inoculation qui entrent en contact direct avec l'échantillon. Évitez également de toucher l'intérieur de la capsule et du goulot du flacon lorsque vous y introduisez l'échantillon.

PROCÉDURE DE TEST

A. Introduire l'échantillon dans le flacon de test MICROBMONITOR®2.

Suivez les étapes indiquées ci-dessous pour introduire du distillat ou du biocarburant (A.1), du carburant ou de l'huile lourd(e)/léger(ère) (A.2), de l'eau (A.3) ou des dépôts de surface (A.4) dans le flacon.

A.1 *Kérosène d'aviation, autres distillats moyens et gasoil.*

A.1.1 Immédiatement avant le test, agiter l'échantillon pendant 30 secondes. Si des échantillons de carburant contiennent de l'eau libre visible, chaque échantillon doit reposer pendant 12 minutes, afin que l'eau se sépare de l'échantillon à tester. Pour des raisons de cohérence, il est recommandé de soumettre tous les échantillons de carburant à cette période de repos, même si aucune eau libre n'est visible.



A.1.2 Retirez le capuchon du flacon de test MicrobMonitor2 en évitant d'en toucher l'intérieur et placez-le sur une surface propre.



A.1.3 Ouvrez l'emballage contenant une seringue du côté de l'extrémité du piston. Retirez la seringue en évitant de toucher la partie inférieure du cylindre et l'embout.



A.1.4 À l'aide de la seringue, aspirez du carburant à environ 3 cm sous la surface de l'échantillon. Si la phase du carburant fait moins de 6 cm de profondeur, aspirez l'échantillon à mi-profondeur environ. Veillez à ce qu'il n'y ait pas de transfert de particules interfaciales visibles, de gouttes d'eau ou d'émulsion dans l'échantillon à tester.



A.1.5 Aspirez du carburant jusqu'à plus de la moitié de la seringue. Ensuite, avec l'embout de la seringue vers le haut, pousser le piston pour expulser l'air. Expulser le surplus de carburant jusqu'à ce que l'extrémité du piston atteigne la marque correspondant au volume requis. (Cf. tableau 1.)



A.1.6 Insérez le bout de l'aiguille dans le goulot du flacon de test MicrobMonitor2 et injectez l'échantillon en poussant complètement le piston de la seringue.



A.1.7 Refermez le flacon de test. Notez les détails et la date du test sur l'étiquette fournie et collez celle-ci sur une face étroite du flacon. Passez à l'étape B.

## A.2 *Carburants et huiles résiduels et lourds.*

**A.2.1** Immédiatement avant le test, agiter l'échantillon pendant 30 secondes.

**A.2.2** Retirez le capuchon du flacon de test **MicrobMonitor2** et placez-le sur une surface propre.

**A.2.3** Ouvrez l'emballage contenant une anse d'inoculation et retirez celle-ci en évitant d'en toucher l'extrémité et la partie inférieure du manche.

**A.2.4** Immergez l'extrémité de l'anse dans le carburant/l'huile jusqu'à 3 cm environ sous la surface de l'échantillon, ou jusqu'à mi-profondeur si la phase de carburant/d'huile fait moins de 6 cm de profondeur. Retirez l'anse de l'échantillon et laissez-la s'égoutter pour éliminer le surplus de carburant/d'huile ; assurez-vous qu'une pellicule de carburant/d'huile est piégée à l'intérieur de l'anse.

**A.2.5** Insérez l'anse dans le goulot du flacon de test **MicrobMonitor2**, enfoncez-la dans le gel et agitez-la brièvement pour transférer l'échantillon.

**A.2.6** Refermez le flacon de test. Notez les détails et la date du test sur l'étiquette fournie et collez celle-ci sur une face étroite du flacon. Passez à l'étape B.

## A.3 *Phase aqueuse associée au carburant/à l'huile.*

**A.3.1** Si un test de la phase aqueuse est nécessaire, laissez reposer l'échantillon jusqu'à ce que l'eau libre se dépose au fond de l'échantillon. Il est recommandé de tester la phase aqueuse après tous les tests de carburant et d'huile. La procédure de test est essentiellement la même que celle décrite ci-dessus. Cependant, une technique appropriée de séparation/d'extraction de l'eau de l'échantillon est requise.

**A.3.2** À l'aide de l'anse d'inoculation ou de la seringue, mesurez le volume d'eau requis en fonction du volume de l'échantillon. (Cf. tableau 1.)

**a)** Pour tester 0,1 ml d'eau avec la seringue

La phase aqueuse peut être extraite directement du fond de l'échantillon et déposée dans le flacon de test **MicrobMonitor2**. Pour avoir accès facilement à l'eau, il peut être nécessaire de transvaser préalablement une partie du carburant de l'échantillon et/ou de transférer la phase aqueuse dans un autre récipient stérile et de petite taille à l'aide d'une seringue ou d'une longue pipette stérile (fournie séparément). Mélangez doucement en remuant, mais évitez de mélanger les couches de carburant et d'eau.

Ouvrez l'emballage contenant une seringue du côté de l'extrémité du piston. Retirez la seringue en évitant de toucher la partie inférieure du cylindre et l'embout. Insérez le corps de la seringue dans l'échantillon de sorte que l'embout soit dans la phase aqueuse. Aspirez une quantité d'eau dans la seringue, retirez celle-ci de l'échantillon et, en tenant l'embout vers le haut, expulser l'air. Expulser de l'eau jusqu'à ce que le piston atteigne sur la marque de 0,1 ml. Insérez le bout de l'aiguille dans le goulot du flacon de test **MicrobMonitor2** et injectez l'échantillon en poussant complètement le piston de la seringue. Refermez le flacon de test. Notez les détails et la date du test sur l'étiquette fournie et collez celle-ci sur une face étroite du flacon. Passez à l'étape B.

**b)** Pour tester 0,01 ml d'eau avec l'anse d'inoculation

Vous pouvez utiliser une seringue pour extraire de l'eau du fond de l'échantillon, en déposer une goutte dans l'anse puis l'introduire dans le flacon de test **MicrobMonitor2**. Ou alors, transférez la phase aqueuse dans un récipient stérile de petite taille à l'aide d'une seringue ou d'une longue pipette stérilisée (fournie séparément). Évitez le transfert du carburant. Mélangez en mettant à l'envers trois fois le récipient contenant l'eau séparée.

Retirez le capuchon du flacon de test **MicrobMonitor2** et placez-le sur une surface propre. Ouvrez l'emballage contenant une anse d'inoculation et retirez celle-ci en évitant d'en toucher l'extrémité et la partie inférieure du manche. Plongez l'extrémité de l'anse dans l'eau séparée ou remplissez-la avec une goutte d'eau à l'aide d'une seringue. Laissez le surplus d'eau s'écouler, mais assurez-vous que l'anneau de l'anse est toujours rempli d'eau. Notez que la présence de carburant résiduel peut empêcher l'anneau de se remplir d'eau. Insérez l'anse dans le goulot du flacon de test **MicrobMonitor2**, enfoncez-la dans le gel et agitez-la brièvement pour transférer l'échantillon. Refermez le flacon de test. Notez les détails et la date du test sur l'étiquette fournie et collez celle-ci sur une face étroite du flacon. Passez à l'étape B.

**Remarque :** le kit d'échantillonnage **MicrobMonitor** (fourni séparément) consiste en une bouteille dotée d'un siphon latéral et d'une chambre de collecte d'eau pour faciliter la séparation de l'eau et des échantillons de carburant.

**A.4 Tester les surfaces.**

**A.4.1** MicrobMonitor2 peut être utilisé pour détecter une contamination microbienne sur les surfaces, par exemple pour tester les dépôts formés sur les surfaces des réservoirs ou sur les filtres. Des tampons stériles (disponibles séparément) doivent être utilisés pour retirer la contamination des surfaces et la transférer dans un flacon de test MicrobMonitor2.

**A.4.2** Ouvrez l'emballage contenant un écouvillon et retirez celui-ci en évitant de toucher l'extrémité en coton et le manche.

**A.4.3** Frottez la surface à tester avec l'extrémité en coton de l'écouvillon en faisant tourner le manche pour que toute les parties de l'extrémité en coton soient en contact avec la surface. Si possible, passez l'écouvillon sur une zone connue de la surface.

**A.4.4** Insérez l'extrémité en coton de l'écouvillon dans le flacon de test MicrobMonitor2 et enfoncez-la dans le gel. Agitez ensuite l'écouvillon pendant 15 secondes environ, puis retirez-le et jetez-le.

Refermez le flacon de test. Notez les détails et la date du test sur l'étiquette fournie et collez celle-ci sur une face étroite du flacon. Passez à l'étape B.

**B Agiter pour disperser l'échantillon dans le gel du flacon MICROBMONITOR®2.**

**B.1** Fragmentez le gel du flacon MicrobMonitor2 qui contient une quantité de l'échantillon en tapant vigoureusement le flacon contre la paume de votre main ou sur un bouchon en caoutchouc, ou encore sur le « Bumper » MicrobMonitor (disponible séparément).



**B.2** Agiter le flacon pendant environ 30 secondes pour liquéfier le gel et disperser l'échantillon. En plus d'agiter le flacon de test, vous pouvez le taper à plusieurs reprises pendant 30 secondes sur un « Bumper » MicrobMonitor. Après agitation, le gel devrait être légèrement visqueux mais sans grumeaux et avoir une consistance uniforme et claire. La présence de bulles dans le gel est normale, elle n'influera pas sur le test.



**B.3** Arrêtez brusquement d'agiter le flacon de test, de sorte que le gel se dépose au fond. Passer immédiatement à l'étape B4.



**B.4** Tapotez le flacon dans la paume de votre main jusqu'à ce que le gel forme une couche plate sur l'une des grandes faces. Assurez-vous que la couche est uniforme et remplit tous les coins.



**Remarques concernant le transport des tests**

Il est préférable de conduire les tests sur le terrain pour éviter les erreurs dues aux changements du contenu microbien des échantillons pendant le transport. Si un retard de plus de 24 heures est envisageable dans l'acheminement des échantillons vers un lieu de test, ces erreurs peuvent être évitées en effectuant les premières étapes de la procédure (jusqu'à l'étape B comprise) sur le terrain au lieu d'échantillonnage. Ensuite, le test MicrobMonitor2 peut être retourné au lieu de test où l'incubation sera réalisée (étape C). Les flacons de test doivent rester posés à plat durant le transport et ne doivent pas être agités de manière excessive. Ils doivent parvenir au lieu de test dans les 4 jours. Voir les remarques concernant l'incubation des tests (étape C).

Une autre solution consiste à transporter les flacons de test MicrobMonitor2 vers le lieu de test après avoir introduit l'échantillon (étape A) et avant de les agiter. Les tests seront ensuite agités sur le lieu de test. L'incubation (étape C) doit débuter dans les 6 heures après que l'échantillon a été introduit dans le flacon de test (ou sous 2 jours si les tests sont réfrigérés [entre 2 °C et 8 °C]). Si les tests sont transportés vers un lieu de test avant d'avoir été agités, il n'est pas indispensable qu'ils restent à plat pendant le trajet et une agitation modérée n'affectera pas le résultat des tests.

## C Incuber le test MICROBMONITOR®2.

Transférez le flacon de test **MicrobMonitor2** dans un endroit chaud et sombre ou dans un incubateur pour le maintenir à une température nominale de 25 °C, avec une marge de  $\pm 3$  °C. Dans des conditions normales, le gel devrait être incubé pendant 4 jours. Évitez de l'exposer à la lumière pendant l'incubation.

Le gel se raffermira après quelques heures. Maintenez le gel sur la face inférieure du flacon. Éviter une agitation ou une inclinaison excessive du flacon pendant l'incubation, l'examen ou tout transport.

### Remarques concernant l'incubation des tests.

Les fluctuations occasionnelles de température (par ex. pendant la nuit) sous la plage spécifiée ne devraient pas affecter le nombre de colonies qui se développent et n'impactera pas le résultat du test de manière critique. Cependant, les colonies microbiennes pourraient mettre plus de temps à devenir visible, c'est pourquoi la durée d'incubation spécifiée doit être étendue. Si la température baisse en dessous de la plage spécifiée au cours de l'incubation, la durée d'incubation doit être rallongée d'une durée équivalente à la durée totale estimée pendant laquelle la température a été inférieure à la plage spécifiée. Si la température d'incubation baisse sous la plage spécifiée pendant une ou plusieurs périodes totalisant 4 jours ou plus, la contamination sera sous-estimée. Dans ce cas, le résultat doit être considéré comme étant invalide. La température ne doit pas tomber en dessous de 4 °C pendant l'incubation.

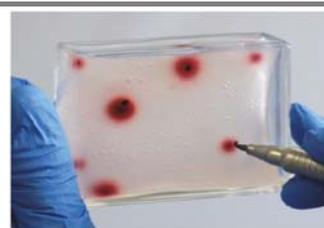
L'incubation du milieu de culture à une température au-delà de la plage spécifiée peut nuire à la capacité de détection de certains micro-organismes. Toutefois, lorsque la contamination microbienne survient dans des réservoirs ou des systèmes dont le contenu est à une température supérieure à 25 °C, ces micro-organismes contaminants prolifèrent préférentiellement à des températures supérieures. Il peut alors être approprié d'incuber le test à une température similaire à celle du système d'où vient l'échantillon.

Lorsque **MicrobMonitor2** est utilisé pour vérifier la conformité d'un système à une norme industrielle spécifique (par ex. les limites de contamination de l'ATA indiquées dans le tableau 2 à la page 8), si le résultat du test indique que le niveau de contamination est dans la catégorie la plus élevée (par ex. sévère) avant 4 jours, il est généralement acceptable de noter le résultat sans poursuivre l'incubation.

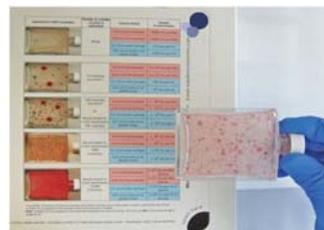


## D Examiner le test MICROBMONITOR®2.

**D.1** Si possible, examinez le test quotidiennement pendant l'incubation. Au minimum, examinez-le une fois pendant les trois premiers jours et à nouveau le dernier jour de l'incubation. Pour examiner le test, tenez le flacon à la lumière et comptez le nombre de colonies pourpres visibles. Vous pouvez vous servir d'une loupe pour mieux identifier et compter les petites colonies. Toutes les colonies se trouvant dans toutes les parties du flacon de test doivent être comptées, y compris toutes celles se trouvant dans le gel en dehors de la couche plate. Une fois une colonie comptée, ne la recomptez pas même si elle grossit, car c'est le nombre de colonies et non leur taille qui importe. Nous recommandons de repérer les colonies au marqueur sur le flacon pour éviter de les compter deux fois. Ignorez toutes les bulles susceptibles d'apparaître dans le gel.



**D.2** En général, il est possible de dénombrer jusqu'à 250 colonies. Si les colonies sont trop nombreuses pour être dénombrées, comparez visuellement le test avec le tableau de résultats (page 9) en tenant le flacon devant un arrière-plan blanc. Ce tableau fournit une estimation du nombre de colonies.



### Remarques concernant l'examen des tests.

Les colonies sont généralement circulaires mais peuvent présenter des bords irréguliers. Selon leur type, les micro-organismes prolifèrent à des vitesses différentes dans le milieu de culture à base de gel. Les colonies peuvent donc être de tailles différentes. À la température d'incubation recommandée, les colonies de bactéries et de levures se développent habituellement en 1 à 2 jours et conservent une taille assez réduite. Les moisissures se développent plus lentement. Mais elles finissent par former des colonies plus grandes qui peuvent avoir un aspect pulvérulent ou « velu ». En général, plus il y a de colonies dans un flacon de test, plus elles sont petites. Ignorez toutes les colonies qui se forment après la fin de la durée d'incubation spécifiée (y compris les prolongements dus à la baisse de la température sous la plage spécifiée). Il est possible que le test change d'apparence lorsque l'incubation est prolongée, mais vous ne devez pas en tenir compte. Les colonies tendent à se révéler plus rapidement dans les échantillons avec un contenu microbien viable élevé.

Il arrive que certains additifs antioxydants présents dans les carburants interfèrent avec le composé indiquant la prolifération dans le test et produisent une couleur uniforme pêche clair ou orange (en général après 12 heures). Ce changement de couleur ne gêne la prolifération d'aucun micro-organisme. Et, dans la plupart des cas, les colonies microbiennes peuvent être comptées ou estimées en ignorant la couleur d'arrière-plan. Dans des cas exceptionnels, cette interférence peut être tellement forte que les utilisateurs auront du mal à distinguer la couleur due à l'interférence et un dénombrement estimatif de 10 000 colonies. Dans de tels cas, il faut retester le carburant en utilisant un volume plus petit (par ex. 0,01 ml), de sorte que les effets de l'interférence soient dilués. Si le résultat initial était effectivement dû à une forte contamination microbienne, il faut s'attendre normalement à ce que le nouveau test montre un nombre distinct de colonies rouges/pourpres et que la couleur parasite soit moins intense.

Lors d'une incubation prolongée, certaines bactéries peuvent se répandre dans le gel en formant une grosse colonie, une longue ligne ou une grosse tache de forme irrégulière et de couleur rouge ou pourpre. Généralement, ces bactéries prolifèrent rapidement. C'est pourquoi, si on examine les tests pendant que les colonies sont encore de petite taille (par ex. après 1 ou 2 jours d'incubation), il est plus facile de les dénombrer. Le centre de chaque ligne ou tache doit être considéré comme une seule colonie. Poursuivez l'incubation et comptez toute nouvelle colonie qui apparaît.

Référez-vous à la notice technique EP157 *Technical Assistance Reading Results of MicrobMonitor2* pour plus d'informations sur la lecture et l'interprétation des tests d'apparence inhabituelle ou atypique.

**E Calculer le nombre de CFU dans l'échantillon.**

- Pour les tests de carburant, le nombre de microbes est exprimé par convention en CFU par litre.
- Pour les tests de phase aqueuse ou d'huile, le nombre de microbes est exprimé par convention en CFU par ml.

**a) Résultats de test d'un échantillon de phase de carburant :**

Si 0,5 ml de carburant a été testé, multipliez le nombre de colonies dénombrées ou estimées par 2000 pour obtenir le nombre de CFU par litre de carburant. S'il n'y a aucune colonie après la durée d'incubation spécifiée, alors il y a moins de 2000 CFU par litre de carburant.

Si 0,25 ml de carburant a été testé, multipliez le nombre de colonies dénombrées ou estimées par 4000 pour obtenir le nombre de CFU par litre de carburant. S'il n'y a aucune colonie après la durée d'incubation spécifiée, alors il y a moins de 4000 CFU par litre de carburant.

Si un volume différent de carburant a été testé, le calcul peut être fait en utilisant la formule suivante :

$$\text{Nombre de CFU par litre} = \frac{\text{Nombre de colonies comptées ou estimées} \times 1000}{\text{Volume de carburant testé (ml)}}$$

**b) Résultats de test de phase aqueuse ou d'huile :**

Si 0,1 ml d'eau a été testé, multipliez le nombre de colonies dénombrées ou estimées par 10 pour obtenir le nombre de CFU par ml de carburant. S'il n'y a aucune colonie après la durée d'incubation spécifiée, alors il y a moins de 10 CFU par ml d'eau.

Si 0,01 ml d'eau a été testé, multipliez le nombre de colonies dénombrées ou estimées par 100 pour obtenir le nombre de CFU par ml d'eau ou d'huile. S'il n'y a aucune colonie après la durée d'incubation spécifiée, alors il y a moins de 100 CFU par ml d'eau ou d'huile.

Si un volume différent d'eau ou d'huile a été testé, le calcul peut être fait en utilisant la formule suivante :

$$\text{Nombre de CFU par ml} = \frac{\text{Nombre de colonies comptées ou estimées}}{\text{Volume d'eau ou d'huile testé (ml)}}$$

**Remarque**

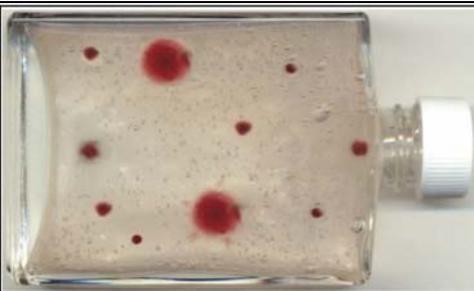
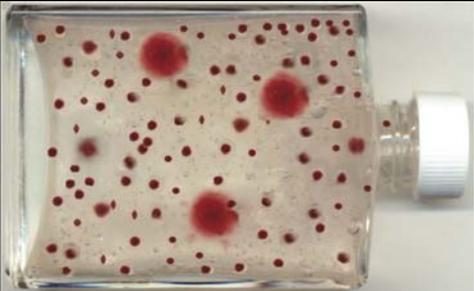
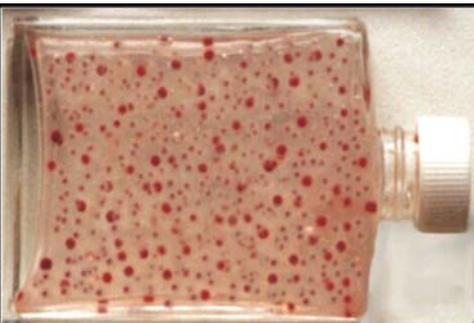
Si les colonies sont trop nombreuses pour être dénombrées et qu'un volume de 0,5 ml ou 0,25 ml de carburant, ou de 0,1 ml ou 0,01 ml d'eau ou d'huile a été testé, vous pouvez utiliser le tableau de résultats pour déterminer directement le nombre approximatif de CFU par litre de carburant ou par ml d'eau ou d'huile.

**INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Il n'existe pas de limites ou de spécifications universellement acceptées concernant la contamination des carburants et des huiles. Le nombre de CFU définissant les niveaux de contamination modéré et sévère dépend d'un certains nombre de facteurs, notamment le type de carburant et son utilisation envisagée, le lieu d'échantillonnage, le fait que l'échantillon provienne d'installations d'approvisionnement et de distribution ou d'un point d'utilisation finale, la durée de stockage prévue et les conditions spécifiques d'exploitation. Certaines limites sont données à titre indicatif dans le tableau 2 ci-dessous. Ces limites ont pour but de fournir une indication précoce de prolifération microbienne dans les installations testées. Il faut souvent des niveaux de contamination plus élevés pour que surviennent des problèmes techniques ou tout effet néfaste sur la qualité du carburant. Pour plus d'informations, référez-vous à la notice technique

Tableau 2

Échantillon	Modérée	Sévère	Commentaires
Carburant issu du réservoir d'un aéronef	4000 à 20 000 CFU/litre	>20 000 CFU/litre	Limites de contamination de l'IATA
Eau issue du réservoir d'un aéronef	1000 à 10 000 CFU/ml	>10 000 CFU/ml	
Échantillon de carburant représentatif issu de l'approvisionnement et de la distribution	4000 à 20 000 CFU/litre	>20 000 CFU/litre	Ex. : carburant d'aviation, diesel, gasoil marin
Carburant issu du fond/de l'écoulement d'un réservoir/d'un filtre d'approvisionnement et de distribution	10 000 à 100 000 CFU/litre	>100 000 CFU/litre	
Phase aqueuse issue du fond/de l'écoulement d'un réservoir/d'un filtre d'approvisionnement et de distribution	100 000 à 1 000 000 CFU/ml	>1 000 000 CFU/ml	
Huile hydraulique/lubrifiante en circulation	100 à 10 000 CFU/ml	>10 000 CFU/ml	
Huile hydraulique/lubrifiante de carter	1000 à 10 000 CFU/ml	>10 000 CFU/ml	

Apparence après incubation	Nombre de colonies dans le flacon (compté ou estimé)	Volume testé	Contenu microbien de l'échantillon
	Aucun	0,5 ml de carburant (seringue)	<2000 CFU par litre
		0,25 ml de carburant (seringue)	<4000 CFU par litre
		0,1 ml d'eau (seringue)	<10 CFU par ml
		0,01 ml d'eau ou d'huile (anse d'inoculation)	<100 CFU par ml
	10 colonies Si possible, comptez le nombre exact de colonies et calculez le nombre exact de CFU présentes dans l'échantillon	0,5 ml de carburant (seringue)	$2 \times 10^4$ CFU par litre
		0,25 ml de carburant (seringue)	$4 \times 10^4$ CFU par litre
		0,1 ml d'eau (seringue)	100 CFU par ml
		0,01 ml d'eau ou d'huile (anse d'inoculation)	1000 CFU par ml
	100 colonies Si possible, comptez le nombre exact de colonies et calculez le nombre exact de CFU présentes dans l'échantillon  ou Estimez-le à 100 colonies si le résultat est similaire à l'image	0,5 ml de carburant (seringue)	c. $10^5$ CFU par litre
		0,25 ml de carburant (seringue)	c. $10^5$ CFU par litre
		0,1 ml d'eau (seringue)	c. $10^3$ CFU par ml
		0,01 ml d'eau ou d'huile (anse d'inoculation)	c. $10^4$ CFU par ml
	Estimez à 1000 colonies si le résultat est similaire à l'image	0,5 ml de carburant (seringue)	c. $10^6$ CFU par litre
		0,25 ml de carburant (seringue)	c. $10^6$ CFU par litre
		0,1 ml d'eau (seringue)	c. $10^4$ CFU par ml
		0,01 ml d'eau ou d'huile (anse d'inoculation)	c. $10^5$ CFU par ml
	Estimez à 10 000 colonies ou plus si le résultat est similaire à l'image	0,5 ml de carburant (seringue)	c. $10^7$ CFU par litre ou plus
		0,25 ml de carburant (seringue)	c. $10^7$ CFU par litre ou plus
		0,1 ml d'eau (seringue)	c. $10^5$ CFU par ml ou plus
		0,01 ml d'eau ou d'huile (anse d'inoculation)	c. $10^6$ CFU par ml ou plus

## ÉLIMINATION

Portez des gants et évitez de toucher l'intérieur du flacon ou de la capsule. Lavez-vous les mains après avoir manipulé tout flacon de test **MicrobMonitor2** indiquant une prolifération microbienne. Avant élimination, désinfectez tous les flacons de test **MicrobMonitor2** indiquant une prolifération en les immergeant ouverts dans une puissante solution désinfectante (comme l'eau de javel domestique) pendant la nuit, en les incinérant ou en utilisant des comprimés de chlore (disponibles séparément).

Les flacons décontaminés, inutilisés ou n'indiquant aucune prolifération microbienne peuvent être éliminés comme des déchets ordinaires dans le respect de la réglementation locale.

## CONSERVATION ET DURÉE DE VIE

Conservez les flacons **MicrobMonitor2** dans l'obscurité entre 2 °C et 22 °C. Évitez de les exposer à une lumière intense pendant leur incubation ou leur utilisation. Ne conservez pas les flacons **MicrobMonitor2** au congélateur. Une exposition temporaire des flacons à des températures de congélation n'est pas néfaste. Pendant la durée de conservation, une légère décoloration rose peut se développer dans le gel avec le temps. Ce phénomène n'affecte pas les performances du test.

Les dates de péremption sont imprimées sur l'étiquette de lot du produit. On peut repousser la date de péremption des produits non ouverts conservés entre 2 °C et 8 °C. Les dates de péremption sont valables strictement pour les produits conservés dans les conditions stipulées.

## ÉGALEMENT DISPONIBLE CHEZ ECHA

### À utiliser avec MICROBMONITOR<sup>®2</sup>

Les articles suivants peuvent être utilisés lors de la procédure de test **MicrobMonitor2** :

- Kit d'échantillonnage **MicrobMonitor** (ECHA16/SB) – une bouteille stérile en polypropylène pour l'échantillonnage de systèmes de carburant et qui permet de séparer facilement la phase aqueuse et le carburant. Lingettes d'alcool incluses pour décontaminer des points d'échantillonnage.
- Incubateur (ECHA14/IN) – permet de conserver une température constante et optimale lors de l'incubation des tests **MicrobMonitor2**. Peut contenir 12 flacons **MicrobMonitor2**. Disponible avec prise secteur ou batterie (110/230 V).
- Bumpers **MicrobMonitor** (ECHA16/TB) -- hémisphères tendres à la consistance de caoutchouc. Ils peuvent être collés sur le plan d'une table et permettent de fragmenter et d'agiter aisément le gel **MicrobMonitor2**.
- Comprimés de chlore (ECHA21/CP) -- pour désinfecter les flacons de test **MicrobMonitor2** indiquant une croissance microbienne et les éliminer facilement.
- Lingettes stériles (ECHA15/SW) – lingettes pour l'échantillonnage de la contamination des surfaces (par ex. les surfaces des réservoirs, les cartouches filtrantes, etc.).
- Pipettes volumétriques longues stériles (ECHA07/PP/EL23) -- pour retirer l'eau du fond des échantillons.

### Autres kits de test et accessoires

- SigTests<sup>®</sup> : Sig Sulphide (ECHA02/SS) — kit de test simple pour révéler la présence de bactéries sulfato-réductrice capables de causer une corrosion sévère et une dégradation des carburants, des huiles et de l'eau par les sulfates. Utilisable sur le terrain ou en laboratoire.
- Biocide Rapide (ECHA01/BR) — kit de test simple et rapide pour évaluer la présence et la concentration approximative de biocides couramment employés dans les carburants et les huiles.
- Appareils d'échantillonnage tous niveaux et de fond (ECHA23) — pour un échantillonnage sécurisé du contenu des réservoirs de stockage de carburant et d'huile selon les normes de l'industrie.
- Consultez notre site [www.echamicrobiology.com](http://www.echamicrobiology.com) pour découvrir notre gamme complète de kits de test et d'accessoires.

### Assistance et services techniques

Chez ECHA Microbiology, nous proposons un service technique complet qui accompagne notre gamme de produits. Nous proposons également des tests en laboratoire, des formations, des consultations et une présence sur le terrain à des fins d'audit et d'enquête sur la contamination microbienne et la corrosion associées aux hydrocarbures et aux installations pétrolières, maritimes, aéronautiques et autres.



Détails de l'échantillon et du test		Résultats de test MICROBMONITOR®2					Contamination microbienne dans l'échantillon CFU/litre ou CFU/ml
		Colonies dénombrées Jour 1	Colonies dénombrées Jour 2	Colonies dénombrées Jour 3	Colonies dénombrées Jour 4	Colonies dénombrées jour_____	
Réf. échantillon							
Date du test							
Type							
Localisation							
Volume testé (ml)	0,5/0,25/0,1/0,01/autres__						
Temp. d'incubation (°C)							
Réf. échantillon							
Date du test							
Type							
Localisation							
Volume testé (ml)	0,5/0,25/0,1/0,01/autres__						
Temp. d'incubation (°C)							
Réf. échantillon							
Date du test							
Type							
Localisation							
Volume testé (ml)	0,5/0,25/0,1/0,01/autres__						
Temp. d'incubation (°C)							
Réf. échantillon							
Date du test							
Type							
Localisation							
Volume testé (ml)	0,5/0,25/0,1/0,01/autres__						
Temp. d'incubation (°C)							
Réf. échantillon							
Date du test							
Type							
Localisation							
Volume testé (ml)	0,5/0,25/0,1/0,01/autres__						
Temp. d'incubation (°C)							

