

### Principe

Milieu solide pour le dénombrement des microorganismes hétérotrophes dans les eaux traitées, selon les méthodes harmonisées de la pharmacopée.

### Formule \* en g/L

Protéose peptone .....	0.500
Caséine hydrolysate (Tryptone) .....	0.500
Extrait de levure .....	0.500
D(+)-Glucose .....	0.500
Amidon .....	0.500
Sodium pyruvate .....	0.300
Dipotassium phosphate .....	0.300
Magnesium sulphate (anhydre) .....	0.024
Agar .....	15.000

pH final 7.2 ±0.2 à 25 °C

\*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

### Préparation

Suspendre 18,1 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et porter à ébullition en remuant constamment. Répartir dans des récipients appropriés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

### Description

La R2A Agar a été proposée en 1979 par Reasoner et Geldenreich et quelques années plus tard acceptée par l'APHA comme milieu alternatif pour le dénombrement des cellules stressées dans l'eau potable traitée.

L'utilisation de milieux riches en nutriments comme le PCA ou le TSA permet la croissance de la plupart des microbes, mais ne permet pas la récupération d'organismes stressés ou résistants au chlore. En utilisant un milieu comme R2A avec peu de nutriments en combinaison avec une température plus basse et un temps d'incubation plus long, il est possible d'induire la réanimation de ces cellules endommagées.

Dans la Gélose R2A, la source d'azote est la peptone, et l'extrait de levure fournit les vitamines et les facteurs de croissance. La source de carbone est le dextrose et le sulfate de magnésium et le phosphate de potassium maintiennent la pression osmotique. L'Amidon est un détoxifiant et le pyruvate de sodium augmente la récupération des cellules stressées. L'agar agit comme gélifiant.

### Utilisation

L'échantillon d'eau doit être traité le plus rapidement possible. S'il n'est pas possible de le traiter dans les 6 premières heures, l'échantillon doit être réfrigéré, mais pas plus de 30 heures.

La gélose R2A peut être utilisée pour les plaques de coulée, les plaques à stries ou la filtration. La méthode de la plaque de coulée peut affecter la capacité de récupération du milieu en raison du choc thermique lors du mélange de gélose fondue avec l'échantillon. En incubant à 35 °C, une période d'incubation de 3 à 5 jours est recommandée. Dans la plupart des cas, une température d'incubation de 20 à 28 °C pendant 5 à 7 jours est plus efficace. Les plaques doivent être protégées contre la déshydratation.

### Contrôle qualité

**Température d'incubation:** 30-35 °C / 20-28 °C

**Temps d'incubation:** 48-72 h / ≤ 5 J

**Inoculum:** Gamme d'utilisation 50-100 UFC (productivité) selon la Pharm. Eur. et l'ISO 11133:2014/Amd 1:2018.  
Filtration sur membrane x 2 Températures.

Micro-organismes	Croissance	Remarques
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC® 6633	Productivité > 0.70	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 6538	Productivité > 0.70	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 9027	Productivité > 0.70	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Productivité > 0.70	-
<i>Salmonella abony</i> NCTC® 6017	Productivité > 0.70	-
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	Productivité > 0.70	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC® 16404	Productivité > 0.70	-

---

**Références**

- ATLAS, R.M. (1995) Handbook of Media for Environmental Microbiology. CRC Press. Boca Raton. Fla. USA.
- CLESCERI, L.S., A.E. GREENBERG and A.D. EATON (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA Washington D.C. USA.
- EATON, A.D., A.E. GREENBERG and L.S. CLESCERI (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. APHA Washington D.C. USA.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 6th ed. Suppl 6.3 (2009) General Monographs. Water for injections. (pg. 4339) EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
- GREENBERG, A.E., R.R. TRUSSELL and L.S. CLESCERI (1985). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. APHA-AWWA-WPCF. Washington D.C. USA.
- REASONER, D.J. and E.E. GELDREICH (1979) A new Medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. Abstracts of Annual Meeting. ASM 79th Meeting. Paper #N7.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.
- Van SOETSBERGER, A.A. and C.H. LEE (1969) Pour plates or streak plates?. Appl. Microbiol. 18:1092 -1094.

**Conservation**

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).