

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE SAAD DAHLEB- BLIDA
Faculté des sciences Agro Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie

Mémoire de Fin de cycle
En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master II
Option : Microbiologie et Toxicologie alimentaire

Thème

**Validation d'un plan de nettoyage et de
désinfection des lignes de production de l'eau
de source « Nestlé Vie Pure »**

Présenté par :

M^{elle} DJAHIRI Amina

Soutenu le 30 septembre 2013, devant le jury :

M^{me} AISSANLR : Maitre assistante A à l'USDB.....Présidente

M^{me} AIT SAADI.N : Maitre assistante A à l'USDBExaminatrice

M^{me} AMAROUCHE.N : Maitre assistante A à l'USDB.....Examinatrice

Mr MENOUEI. M.N: Maitre de conférences A à l'USDB.....Promoteur

Promotion 2010-2011

Remerciements

Mes remerciements s'adressent plus particulièrement à :

Mr MENOUEI. M.N, mon promoteur. Je le remercie vivement pour m'avoir apporté un appui constant, pour son soutien, sa disponibilité, sa patience, sa rigueur ainsi que ses précieux conseils. Nulle expression ne va pouvoir traduire les sentiments de considération que j'éprouve envers lui.

M^{me} AISSANI. R, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

M^{me} AIT SAADI. N et **M^{me} AMAROUCHE. N**, Qui ont trouvé le temps de s'intéresser à mon travail et accepté de l'examiner, qu'elles veuillent bien accepter ma respectueuse reconnaissance.

Ma gratitude va également au :

Personnel de la SPA Nestlé Waters Algérie en particulier à :

Mr AMRAR. N, Manager Assurance qualité qui m'a donné la possibilité d'effectuer ce travail de thèse. Je le remercie pour son aide, ses orientations, sa gentillesse, son soutien, sa patience et son encouragement durant toute la période de l'étude.

Mr ELLAYTHI. A, Directeur Général de la SPA Nestlé Waters Algérie pour son accueil.

Mr SAIDAWI. I, Directeur d'usine de la SPA Nestlé Waters Algérie pour son accueil.

M^{elle} BOUKARA. F, Responsable de laboratoire pour son aide, et ses conseils.

M^{elle} BOUZERTINI. A, Ingénieur assurance qualité pour son aide et ses conseils.

Mr DJEZZAR. S Responsable des ressources en eau d'avoir collaboré à la réalisation d'une partie de ce travail, j'aimerais lui témoigner ma profonde reconnaissance.

Mr GOUDJILI. W Agent de CIP et technicien de laboratoire pour son aide et sa collaboration.

Notre plus profond remerciement revient aux agents de nettoyage pour leur collaboration, leur aide et leur gentillesse.

Enfin, nous remercions tous nos enseignants et toute personne qui nous a éclairé le chemin.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance envers :

Mes très chers parents, pour leurs sacrifices, et leurs encouragements durant toutes mes années d'études.

À toutes les personnes qui m'ont prodigué des encouragements et se sont données la peine de me soutenir durant cette formation.

Résumé

La maîtrise des facteurs qui influent sur la qualité d'un aliment doivent être la préoccupation majeure des producteurs. Notre étude a été réalisée dans ce but, elle a porté sur la validation d'un plan de nettoyage et de désinfection des lignes de production de l'eau de source Nestlé Vie Pure. La vérification de l'efficacité de ce dernier et son impact sur la qualité du produit fini est assurée par des contrôles des paramètres de nettoyage et de désinfection ainsi que des contrôles microbiologiques, physicochimiques et sensoriels de l'eau de source de son émergence à son embouteillage.

Les résultats obtenus ont montré une conformité des paramètres de nettoyage et de désinfection durant la période d'étude. Une absence totale de germes pathogènes et des indicateurs de contamination fécale, une bonne qualité physicochimique en absence de polluants chimiques ainsi qu'une bonne qualité organoleptique basée sur l'évaluation des paramètres organoleptiques (odeur et goût).

L'efficacité du nettoyage et de la désinfection des équipements de production a été prouvée, ce qui a permis de valider le plan appliqué à Nestlé Waters Algérie.

Mots clé :

Validation, efficacité, nettoyage, désinfection, contrôles microbiologiques, contrôles physicochimiques et contrôles sensoriels, eau de source.

Summary

The control of factors that influence the quality of a food should be a major concern for producers. Our study was carried out for this purpose; it focused on the validation of a plan for cleaning and disinfection of production lines spring water Nestlé Pure Life. Verifying the effectiveness of the latter and its impact on the quality of the finished product is ensured by parameters cleaning and disinfection controls and microbiological, physicochemical and sensory controls water source of its emergence to its bottling.

The results showed conformity of cleaning and disinfection parameters during the study period. A total absence of pathogens and indicators of fecal contamination, good physicochemical to the absence of chemical pollutants and good organoleptic quality based on the evaluation of the organoleptic parameters (odor and taste).

The effectiveness of cleaning and disinfection of production equipment has been proven, which validates the process used to Nestlé Waters Algeria.

Keywords:

Validation, efficiency, cleaning, disinfection, microbiological controls, controls physicochemical and sensory control, spring water.

ملخص

التمكن من العوامل المؤثرة في جودة الغذاء يجب ان يكون مصدر اهتمام كبير لدى المنتجين. وقد اجريت دراستنا من اجل هذا الغرض والتي ركزت على المصادقة على خطة تنظيف وتطهير خطوط انتاج ماء المنبع نستله في بور. التحقق من فعالية هذا الاخير واثره على جودة المنتج النهائي مكفول بموجب مراقبة ضوابط التنظيف والتطهير ايضا المراقبة الميكروبيولوجية الفيزيوكيميائية والحسية لماء المنبع من بروزه الى تعبئته. النتائج المتحصل عليها اظهرت الامتثال لضوابط التنظيف و التطهير اثناء فترة الدراسة. غياب كلي للجراثيم الضارة. مؤشرات التلوث البرازي. نوعية فيزيوكيميائية جيدة لغياب الملوثات الكيميائية. ايضا نوعية حسية جيدة مبنية على تقييم الضوابط الحسية وقد ثبتت فعالية تنظيف و تطهير معدات الانتاج مما يسمح بالمصادقة على الخطة المطبقة في نستله و اترز الجزائر.

كلمات دالة

التحقق من صحة، الكفاءة، التنظيف، التطهير، ضوابط الميكروبيولوجية، وتسيطر سيطرة الفيزيائية والحسية، ومصدر المياه.

Liste des abréviations

3D	: 3 Dimensions
°C	: Degré Celsius
µS/cm	: Micro siemens par centimètre
ASR	: Anaérobies Sulfito-Réducteurs
AFNOR	: Association française de normalisation
BEAA	: Bile Esculine Azide Agar
BPF	: Bonne Pratique de Fabrication
CIP	: Cleaning In Place
COP	: Cleaning out of place
C_e	: Conductivité électrique
DLUO	: Date Limite d'Utilisation Optimale
FAO	: Food and Agriculture Organization
FAMT	: Flore Anaerobie Mésophile Totale
GLP	: Good Laboratory Practise
HACCP	: Hasard Analysis Control Critical Point
H₂O₂	: eau oxygénée
ISO	: Organisation de standardisation mondiale
J.O.R.A.D.P	: Journal Officiel République Algérienne Démocratique Populaire
LI	: Laboratory Instructions
L	: litre
MI	: Manufacturing Instructions
m/s	: Mètre par seconde
mn	: Minute
m/m	: Masse par masse
m/v	: Masse par volume
NEP	: Nettoyage En Place
NGMP	: Nestlé Good Manufacturing Practise
NW-SE	: North West-South East
OGA	: Oxytetracycline Glucose Agar
PCA	: Plate Account Agar

PET	: Poly Ethylène Téréphtalate
PTC	: Product Technology Center
pH	: Potentiel d'hydrogène
SMI	: Système de Management Intégré
SOP	: Standard Operating Procedure
SPA	: Société Par Action
TSC	: Tryptose Sulfite Cycloserine
TSE	: Triptone Sel Eau
TTC	: Triphényltétrazolium Chlorure
UFC	: Unité Formant Colonie

Liste des figures

Figure 01 : Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm de <i>P.aeruginosa</i> et visualisation par microscopie à transmission.....	17
Figure 02 : Plan de validation	21
Figure 03 : Chaîne de traitement de l'eau de source Nestlé Vie Pure.....	21
Figure 04 : Procédé de production de l'eau de source Nestlé vie pure et les point.....	23
Figure 05 : Nettoyage manuel (canon à mousse), Ligne D (Photo originale).....	24
Figure 06 : Nettoyage automatique (COP), Ligne C (photo originale).....	24
Figure 07 : Rinçage final ligne C (photo originale).....	29
Figure 08 : Contrôle du pH après le rinçage (photo originale).....	29
Figure 09 : Contrôle d'ambiance à l'intérieur de la remplisseuse C (photo originale)...	37

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre I : l'eau de source Nestlé Vie Pure

I.1 Eau de source.....3

I.1.1 Définition légale.....3

I.1.2 Autres définitions3

I.2 Processus de production de l'eau de source « Nestlé Vie Pure ».....3

Chapitre II : Hygiène, Nettoyage et Désinfection

II.1 Généralités sur l'hygiène6

II.1.1 Source de contamination :6

II.1.2 Nature de contamination6

II.1.2.1 Contamination particulière.....6

II.1.2.2 Contamination chimique.....7

II.1.2.3 Contamination microbiologique.....7

II.2 Généralités sur le nettoyage, désinfection9

II.3 Nettoyage9

II.3.1 Définition du nettoyage.....9

II.3.2 Détergents et Nettoyage9

II.3.2.1 Classification des détergents.....10

II.3.2.2 Choix d'un détergent10

II.3.2.3 Mode d'action des produits de nettoyage.....10

II.3.3 Les types de nettoyage10

II.3.3.1 Nettoyage manuel.....10

II.3.3.2 Nettoyage semi-automatique11

II.3.3.3 Nettoyage automatique11

II.3.4 Cleaning In Place (CIP) ou Nettoyage En Place (NEP)	11
II.3.4.1 Définition du nettoyage en place	11
II.3.4.3 Les opérations de nettoyage en place.....	12
II.3.4.4 Eléments déterminants l'efficacité du nettoyage en place.....	13
II.4 Désinfection.....	15
II.4.1 Techniques de désinfections.....	15
II.4.1.1 La désinfection chimique.....	15
II.4.1.2 La désinfection thermique.....	15
II.4.1.2.1 L'eau chaude	15
II.4.1.2.2 La vapeur.....	15
II.4.2 Mode d'action de produits de la désinfection.....	16
II.4.2.1 Destruction chimique.....	16
II.4.2.2 Interférence métabolique.....	16
II.4.2.3 Inhibition de la reproduction.....	16
II.4.3 La résistance microbienne aux agents du nettoyage et de la désinfection.....	16

Chapitre III : Validation du nettoyage

III.1 Définition de la Validation.....	18
III.2 Définition du contrôle de la qualité.....	18
III.3 Assurance qualité.....	18
III.4 Points communs à toute validation du nettoyage	18
III.4.1 Etude de validation	18
III.4.2 Pré-requis	19
III.4.2.1 Qualification du design	19
III.4.2.2 Qualification de l'installation.....	19
III.4.2.3 Qualification des opérations	19
III.4.2.4 Qualification de Performance.....	19

Partie Pratique

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1 Objectif	20
I.2 Matériel d'étude.....	20
I.3 Plan de validation.....	20
I.3.1 Qualification du design et de l'installation	22
I.3.2 Qualification opérationnelle et de la performance.....	22
I.4 Méthodes.....	23
I.4.1 Echantillonnage et prélèvement	23
I.4.2 Validation des paramètres de nettoyage et désinfection.....	25
I.4.2.1 Détergents et Désinfectants utilisés en CIP	25
I.4.2.1.1 Détermination de la concentration.....	25
I.4.2.1.2 Température	26
I.4.2.1.3 Vitesse.....	26
I.4.2.2 Détermination de la concentration des détergents et Désinfectants utilisés en COP et en nettoyage manuel.....	27
I.4.3 Validation du rinçage finale.....	27
I.4.3.1 Cas du CIP.....	27
I.4.3.1.1 pH.....	27
I.4.3.1.2 Conductivité électrique	28
I.4.3.1.3 Analyse sensorielle.....	28
I.4.3.2 Cas du COP et nettoyage manuel.....	29
I.4.3.2.1 Inspection visuelle.....	29
I.4.3.2.2 pH.....	29
I.4.3.2.3 Analyse sensorielle	30
I.4.4 Validation de la désinfection	30
I.4.4.1 Cas du CIP	30
I.4.4.1.1 Contrôle microbiologique de l'eau de forage, l'eau tout au long de la chaîne de filtration et l'eau conditionnée	30
I.4.4.1.1.1 Dénombrement de la FAMT	31
I.4.4.1.1.2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	32
I.4.4.1.1.3 Recherche et dénombrement des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34

I.4.4.1.1.4 Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux.....	35
I.4.4.1.1.5 Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	35
I.4.4.1.1.6 Recherche et dénombrement des anaérobies sulfite-réducteur	36
I.4.4.2 Cas du COP et nettoyage manuel.....	36
I.4.4.2.1 Contrôle des ambiances	37
I.4.4.2.2 Contrôle des surfaces	37

Chapitre II : Résultats et Discussion

II.1 Audit sur les prérequis de la validation	39
II.2 Validation du CIP	41
II.2.1 Résultats et discussion de la validation du CIP effectué le 21, 25/01 et 03/02/12.....	41
II.2.2 Résultats et discussion de la validation du CIP effectué le 10/02, 02 & 16/03/2012.....	46
II.2.3 Résultats et discussion de la validation du CIP effectué le 01, 11 & 18/05/2012.....	52
II.3 Validation du COP et nettoyage manuel	55
II.3.1 Résultats et discussion de la validation du COP et nettoyage manuel effectués le 03,08/03 & 15/04/2012	55
II.3.2 Résultats et discussion de la validation du COP et nettoyage manuel effectués le 02, 14/03/2012 & 20/04/2012	60
Conclusion	65

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

A tort et pendant fort longtemps, le nettoyage a été dissocié du procédé de fabrication et considéré comme moins important que le reste du procédé.

Le constat suivant montre comment, encore trop souvent, les industries agroalimentaires, considèrent le nettoyage :

- Utilisation du mot « ménage » au lieu de nettoyage
- Qualité à atteindre non définie dans les procédures
- Sols des ateliers qui collent
- Résidus de détergent après nettoyage
- Formation et motivation des opérateurs pour les tâches de nettoyage insuffisantes voire inexistantes.

Ce constat dressé, l'impact du nettoyage sur la qualité du produit paraît évident.

Très souvent et encore trop souvent, la validation et en particulier la validation du nettoyage est assez mal vécue par les industries agroalimentaires. A l'inverse, le nettoyage, vaste terme est associé à celui de qualité.

Une meilleure connaissance du procédé ne peut qu'engendrer une meilleure maîtrise de celui-ci, et par voie de conséquence, une productivité accrue.

Les exigences croissantes en matière de sécurité sanitaire des aliments ont conduit les industries du secteur agroalimentaire à une réalisation rigoureuse des opérations de nettoyage et de la désinfection des locaux, des équipements et des surfaces de travail.

Ces exigences impliquent également un contrôle régulier de l'efficacité de ces opérations, pour lequel les industriels disposent d'un certain nombre de méthodes de contrôle. Ce contrôle peut être un moyen de les optimiser, tout en motivant le personnel au respect des bonnes pratiques d'hygiène.

Le nettoyage et la désinfection sont des prérequis (ISO 22000), nécessaires à la sécurité des denrées alimentaires : ce sont des activités de base indispensables pour maintenir un environnement hygiénique approprié à la production d'aliment sains pour la consommation humaine.

Les eaux embouteillées sont élaborées selon des normes strictes internationales et une réglementation mise en vigueur par l'état, afin de garantir sa potabilité ainsi protéger le consommateur. C'est pourquoi nous nous sommes intéressées à la validation de l'efficacité du plan de nettoyage et de la désinfection des nouvelles lignes de production de l'eau de source « Nestlé vie pure ».

Les objectifs que nous avons ciblé se résument à :

- ❖ Vérification, mise à jour des procédures de nettoyage et de la désinfection et la veille à leur strict respect.
- ❖ Estimation de l'efficacité du nettoyage et de la désinfection des équipements qui entrent en contact avec l'eau de source de son exploitation à son embouteillage.
- ❖ Garantir la bonne qualité hygiénique et marchande du produit fini sur le plan microbiologique, physicochimique et organoleptique.
- ❖ Appréciation de l'impact du nettoyage et de la désinfection sur la qualité de l'eau de source embouteillée.

Partie

Bibliographique

I.1 Eau de source :

I.1.1 Définition légale :

Le Journal Officiel Algérien (2004) définit l'eau de source comme étant une eau d'origine exclusivement souterraine, apte à la consommation humaine microbiologiquement saine et protégée contre les risques de pollution.

I.1.2 Autres définitions :

Les eaux de source sont les points où affleure l'eau souterraine contenue dans les formations géologiques aquifères. L'eau de source est d'origine souterraine déterminée, provenant d'une nappe ou d'un gisement souterrain bactériologiquement sain et protégé des risques de pollutions (Bretzel, 1997).

Sa composition physico-chimique n'est pas constante, elle peut provenir de sources différentes et de régions éloignées. Elle est soumise à des normes de potabilité (Schoeller, 1974).

Elle doit être apte à la consommation sans autre traitement que la sédimentation des matières en suspension et la séparation des composés instables à l'aide de procédés physiques. Toute adjonction est interdite sauf celle de gaz carbonique (Bretzel, 1997).

I.2 Processus de production de l'eau de source « Nestlé Vie Pure » :

Toute la production est gérée par un système d'assurance qualité certifié conforme aux normes internationales. La composition de l'eau et sa pureté sont contrôlées en permanence. Des prélèvements sont effectués tout au long de la chaîne de production (Nestlé Waters Algérie, 2012).

I.2.1 Exploitation et acheminement d'eau de source du forage :

L'eau de source naturelle ne doit pas être exposée à des risques susceptibles de dégrader sa qualité originale. Ceci implique une mise en bouteille sur la zone d'émergence, obéissant aux règles fondamentales d'hygiène et de sécurité alimentaire. L'usine d'embouteillage est alimentée par deux forages (160 mètres de profondeur), qui sont parfaitement protégés par des périmètres de protection. L'eau de source n'entre jamais en contact direct avec l'air ambiant, elle est acheminée via des canalisations en inox vers le site d'embouteillage au niveau de la salle du traitement.

I.2.2 Filtration :

La filtration est un procédé purement physique qui consiste à faire passer l'eau à travers des filtres de mailles de plus en plus fines de 5 μ m et 1 μ m. Ces filtres particuliers à membranes plissées sont constitués de polymères dont la porosité est très faible. Ils sont sous forme de cylindres dans lesquels l'eau, sous pression, se répartit pour traverser la paroi poreuse.

I.2.3 Stockage :

L'eau passe par deux cuves de stockage et va être partagée en deux lignes C et D par une vanne spécifique (Manifold), ces deux dernières sont envoyées vers la production.

I.2.4 Filtration finale :

L'eau de ces deux lignes passe par une filtration finale microbiologique et finit respectivement aux remplisseuses C et D.

I.2.5 Conditionnement :

I.2.5.1 Soufflage :

Le soufflage est un procédé de mise en forme de matériaux polymères thermoplastiques (préformes en PET). Ces préformes sont convoyées jusqu'à la souffleuse où elles sont chauffées à 150°C puis refermées dans un moule de soufflage en demi coquille ayant la forme désirée. Une extrémité de la préforme est pincée. De l'air comprimé est ensuite injecté dans la cavité par l'orifice de la préforme afin de plaquer la matière contre l'empreinte refroidie et figer la pièce dans sa forme finale.

I.2.5.2 Remplissage et capsulage :

Toutes les opérations sont pratiquées sans aucune intervention humaine. Les bouteilles soufflées et vides sont introduites dans une zone sous hygiène contrôlée « la Remplisseuse », dont l'atmosphère filtrée est en surpression. Les bouteilles se remplissent les unes après les autres en déclenchant l'ouverture du bec de remplissage. Le capsulage se fait immédiatement après le remplissage.

I.2.5.3 Etiquetage et Datage :

Le volume d'eau indiqué sur les étiquettes doit absolument être respecté, il est contrôlé à la sortie de la remplisseuse par le Heuft qui rejette les bouteilles non conformes. Comme tout produit consommable, les bouteilles comportent une DLUO (Date Limite d'Utilisation Optimale) marquée par un dateur qui se trouve juste à la sortie de la remplisseuse. Les bouteilles sont acheminées sur un rail jusqu'à l'étiqueteuse, une bobine déroule les étiquettes et les déposent sur chacune des bouteilles pleines et capsulées.

I.2.6 Fardeulage et Posage de poignée :

Les bouteilles sont regroupées par six pour la 1.5L, par 12 pour la 0.5 L, par 2 pour la 5 L et sont enroulées dans un film plastique qui est ensuite rétracté par la chaleur grâce à la fardeuse ; le fardeau formé passe par la poseuse pour l'ajout du poignet qui facilite son transport.

I.2.7 Palettisation et Houssage :

Les packs (les fardeaux) sont ensuite disposés sur des palettes pour un transport et un stockage plus facile. Un film en plastique est déposé sur la palette pour diminuer tous les contacts entre les bouteilles et les désagréments extérieurs (poussières, soleil); la housse permet également le maintien des bouteilles sur leur support en étant rétractées autour.

I.2.8 Identification et Stockage :

La traçabilité de chaque palette est assurée par le marquage du N° de Lot, la ligne, de la date de fabrication et de la DLUO. Puis les palettes sont acheminées jusqu'à la zone de stockage (Magasin produit fini) ou elles sont stockées par les caristes en attente de leur libération. Aucun lot n'est libéré sans avoir reçu au préalable le feu vert du service qualité attestant de leur conformité.

II.1 Généralités sur l'hygiène :

Le terme Hygiène vient du grec *Hygieinon* qui signifie « santé » : Science qui apprend à conserver et à améliorer la santé (**Perlemuter et al. ,2007**). Selon la norme AFNOR : L'hygiène des aliments « c'est l'ensemble des conditions et des mesures nécessaires pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaîne alimentaire » (**Philippe et al ., 2002**). Il est préférable donc de pratiquer une hygiène rigoureuse de façon préventive (**Lederer, 1986**).

II.1.1 Source de contamination :

On distingue, en général, 5 types de sources de contamination (règle de 5 M):

- La **main-d'oeuvre** (personnel) (**Meunier, 2008**).
- Le **milieu** (environnement : air ambiant, surface)
- Les **matières** (matières premières et ingrédients, fluides process, etc.) (**Plavinet et Pointurier, 2003**) ; (**Anonyme, 1998**).
- Le **matériel** (équipement de production, de contrôle, de nettoyage, de maintenance, de sécurité, de transfert, d'exploitation, etc.)
- Les **méthodes** (production, maintenance, nettoyage, contrôle, transfert, etc.) (**Bolzan, 2008**)

II.1.2 Nature de contamination :

Les contaminations sont classés en 3 catégories (**Anonyme 1, 2005** ; **Sliwinski, 1995**):

II.1.2.1 Contamination particulière :

Il s'agit des particules inertes, poussières, fibres et toutes les substances qui n'entrent pas dans la composition du produit fabriqué. Ces contaminants ont plusieurs origines : tellurique, usure des équipements et des machines, humaine, procédés de fabrication.

II.1.2.2 Contamination chimique :

Il peut s'agir des agents de nettoyage de concentration plus ou moins importante.

II.1.2.3 Contamination microbiologique :

Ce type de contamination regroupe l'ensemble des organismes vivants tels que les levures, moisissures, bactéries, virus. Dans des conditions favorables (température, humidité, pH, milieu nutritif), ils ont la propriété de se multiplier très rapidement et de former des biofilms. La quasi-totalité des microorganismes présents dans l'environnement sont fixés sur des surfaces ou des particules.

II.1.2.3.1 Coliformes totaux :

Les coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (**Delarras et Bernard, 2006**), selon l'**Organisation Internationale de Standardisation (ISO)**, il s'agit des

bacilles à Gram négatifs, non sporulés, oxydase négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C (Guiraud, 1998).

Elles existent dans les matières fécales mais se développent également dans les milieux naturels (Potelon, 1998).

II.1.2.3.2 Coliformes thermotolérants :

Il s'agit là de coliformes possédants les mêmes caractéristiques que les coliformes totaux mais à 44°C ; ils remplacent dans la majorité des cas l'appellation de « coliformes fécaux » (Haslay et Leclerc, 1993).

Les coliformes fécaux se développent à 44°C et au moins 95 % des souches fermentent le lactose avec production de gaz ; de surcroît, si ces coliformes thermotolérants produisent de l'indole à partir d'une peptone riche en tryptophane à 44°C, ils sont alors présomptifs d'*Escherichia coli* (Haslay et Leclerc, 1993).

Escherichia coli ou colibacille est habituellement une bactérie commensale, c'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif ; elle peut devenir pathogène si les défenses de l'homme se trouvent affaiblies. Sa présence dans l'eau indique une pollution fécale récente (Nauciel, 2001).

II.1.2.3.3 Streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux ou les entérocoques fécaux figurent parmi les paramètres microbiologiques à rechercher. Plus précisément, cette appellation correspond à des streptocoques du groupe D (Delarras et Bernard, 2006). Il s'agit de cocci à Gram positif de forme sphérique ou ovoïde, se présentant en chainettes plus ou moins longues, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, ne possédant ni catalase ni oxydase (Haslay et Leclerc, 1993).

Ce sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud. Et ne sont pas considérés comme pathogènes (Potelon, 1998).

II.1.2.3.4 Anaérobies Sulfito-Réducteurs (ASR):

La recherche des *Clostridium* sulfito-réducteurs, est habituellement prise en compte dans les réglementations destinées à garantir la qualité des eaux d'alimentation (Haslay et Leclerc, 1993).

Le *Clostridium perfringens* est un bacille à Gram positif, anaérobie stricte, capsulé, immobile, sporulant et catalase négative. C'est une bactérie ubiquiste, présente dans le sol, l'eau, la flore intestinale de nombreuses espèces et de l'homme (Raoult, 1998), réduisant les sulfites en sulfures (Guiraud, 1998).

II.1.2.3.5 *Pseudomonas aeruginosa* :

Autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, elle tire son nom de la pyocyanine qui est un pigment bleu-vert ; elle appartient à la famille des *pseudomonadaceae*. Il s'agit d'un petit bacille à gram négatif, mobile grâce à son flagelle, aérobic, lactose négatif, oxydase positif, non sporulé.

C'est une bactérie ubiquiste, saprophyte dans les eaux douces et marines, dans l'air, dans les sols humides ou sur les végétaux. Elle est commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, mais aussi pathogènes pour eux (**Delarras, 1997**).

II.1.2.3.6 Levures et Moisissures :

➤ Levures :

Sont rassemblées sous le nom de levures les champignons microscopiques unicellulaires, utilisent fréquemment les glucides qu'elles fermentent et sont souvent osmophiles. La température optimale de croissance se situe entre 25°C et 30°C, mais certaines espèces tolèrent des températures de 35°C à 47°C.

Elles peuvent s'adapter à tous les pH (sauf les valeurs extrêmes) mais préfèrent les milieux acides (**Leyral et Vierling, 2001**). Les levures et moisissures constituent une bonne flore indicatrice de la qualité générale (**Guiraud, 1998**).

➤ Moisissures :

C'est l'ensemble des champignons microscopiques saprophytes présentant une végétation notable, elles peuvent être nuisibles : agent d'altération d'aliments. Les spores ne germent pas lorsque la teneur en eau d'un substrat est inférieure à 13% ou 14%. La végétation maximale est produite entre 20°C et 30°C. Les moisissures se développent mieux en milieu légèrement acide et tolèrent parfois des pH très bas (**Leyral et Vierling, 2001**).

II.2 Généralités sur le nettoyage, désinfection :

Selon Les **NGMP (2007)** «Tout le nettoyage de surfaces qui entrent en contact avec le produit devrait être reconnu comme une étape critique du processus, l'équivalent dans la priorité de toutes les autres étapes de production. Il est garant de la qualité des produits fabriqués. Des procédures de nettoyage devront être établies et validées avec toutes les informations documentées ».

Le nettoyage et la désinfection sont deux opérations complémentaires, il n'y a pas de bonne désinfection sans nettoyage préalable « on ne désinfecte que du propre » (**Bouix et Leveau, 1999**).

II.3 Nettoyage :

II.3.1 Définition du nettoyage :

Selon l'AFNOR (Norme 50-109), « le nettoyage est une opération qui consiste à éliminer d'une surface donnée toute souillure visible ou invisible pouvant s'y trouver. ».

La détergence est un Processus selon lequel les salissures (souillures) sont détachées de leur substrat et mises en solution ou en dispersion. Au sens ordinaire, la détergence a pour effet le nettoyage des surfaces. Elle est la résultante de la mise en œuvre de plusieurs phénomènes physicochimiques (NF EN ISO 862).

Selon Kluger *et al* (1981) la nature des souillures va directement conditionner le nettoyage que ce soit aussi bien au niveau du détergent utilisé que de la manière technique dont le nettoyage est réalisé.

II.3.2 Détergents et Nettoyage :

Le plus souvent, les procédures de nettoyage font intervenir un ou plusieurs détergents afin d'obtenir une surface propre. Les détergents sont des combinaisons de composés chimiques qui permettent de débarrasser une surface de sa souillure. Ces détergents sont ajoutés à l'eau et utilisés pour leurs propriétés ou leurs pouvoirs (Kluger *et al*, 1981).

Selon Salager (2002) La majorité des détergents sont à base de deux catégories de produits:

- des sels minéraux (alcalins ou acides)
- des constituants organiques (tensioactif, dispersant, séquestrant, chélatant)

II.3.2.1 Classification des détergents :

Il existe deux grandes catégories de détergents (Anonyme1, 2002)

➤ *Les détergents alcalins :*

Ces détergents sont les plus utilisés dans l'industrie. 80% des nettoyages sont effectués avec ces détergents. Ils sont utilisés pour éliminer les résidus de graisses, huiles ou protéines et agissent par solubilisation et désagrégation des souillures. Le milieu alcalin permet la formation d'anions à partir de résidus de graisse.

L'emploi de ce type de détergent permet un nettoyage rapide combiné à une action désinfectante. Leur action peut être accrue par l'addition d'autres surfactifs tels que les séquestrants, ou bien des inhibiteurs de corrosion comme les silicates.

➤ *Les détergents acides :*

Ces détergents provoquent la dissolution des dépôts minéraux et sont employés pour nettoyer principalement l'inox, car ils reforment en continu la couche passivante qui confère à l'acier son inoxydabilité. Leur utilisation est quasiment limitée aux aciers inoxydables et nécessite des précautions particulières d'utilisation concernant les concentrations et températures utilisées. La source « d'acidité » peut provenir d'un acide organique (citrique, formique) ou inorganique (sulfurique, phosphorique, nitrique). Cependant, la formulation à partir d'un acide inorganique montre un meilleur pouvoir protéolytique comparé aux formulations basées sur un acide organique. Les détergents acides sont utilisés pour éliminer les résidus d'origine minérale ou après une étape de lavage par un détergent alcalin, pour neutralisation.

II.3.2.2 Choix d'un détergent :

Selon **Laban et al (1999)** un détergent doit avoir les qualités requises afin d'obtenir un nettoyage efficace. La composition chimique va influencer directement le choix du détergent. Le détergent doit pouvoir répondre à des critères définis. Voir (**annexe 1**)

II.3.2.3 Mode d'action des produits de nettoyage :

Les détergents sont des molécules amphiphiles : ils ont une tête polaire (hydrophile) qui aime l'eau et une queue apolaire (hydrophobe) qui pousse l'eau, c'est ce caractère amphiphile qui est à l'origine de l'action du détergent. Lorsqu'on le met dans l'eau, on a l'impression que celui-ci se solubilise malgré son caractère amphiphile. En réalité, il s'agit d'un groupement des molécules de détergents sous forme de micelle qui, restent en suspension dans l'eau. Dans une micelle les parties polaires (hydrophiles) se dirigent vers l'extérieur (en contact avec les autres parties hydrophobes). Lorsque on agite l'eau contenant un agent de surface, les salissures hydrophobes (exemple : huile, graisse....) s'associent à la partie centrale des micelles en raison de leur caractère hydrophobe, ainsi les salissures se trouvent en suspension dans les micelles. L'action détergente réelle ne se manifeste qu'à des concentrations en agent de surface supérieur à la concentration micellaire critique. Elle est cependant fortement influencée par la température (**Carole et Vignola, 2002**) ; la présence de sels, par ailleurs inertes, peut diminuer fortement la concentration micellaire critique et par conséquent accroître l'action détergente (**Louafi et Larbi, 2007**).

II.3.3 Les types de nettoyage :

Il existe une forte tendance à réduire au maximum l'intervention de l'homme lors des nettoyages afin de minimiser le contact avec des produits dangereux et nocifs, mais également afin de pallier au manque de reproductibilité des nettoyages manuels (**Bailly, 2004**).

Trois types de nettoyages existent (**Bishop, 1997 ; Anonyme, 2002**) :

II.3.3.1 Nettoyage manuel :

Consiste en une élimination des résidus par une action mécanique couplée ou non à l'action chimique de produits comme les détergents et les désinfectants.

Le principal avantage de ce type de nettoyage est le ciblage des zones critiques du matériel difficilement atteignables avec d'autres types de nettoyage. Le principal inconvénient est le manque de reproductibilité de la méthode. L'efficacité de ce type de nettoyage est assurée par la bonne application par l'opérateur des procédures de nettoyage.

❖ Nettoyage au canon à mousse :

Le canon à mousse est un appareil de nettoyage qui permet de produire en abondance une mousse détergente et/ou désinfectante et/ou détartrante, adhérente et de la projeter à volonté sur toutes les surfaces à nettoyer, aussi bien horizontales que verticales. La mousse est produite par un mélange d'eau et de produit chimique moussant. Si l'on ajoute de l'air comprimé, on obtient une mousse active. Dans tous les cas, il faut utiliser une lance spéciale ou une buse spéciale (**Anonyme, 2012**).

II.3.3.2 Nettoyage semi-automatique :

N'implique que très peu l'opérateur. Il s'agit d'une succession d'opérations manuelles et automatiques.

II.3.3.3 Nettoyage automatique :

Ne nécessite aucune intervention humaine, il est réalisé par aspersion ou recirculation des fluides, et ne nécessite aucun démontage du matériel. L'enchaînement des opérations s'effectue dans des conditions prédéterminées. Ce type de nettoyage assure la meilleure reproductibilité mais requiert des installations lourdes et coûteuses. La différence entre le nettoyage manuel et automatique est représenté dans le (**tableau 1, annexe 2**).

❖ Clean Out of Place (COP):

C'est une technique de nettoyage automatique utilisé pour nettoyer les surfaces des équipements industriels. Elle commence par un rinçage suivie d'un moussage (pulvérisation d'une solution chimique à travers une station de COP) et un rinçage final. Le temps, la pression, et la concentration sont manipulés pour obtenir un nettoyage efficace (**Anonyme, 2012**).

II.3.4 Cleaning In Place (CIP) ou Nettoyage En Place (NEP):

II.3.4.1 Définition du nettoyage en place :

Bouix et Leveau, (1999) ont défini le NEP comme le nettoyage et la désinfection d'un système fermé qui permettent de faire circuler, à l'intérieur d'un équipement non démonté : la bonne solution de nettoyage par la circulation d'eau, de détergents et/ou de désinfectants à la bonne concentration ; au bon endroit, à la bonne température, au bon débit, un pH optimum, une bonne action mécanique et se pratique dans le temps de contact nécessaire dans les cuves, les tuyauteries, les circuits et les machines juste à la fin de la production et la vidange des équipements. Sans utilisation de brosse et sans trempage (**Bouri et Djemia, 2008**).

II.3.4.2 Les opérations du nettoyage en place :

Selon les **Manufacturing Instructions de Nestlé Waters (2011)** les opérations de NEP sont identifiées dans le **tableau 2, annexe 3**.

- **Rinçage préliminaire** : Un rinçage préliminaire est nécessaire pour enlever les souillures non adhérentes. Pour ce faire, on peut utiliser de l'eau potable, Il est recommandé de déclencher cette phase dès la fin de la fabrication afin d'éviter le séchage de la souillure qui rendrait le nettoyage plus difficile (**Carole et Vignola ,2002**).
- **Nettoyage alcalin** : Un nettoyage alcalin avec un détergent alcalin est nécessaire pour enlever les souillures organiques (protéines, matière grasse) l'alcalinité de la solution sera plus ou moins forte, l'addition d'agents inhibiteurs autorisera cette phase sur des matériaux sensible (**Carole et Vignola ,2002**).
- **Inter-rinçage** : Un premier inter-rinçage vise à éliminer les résidus de détergent alcalin. On peut récupérer les eaux de la fin de rinçage et réutiliser pour faire le rinçage préliminaire du prochain équipement à laver. (**Carole et Vignola ,2002**).
- **Nettoyage acide** : Le lavage par un détergent acide sert à enlever les souillures minérales dans le cas où c'est nécessaire. Dans certains cas, on peut remplacer le lavage acide par un rinçage légèrement acidifiée (**Carole et Vignola ,2002**).
- **Inter- rinçage** : Ce second inter-rinçage vise à éliminer les résidus de détergents acide (**Carole et Vignola ,2002**).
- **La désinfection** : Une désinfection se fait peu de temps avant les opérations de production. On peut utiliser un assainissement chimique, avec l'eau chaude ou une combinaison des deux (**Azzaz et Mezioud ,2009**).
- **Rinçage final à l'eau potable** : Cette dernière étape est recommandée dans le cas de l'assainissement avec un désinfectant chimique. Si on utilise un désinfectant sans rinçage,

il faut avoir la certitude que l'équipement est bien lavé et que le NEP est en mesure de drainer complètement l'assainisseur (Carole et Vignola ,2002).

II.3.4.3 Eléments déterminants l'efficacité du nettoyage en place :

Selon Bakarić (2004), l'efficacité de nettoyage dépend totalement du fonctionnement correct des 6 T présentée dans le Tableau 3. Un changement ou une erreur dans l'un des T perturbe l'équilibre total et mènera aux défaillances de nettoyage.

Tableau 3 : les éléments du nettoyage

6 T	Caractéristiques
Turbulence	Vitesse du flux dans toutes les parties du système nettoyé
Temps	Durée de chaque étape et la durée totale de la procédure
Température	Des solutions de nettoyage et de l'eau au début et à la fin du circuit
Titration	Concentration des solutions de nettoyage dans les circuits
Technologie	Le design de la ligne entière incluant tous les circuits vers et à partir des Cuves de produits chimiques et de l'eau
Training	Des séances de formation pratiques pour les opérateurs et également de sensibilisation

(Bakarić, 2004)

II.3.4.3.1 Influence de la concentration sur l'efficacité du nettoyage :

Tout détergent possède une concentration optimale d'utilisation, déterminée lors d'essais par le fournisseur. Une fausse idée reçue serait de dire que plus le détergent est concentré, plus il est efficace (Bailly, 2004). Selon Bakarić (2004) la concentration chimique optimale pour un nettoyage efficace est fonction de:

- Type des souillures
- Quantité des souillures
- Age des souillures
- Humidité dans les souillures
- Force d'adhérence des souillures à la surface de l'équipement.

II.3.4.3.2 Turbulence des solutions de nettoyage :**❖ Action mécanique :**

Elle peut être provoquée par l'augmentation de la turbulence dans les canalisations, l'agitation des pièces à nettoyer et la pression exercée. D'une manière générale, l'action mécanique tend à augmenter la vitesse d'écoulement, améliorant le transfert de détergent jusqu'à la souillure (**Bailly, 2004**).

II.3.4.3.3 Temps de CIP :

La sélection des temps de contact eau de rinçage ou détergent avec les équipements peut s'envisager à partir des critères suivant :

- Prise en compte de la longueur des circuits du NEP ;
- Le temps global de contact dépend également de l'équipement à nettoyer et de l'importance des souillures à éliminer;
- La durée de la désinfection dépend du désinfectant et de la charge potentielle en micro-organisme ;
- Pour le rinçage finale l'utilisation d'eau potable avec vérification du pH, permet de définir le temps d'application nécessaire (**Gartier et al ., 1997**).

II.3.4.3.4 Température des solutions de nettoyage :

Comme toute réaction chimique, une augmentation de la température a pour conséquence une augmentation de la vitesse de réaction (loi d'Arrhenius). L'élévation de la température a également un rôle dans l'abaissement de la tension superficielle, l'augmentation de la turbulence qui atteint son maximum à ébullition (**Bailly, 2004**).

Le choix de la température doit toujours être fait à l'égard des conditions de travail, la nature des dépôts et des solutions de nettoyage utilisées (**Bakarić, 2004**).

II.4 Désinfection :

La désinfection est une opération, au résultat momentané, qui exige l'application d'un agent chimique ou de la chaleur pour éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables, supportés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés (**FAO, 1993**).

II.4.1 Techniques de désinfections :**II.4.1.1 La désinfection chimique:**

Les désinfectants fréquemment utilisés sont les produits à base de chlore, les composés de chlorure, d'ammonium quaternaire, l'acide anioniques, carboxylique et les composés peroxydes.

Les critères de choix d'un désinfectant sont les mêmes que pour un détergent. S'y ajoutent ceux spécifiques aux désinfectants. En fonction des besoins, le produit doit présenter une activité bactéricide, fongicide, virucide, sporicide (**Bakarić, 2004**).

II.4.1.2 La désinfection thermique:**II.4.1.2.1 L'eau chaude :**

L'eau chaude est un agent relativement peu coûteux bien qu'elle dépende du coût énergétique local. La désinfection à l'eau chaude peut être un processus comparativement lent (90°C pour > 20 minutes est idéale), l'équipement a besoin de cycles de chauffage et de refroidissement en plus de la période de l'activité (**Bakarić, 2004**).

L'eau chaude peut mener à la formation des films et la fixation des souillures restantes et elle peut diminuer la durée de vie d'équipement. Bien que non corrosif, l'expansion thermique peut soumettre l'équipement à un stress (**Bakarić, 2004**).

II.4.1.2.2 La vapeur:

Pour que la désinfection à la vapeur soit efficace une température de 90 ° C pendant plus de 15minutes est nécessaire (**Bakarić, 2004**).

La vapeur est influencée par la conductibilité thermique des matériaux, de plus le refroidissement de la vapeur est très rapide, la vapeur doit donc être le véhicule d'un désinfectant chimique non détruit par la haute température, il y a risque de corrosion pour les métaux ; les coûts énergétiques élevés en plus de la condensation qu'ils provoquent constituent les inconvénients majeurs (**Roger ,1979**).

II.4.2 Mode d'action de produits de la désinfection :

Les assainisseurs peuvent agir par destruction chimique, par interférence métabolique ou par inhibition de la reproduction.

II.4.2.1 Destruction chimique : les assainisseurs chimiques détruisent rapidement la matière organique vivante ou non, avec les assainisseurs comme : les hypochlorites et les iodophores car ces derniers réagiront d'abord avec les résidus comme les lipides qui sont très résistants à l'attaque chimique et que la paroi des bactéries gram négatif en contient beaucoup ces derniers seront plus résistances que les autres (**Carole et Vignola ,2002**).

II.4.2.2 Interférence métabolique : elle définit l'empoisonnement des cellules vivantes, car les assainisseurs agissent sur les parois cellulaire et la membrane, par la suite, les assainisseurs agissent à l'intérieur de la cellule qui ne pourra plus produire l'énergie nécessaire à sa survie par l'utilisation des éléments nutritifs, ils peuvent donc causer la mort de la cellule (**Carole et Vignola ,2002**).

En destruction chimique, les résidus organiques restants à la suite d'un lavage adéquat. De plus certaines bactéries, à la suite de mutation, peuvent développer une résistance à l'assainisseur. Il est donc primordial de suivre le mode d'emploi, d'assainir les surfaces préalablement lavées seulement et d'alterner les assainisseurs selon des intervalles réguliers (**Carole et Vignola, 2002**).

II.4.2.3 Inhibition de la reproduction : Certains assainisseurs peuvent déranger le cycle de reproduction des bactéries en empêchant la multiplication du matériel génétique, sans pour autant tuer la cellule après une certaine période de temps, la population bactérienne disparaît faute de pouvoir se reproduire (**Carole et Vignola, 2002**).

II.4.3 La résistance microbienne aux agents du nettoyage et de la désinfection :

Characklis (1989) avait défini le biofilm comme étant une association de microorganismes inclus dans une matrice d'exopolymères qui sont généralement attachés à la surface de toutes sortes de matériaux, tels que les métaux, les plastiques, les particules des sols, tissus. Selon **Bosgraud (2003)** le biofilm est une structure très organisée avec de nombreuses communications intercellulaires pour assurer un équilibre et un mode de vie coopératif.

Un modèle de formation du biofilm communément admis chez *Pseudomonas aeruginosa* est présenté dans **la figure 3**.

1. Adhésion réversible :

Pour aboutir à l'étape, la bactérie doit dans un premier temps approcher le support. Des mécanismes dans lesquels la cellule n'est pas active interviennent : mouvement brownien, sédimentation et transfert de masse par convection (**Yang et al., 1999**), mais aussi des mécanismes où la cellule est active comme le chimiotactisme et la mise en place d'appendices générateurs de mouvement tels que les flagelles (**O'Toole et Kolter, 1998**).

2. Adhésion irréversible :

Dans un deuxième temps, une association stable avec la surface s'établit grâce à des structures adhésives telles que des adhésines filamenteuses (fimbriae, pili) ou non (EPS, capsule,...) et à la mise en place de

nombreuses liaisons de faible énergie comme les liaisons hydrogène, hydrophobes et les liaisons ioniques (Palmer *et al.*, 2007).

3. Maturation :

C'est lors de cette étape qu'il va prendre la forme de « champignon », caractéristique chez *P. aeruginosa*, et que le réseau de canaux aqueux va se mettre en place. Il y a alors accroissement de la biomasse et production de métabolites sécrétés par les bactéries (Stoodley *et al.*, 2002).

4. Détachement :

Au cours de laquelle des cellules vont être libérées sous forme planctonique pour la colonisation de nouvelles surfaces (Stoodley *et al.*, 2002).

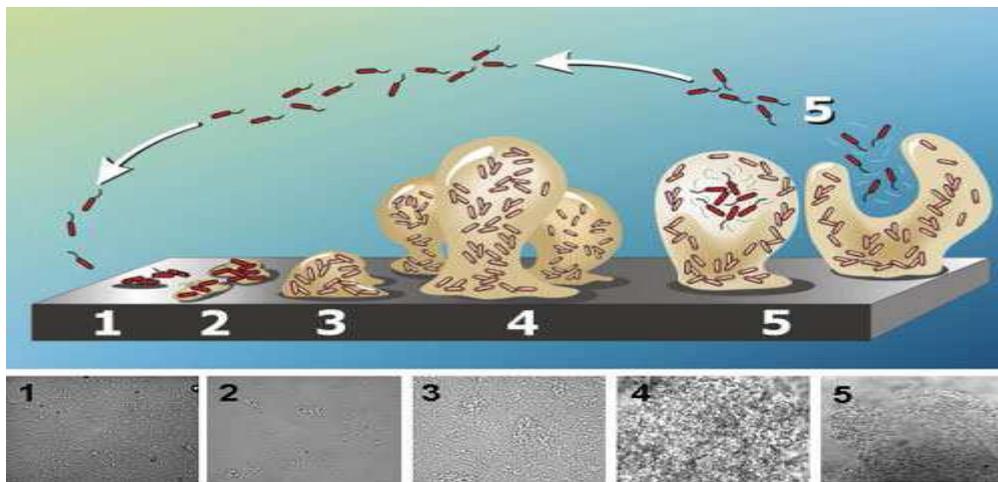


Figure 1 : Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm de *P.aeruginosa* et visualisation par microscopie à transmission (Stoodley *et al.*, 2002).

III.1 Définition de la Validation :

« Valider un procédé de nettoyage, c'est démontrer de manière scientifique et documentée, que les différentes étapes de ce procédé permettent d'obtenir dans des conditions préétablies une surface ne comportant pas de contamination résiduelle supérieure à une limite préalablement fixée, ceci de manière reproductible » (**Bolzan, 2008**).

La validation du nettoyage est une procédure pour s'assurer que les cycles de ce dernier ont effectivement enlevé les résidus à des niveaux prédéterminés d'acceptabilité qui sont directement liés aux spécifications de produit (**Duke et Stalder, 2008**).

III.2 Définition du contrôle de la qualité :

Le contrôle de la qualité est à la fois la mesure d'une caractéristique, sa comparaison à une base de référence admise (ou imposé), l'interprétation de la signification de cet écart et la recherche de sa cause. Mais le contrôle de la qualité peut et doit aller jusqu'à la mise en place de tous les moyens capables de garantir l'obtention du niveau choisi et dans la limite de la tolérance décidée (**Multon, 2002**).

III.3 Assurance qualité :

Au sens général, pour assurer le maintien de la qualité, l'assurance qualité peut se résumer en une démarche qui tend vers le zéro défaut ou qualité totale.

Cette démarche prévient l'erreur ou le défaut, plutôt que d'avoir à le constater à posteriori (**Bailly, 2004**).

Selon le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), l'Assurance Qualité est définie comme « un large concept qui couvre tout ce qui, individuellement et collectivement, peut influencer la qualité d'un produit.

III.4 Points communs à toute validation du nettoyage :

III.4.1 Etude de validation :

La validation nettoyage, s'inscrit comme les autres validations, dans un cadre global de politique de validation (**Anonyme 2, 2002**).

L'entreprise doit définir une politique générale de validation et d'orientation, ayant pour objectif premier l'assurance de la qualité et une meilleure maîtrise et compréhension de ses procédés. La validation nettoyage intervient donc après que la validation du matériel (qualification), des méthodes analytiques, et du procédé ait été effectuée. Il est à noter cependant que la validation du nettoyage peut être concomitante à la validation du procédé de fabrication, le nettoyage faisant

partie intégrante du procédé. Cependant pour des raisons de gestion documentaire, notamment dans le cas de sites multi-produits, la validation du nettoyage peut faire l'objet de documents séparés (plan, protocole, rapport) (**Baily, 2004**).

III.4.2 Pré-requis :

La validation du matériel repose essentiellement sur la qualification de ces derniers. La qualification est une « opération documentée destinée à montrer que les équipements et les logiciels fonctionnent correctement et donnent réellement les résultats attendus. ».

La qualification permet de maîtriser les équipements afin de garantir la reproductibilité des procédés et d'assurer la sécurité des opérateurs et protéger l'environnement (**Anonyme, 2001**).

III.4.2.1 Qualification du design (DQ) (Jolicoeur, 2003) :

Preuve documentée qui confirme que la description d'un équipement est conforme aux spécifications établies par l'utilisateur, en accord avec le fournisseur.

- Dessins, Documentation, Manuels, spécifications techniques, installation, instrumentation, raccords. Liste des pièces de rechange, Formation et les plages de fonctionnement, conditions environnementales.

III.4.2.2 Qualification de l'installation (IQ) (Jolicoeur, 2003) :

Il s'agit de la « Vérification documentée que les installations, systèmes et équipements tels qu'ils ont été installés (ou modifiés), sont conformes à la conception approuvée et aux recommandations du fabricant ».

- Dessins, Documentation, Manuels, fabricant, Modèle, et spécifications techniques

III.4.2.3 Qualification des opérations (QO) (Jolicoeur, 2003) :

Il s'agit de vérifier que toutes les fonctions essentielles d'un équipement ou d'un système fonctionnent selon leurs spécifications de conception.

- Vitesses, débits, pression, courant, séquences, alarmes, calibration, formation (opération)

III.4.2.4 Qualification de Performance (PQ) (Jolicoeur, 2003) :

- Preuve documentée qui confirme que la performance d'un équipement est conforme aux spécifications établies, de l'utilisateur et du fournisseur et ce, de façon reproductible.

- Précision du procédé (reproductibilité), qualité du produit.

Partie Pratique

❖ Description de la zone d'étude :

Le site de captage de la source TABERKACHENT est situé au piémont septentrional de la montagne de l'Atlas Blidéen à moins de quatre kilomètres au sud-sud-ouest du chef-lieu de la ville de Blida et à une cinquantaine de kilomètres au sud-ouest d'Alger.

Le site de captage est situé à 01km à l'Est du village qui porte le nom du mausolée Sidi El Kebir, d'une altitude de 440 m au niveau de la mer. Il est circonscrit dans une vallée très étroite, creusée au cœur d'une écaille calcaire formée par les reliefs d'orientation NW-SE du Djbel Hannous au sud et de Djbel Feranoun au nord (**Anonyme, 2007**).

I.1 Objectif :

Ce travail a porté sur la validation du nettoyage et de la désinfection des lignes de production de l'eau de source Nestlé Vie Pure au niveau de laboratoire de Nestlé Waters à Blida (**Annexe 4**); durant une période de 6 mois allant du mois de décembre jusqu'à la fin Mai 2012.

Les principaux objectifs fixés sont :

- Estimation de l'efficacité du nettoyage et de la désinfection des lignes de production de l'eau de source Nestlé Vie Pure.
- Appréciation de l'impact du nettoyage en place sur la qualité du produit semi fini et fini.
- Vérification du niveau de la conformité par comparaison des résultats d'analyses avec les normes.

I.2 Matériel d'étude :

Le matériel d'étude (représenté par les détergents, les désinfectants, la verrerie, les appareillages, les réactifs, les additifs et les milieux de culture) figure en **Annexe 5**.

I.3 Plan de validation :

Afin de valider le nettoyage (CIP, COP et le nettoyage manuel) et la désinfection des lignes de production de Nestlé Vie Pure, nous avons suivi le protocole de validation défini par le Product Technology Center de Nestlé waters. Voir **annexe 6**

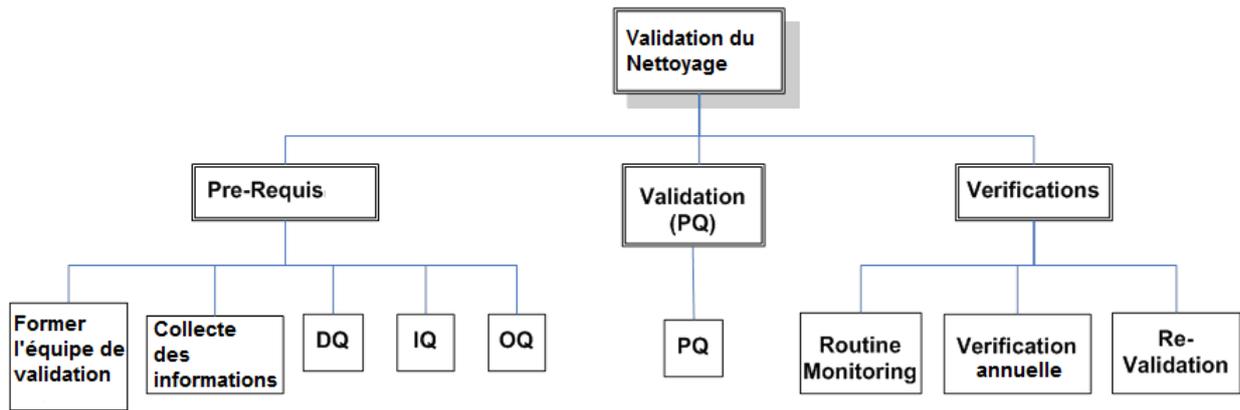


Figure 2: Plan de validation (Duke et Stalder, 2008)

❖ Equipement à valider :

Le suivi du nettoyage et de la désinfection est réalisé pour tous les équipements mis en contact direct avec le produit en précisant le type de matériel à nettoyer. Voir **figure 6**

- Liaison forage F1
- Cuve 820
- Liaison forage F2
- Cuve 810
- Ligne C&D, Remplisseuse C&D.

L'installation NEP à Nestlé Waters Algérie est présentée dans l'**annexe 7**.

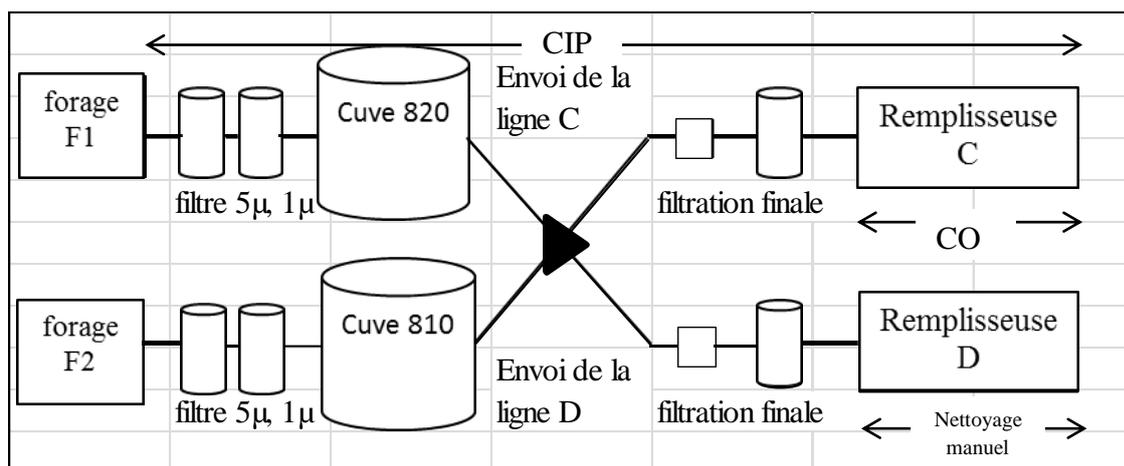


Figure 3 : Chaîne de traitement de l'eau de source Nestlé Vie Pure (Nestlé Waters, 2012)

I.3.1 Qualification du design et de l'installation :

- La première étape de la validation consiste à vérifier que tous les équipements installés soient bien conformes et répondent aux critères de conception hygiénique en allant des forages aux lignes de production. Nous contrôlons l'absence de zones de rétention et de bras morts.
- Calibration des instruments de mesure
- Méthodes d'analyse : Tout comme les équipements, les méthodes d'analyse utilisées doivent faire l'objet d'une validation avant le début de la validation du nettoyage.
- Procédure de nettoyage : La procédure de nettoyage est sans aucun doute le point clé de la validation. C'est sur cette procédure que repose la validation. Une revue attentive de cette procédure doit être effectuée avant de débiter toute validation.

I.3.2 Qualification opérationnelle et de la performance:

- Pour le CIP et COP 3 cycles sont suffisants pour le valider.
- Pour le nettoyage manuel 3 cycles effectués par deux ou 3 opérateurs différents sont nécessaires pour la validation.
- ❖ La validation des paramètres de nettoyage et désinfection : des solutions de nettoyages sont prélevées de chaque zone nettoyées et sont destinées aux analyses physicochimiques. Les paramètres contrôlés sont :
 - Temps
 - Température
 - Concentration
 - Vitesse (CIP)
- ❖ La validation du rinçage : les eaux de rinçage finales sont prélevées de chaque zone rincées. Les paramètres contrôlés sont :
 - Contrôle visuel (COP et nettoyage manuel)
 - pH
 - Conductivité (CIP)
 - Analyse sensorielle
- ❖ La validation de la désinfection :
 - Contrôle microbiologique de l'eau de source de son émergence à son embouteillage
 - Contrôle microbiologique des surfaces et de l'air des atmosphères sous contrôle (COP et nettoyage manuel).

I.4 Méthodes :

I.4.1 Echantillonnage et prélèvement :

Avant de passer au plan d'échantillonnage qui concerne la validation, il est nécessaire d'expliquer le plan de contrôle appliqué à Nesstlé waters. Voir **figure 4**

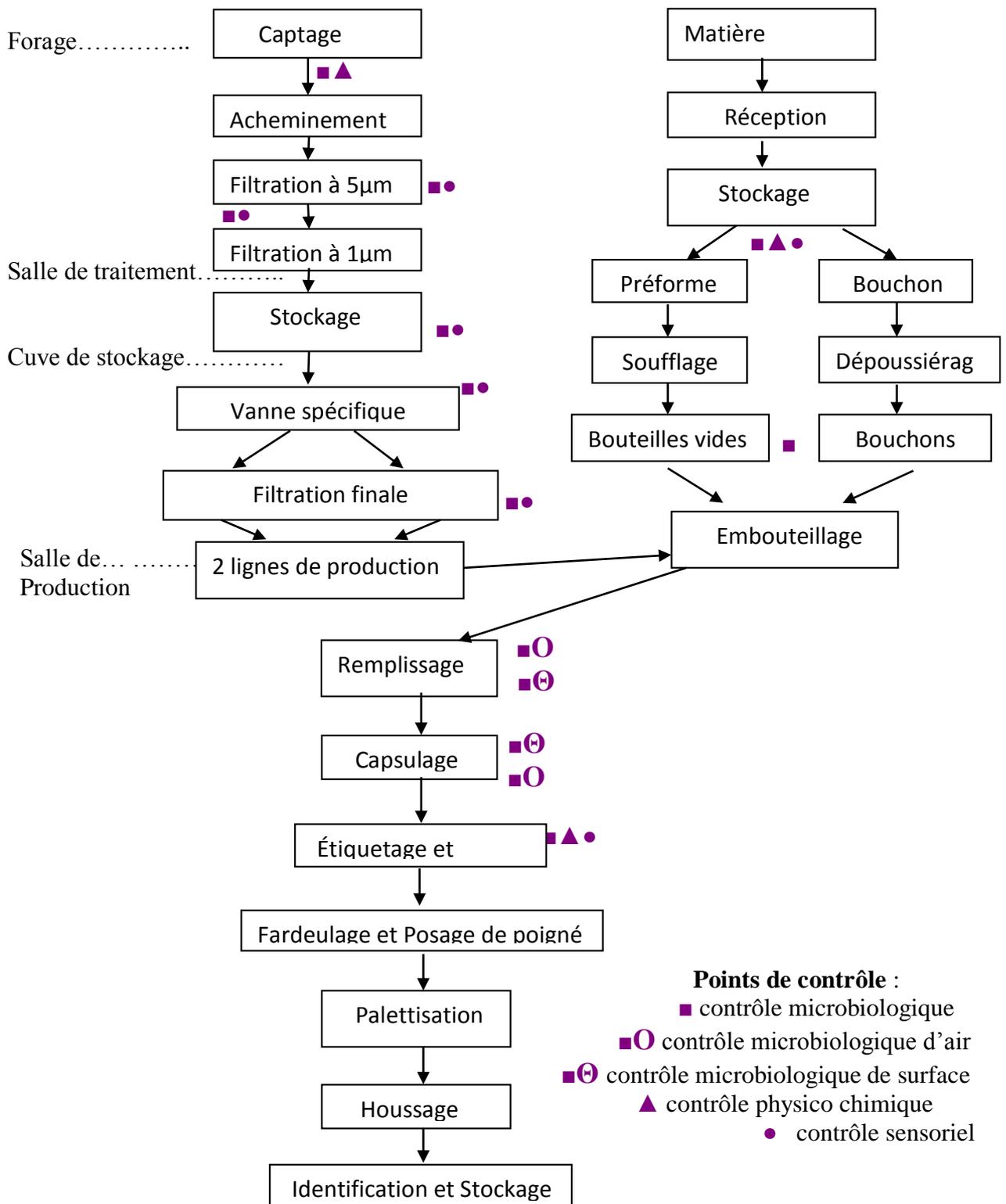


Figure 4: procédés de production de l'eau de source Nestlé et les points de contrôle

Le programme d'échantillonnage a été réalisé par l'équipe de la validation (Le leader de l'équipe : le manager assurance qualité, le responsable des ressources en eau, l'agent CIP et nous-même). Voir **tableau 4**

L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier ses caractéristiques physico-chimiques ou microbiologiques.

Nous avons effectué :

- ❖ Des prélèvements de toutes les solutions de nettoyage et de désinfection utilisées pour le CIP, COP et le nettoyage manuel.
- ✓ L'échantillonnage pour la mesure de concentration doit obligatoirement se faire après au moins 5 minutes de démarrage du CIP.
- ✓ La mesure de la concentration doit obligatoirement se faire durant chaque phase, si la concentration est en dessous des normes fixées, l'opérateur doit la corriger.
- ✓ Le prélèvement doit être fait au moment du moussage pour le COP comme pour le nettoyage manuel par le canon à mousse. Voir **figures 5 et 6**
- ❖ Des prélèvements de l'eau de rinçage final destinés aux analyses physicochimiques et sensorielles.
- ❖ Des prélèvements de l'eau de source de son émergence à son embouteillage destiné aux analyses microbiologiques:
 - Pulvériser le robinet avec de l'alcool et flamber le robinet à l'aide d'une flamme;
 - Ouvrir le robinet, laisser couler 1 à 2 minutes et flamber rapidement le bord du flacon stérile, le remplir presque entièrement ;
 - Flamber à nouveau le bord et mettre le bouchon.



Figure 5 : nettoyage manuel (canon à mousse)
Ligne D



Figure 6 : nettoyage automatique (COP)
Ligne C (Photos originales)

Tableau 4 : Calendrier des prélèvements effectués durant la période de stage

Types de nettoyages	21.01	25.01	03.02	10.02	16.02	02.03	01.05	11.05	18.05
CIP 5 étapes Acide + eau chaude	x	x	x						
CIP Alcalin+ eau chaude				x	x				
CIP 7 étapes						x			
CIP Alcalin+ désinfection chimique							x	x	x

Le CIP doit se faire une fois tous les 7 jours au maximum. Cette fréquence peut changer en cas d' :

- Arrêt de production plus de 45mn (Désinfection),
- Intervention sur les becs de remplissage en interne, changement de format (CIP Alcalin suivi d'une désinfection).
- Ouverture d'un tuyau ou d'un carter de filtration sans intervention (Désinfection).
- Arrêt total de l'usine de plus de 24h (CIP 7 étapes).

I.4.2 Validation des paramètres de nettoyage et désinfection:

I.4.2.1 Détergents et Désinfectants utilisés en CIP :

Nestlé waters utilise des produits de nettoyages et désinfections qui sont certifiés et qui répondent parfaitement aux normes qu'elle exige. Voir **tableau 5**

I.4.2.1.1 Détermination de la concentration :

Les méthodes d'analyse décrites dans le tableau ci-dessous sont définies par les fournisseurs des produits de nettoyage et désinfection. Pour les valider, nous avons vérifié les concentrations initialement connues des solutions de nettoyages et désinfections préparées à partir des solutions pures de détergent et désinfectant.

Tableau 5 : Protocole de détermination de la concentration des produits utilisés en CIP

Produits	propriétés	Protocole de détermination de la concentration	Calcul de la concentration
Divosan Osa N	Détergent acide et désinfectant, peu moussant. Utilisé à des concentrations comprises entre 0,6 et 1,7% m/m et à une température qui ne dépasse pas 45°C	<ul style="list-style-type: none"> •Ajouter 2 à 3 gouttes de l'indicateur bleu de bromophenol à 10 ml de la solution à doser •Titrer avec la solution NaOH 0.1N jusqu'au virage au bleu. 	$\%_{\text{Divosan Osa N}} (\text{m/m}) = \frac{V_{\text{NaOH}} (\text{ml})}{V} * 0.31$
Descale	Détergent détartrant acide, peu moussant. Utilisé à des concentrations comprises entre 1 et 6% m/m et à des températures allant de 20 à 120°C	<ul style="list-style-type: none"> •Ajouter 2 à 3 gouttes de l'indicateur Phénolphtaléine à 10 ml de la solution à doser •Titrer avec la solution NaOH 0.1N jusqu'au virage au rose. 	$\%_{\text{Descale}} (\text{m/m}) = \frac{V_{\text{NaOH}} (\text{ml})}{V} * 0.18$
Diverspray	Détergent alcalin peu moussant. Utilisé à des concentrations comprises entre 1.5 et 5% m/m et à des températures allant de 70 à 80°C	<ul style="list-style-type: none"> •Ajouter 2 à 3 gouttes de l'indicateur Phénolphtaléine à 10 ml de la solution à doser. •Titrer avec la solution d'acide chlorhydrique ou sulfurique 0.1 N jusqu'à décoloration. 	$\%_{\text{Diverspray}} (\text{m/m}) = \frac{V_{\text{HCl}} (\text{ml})}{V} * 0.090$
P3-Oxonia	Désinfectant (peroxyacide) légèrement acide. Efficace à froid à des concentrations comprises entre 0,25 et 1 % m/m	<ul style="list-style-type: none"> •Introduire 10 ml de la solution de dans un erlenmeyer de 300 ml, •Y'ajouter 5ml d'acide sulfurique à 25%, un peu d'iodure de potassium (environ 1g) et 1 ml de la solution de molybdate d'ammonium à 3%, •Laisser reposer l'ensemble 1 à 2 minute ; Titrer avec une solution de thiosulfate de sodium N/10 jusqu'à l'obtention d'une coloration légèrement jaune, ajouter 1 ml d'empois d'amidon à 1%, Il se développe une coloration marron foncé. •Continuer le titrage jusqu'à disparition totale de la coloration 	$\%_{\text{P3-Oxonia}} (\text{m/v}) = \frac{V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} (\text{ml})}{V} * 0.064$

I.4.2.1.2 Température :

La station de CIP est munie de deux thermomètres qui indiquent la température des solutions de nettoyage et de désinfection, les valeurs obtenues sont estimées en degré Celsius.

I.4.2.1.3 Vitesse :

La vitesse de la solution de nettoyage et désinfection est calculé par un programme, les valeurs obtenues sont estimées en m/s.

I.4.2.2. Détermination de la concentration des Détergents et Désinfectants utilisés en COP et en nettoyage manuel :

Les méthodes de détermination de la concentration des produits de nettoyage sont décrites dans le tableau 6.

Tableau 6 : Protocole de détermination de la concentration des produits utilisés en COP et en nettoyage manuel.

Produits	Propriétés	Protocole de la détermination de la concentration	Calcul de la concentration
T3- Topax 66	Détergent alcalin chloré désinfectant, moussant Utilisé à des concentrations comprises entre 2 et 3% m/m et à froid	Prendre 50 ml de la solution à doser dans un bécher de 250 ml ; Ajouter une pincée de Thiosulfate de sodium pour masquer le chlore, bien agiter Ajouter 3 gouttes de Phénolphtaléine, agiter, une couleur rose apparaît ; Titrer avec une solution de HCl à 0.5 N jusqu'à la disparition complète de la couleur rose	% P3-topax 66 (m/m) $= V_{HCl} * 0.86$
T3- Topax 56	Détergent acide chloré désinfectant, moussant Utilisé à des concentrations comprises entre 2 et 3% m/m et à froid	Prendre 50 ml de la solution à doser dans un bécher de 250 ml ; Ajouter 3 gouttes de Phénolphtaléine, agiter Titrer avec une solution de NaOH à 1 N jusqu'au virage au rose	% P3-topax 56 (m/m) $= V_{NaOH} * 0.26$

I.4.3 Validation du rinçage finale :

I.4.3.1 Cas du CIP :

I.4.3.1.1 pH :

Le pH est une mesure de l'acidité et l'alcalinité de l'eau, c'est-à-dire de la concentration en ions hydrogène, le pH d'une eau naturelle varie de 4 à 10 en fonction de la nature acide ou basique des terrains traversés (**Rodier et al., 2005**).

Mode opératoire :

- Étalonner le pH-mètre par les solutions tampon (pH=4, pH=7) ;
- Rincer l'électrode par l'eau distillée ;
- Vérifier avec la solution de contrôle certifiée (pH=10) ;
- Plonger l'électrode dans l'échantillon et laisser l'appareil se stabiliser puis noter la valeur du pH.

I.4.3.1.2 Conductivité électrique :

L'eau est légèrement conductrice. La conductivité de l'eau la plus pure obtenue selon **Degremont (1995)** est de 4,2 microsiemens par mètre à 20° C, elle varie selon les sels dissous et la température.

La détermination de la conductivité électrique est directe à l'aide d'un conductimètre.

Mode opératoire :

- Étalonner d'abord le conductimètre avec la solution 1413 (μ S/ cm) ;
- Vérifier avec la solution de contrôle certifiée 500 (μ S/ cm).
- Plonger l'électrode dans l'eau et attendre que la valeur se stabilise pour noter la (Ce) qui s'exprime en micro siemens par centimètre (μ S/ cm).
- L'électrode doit être rincée abondamment avec l'eau distillée après chaque mesure.

I.4.3.1.3 Analyse sensorielle :**❖ Objectif :**

L'analyse sensorielle consiste à étudier d'une manière ordonnée et structurée les propriétés d'un produit afin de pouvoir le décrire, de le classer ou de l'améliorer d'une façon extrêmement objective et rigoureuse. Elle est considérée comme un paramètre de libération de du produit fini. Les qualités sensorielles des produits vont largement contribuer à déterminer l'acceptabilité du produit par le consommateur (**Spinnler, 1998**).

❖ Méthode :

L'analyse est faite par une équipe de panélistes formés par un leader sensoriel sur le site de l'usine, aux quels sont attribuées des fiches de dégustation. La présente procédure se base sur la méthode du test IN/JUST IN/OUT.

- L'analyse sensorielle est un paramètre de libération de la ligne de production après le CIP, COP et le nettoyage manuel. Un panéliste de la production doit faire l'analyse sensorielle de la 1^{ère} et la 12^{ème} bouteille qui sortent de la remplisseuse (ligne C), la 1^{ère} et la 6^{ème} le cas de la ligne D.
- Pour le suivi sensoriel des lignes de production, les panélistes font l'analyse sensorielle des échantillons d'eau de source tout au long de la chaîne de production après un jour (j+1) et après 7 jours (j+7) de leurs prélèvements.

Mode opératoire :

- Ouvrir la bouteille puis verser une quantité d'eau dans le gobelet ;
- Se concentrer, sentir bien l'eau et essayer de détecter si elle contient des odeurs indésirables telles que l'acétaldéhyde, l'odeur des moisissures...etc.
- Goutter cette eau et écrire le résultat de cet échantillon dans sa case spécifique dans la fiche du test de chaque panéliste, en prenant de l'eau de référence (eau déjà libérée) entre chaque test.

Expressions des résultats :

Le leader sensoriel prend les fiches de 6 panélistes et calcule le pourcentage des IN/JUST IN/OUT et donne le résultat final de la libération suivant les règles suivantes:

- Avec une majorité d'IN le produit est globalement IN.
- Avec une majorité de JUST IN le produit est globalement JUST IN.
- Avec une majorité de OUT le produit est globalement OUT.

IN : l'eau ne présente aucune odeur/ goût indésirables

OUT : l'eau présente un goût /odeur indésirables

Just IN : l'eau présente légèrement un goût /odeur indésirables

I.4.3.2 Cas du COP et nettoyage manuel :**I.4.3.2.1 Inspection visuelle:**

L'inspection visuelle est l'une des méthodes les plus simples pour évaluer le résultat de nettoyage.

- Après le nettoyage aucune trace de mousse ne doit être visible sur la remplisseuse.
- Vérifier aussi la présence du tartre à l'intérieur et à l'extérieur de la remplisseuse.

I.4.3.2.2 pH :

Contrôler le pH des zones critiques de la remplisseuse (tête de capsulage, l'étoile de transfert, bec de remplissage, l'intérieur remplisseuse) avec du papier pH. **Figures 7 et 8**



Figure 7 : Rincage final ligne C



Figure 8 : contrôle du pH après le rincage

I.4.3.2.3 Analyse sensorielle :

La procédure est déjà expliquée dans **I.4.3.1.3 Analyse sensorielle** la page 29.

A la fin du nettoyage, des paramètres de libération de la ligne doivent être conformes à fin de donner le feu vert à la production pour démarrer. Voir **tableau 7**

Tableau 7 : Paramètres de libération de la ligne de production après le CIP/COP

Paramètres	Standard
Test Sensoriel In/Out sur 10 bouteilles du démarrage	IN à 100%
pH de 10 bouteilles	$7,6 \leq PH \leq 8,0$
Ec de 10 bouteilles	$410 \leq Ec \leq 504 \mu\text{Sm/cm}$

I.4.4 Validation de la désinfection :

❖ Objectif du contrôle microbiologique :

Selon **Guiraud (1998)** le contrôle microbiologique est indispensable pour :

- Assurer au produit une bonne qualité et une bonne conservation ;
- Garantir la qualité hygiénique et donc la sécurité des consommateurs.

I.4.4.1 Cas du CIP :

I.4.4.1.1 Contrôle microbiologique de l'eau de forage, l'eau tout au long de la chaîne de filtration et l'eau conditionnée:

L'analyse microbiologique d'une eau de source porte sur le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, des coliformes, *Escherichia coli*, des entérocoques intestinaux, des spores d'anaérobies sulfite-réducteurs, des *Pseudomonas aeruginosa* et des levures et moisissures.

Les protocoles d'analyses décrites ci-dessous sont basés sur les mêmes principes des méthodes **ISO** et développés par les **PTC** (Product technology Centre) de Nestlé Waters.

La recherche des germes a été effectuée sur milieu solide par la méthode de filtration.

❖ Méthode de filtration :

Principe :

Cette technique consiste à faire passer un volume d'eau sur des membranes, qui retiennent les bactéries, montées dans un appareil à filtration. Ces membranes sont déposées sur des boîtes de pétri contenant des milieux de cultures sélectifs.

Mode opératoire :

- Mettre en fonction l'appareil à vide ;
 - Flamber la surface supérieure de la rampe de filtration ainsi que les filtres et les entonnoirs.
 - laisser refroidir ;
 - travailler sous une hotte à flux laminaire ;
 - Prendre une membrane millipores (nitrate de cellulose) stérile près du bord à l'aide d'une pince stérilisé (flambé et refroidie) et la déposer ensuite sur le support ;
 - Placer l'entonnoir sur le support et le fixer fermement ;
 - Agiter soigneusement le flacon d'eau à analyser, et verser dans l'entonnoir les volumes requis selon le germe recherché ;
 - Ouvrir le robinet pour laisser l'eau s'écouler lentement sous l'action du vide ;
 - Retirer l'entonnoir, à l'aide d'une pince stérile déposer la membrane filtrante sur un milieu de culture sélectif en évitant la formation des bulles d'air lors du dépôt de la membrane.
 - Inscrire sur la boîte de Pétri le numéro de l'échantillon.
 - L'inversion des boîtes de Pétri empêche la condensation sur les membranes.
- Après la période d'incubation, sortir et ranger les boîtes de Pétri par ordre de numéro d'échantillon.
- L'observation des membranes s'effectue le plus tôt possible après leur sortie de l'incubateur.

I.4.4.1.1 1 Dénombrement de la FAMT :

Le dénombrement se réalise à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychrophile soit à 22°C et ceux franchement mésophiles soit à 37°C.

✓ Dans 1ml d'échantillon par ensemencement en profondeur

Homogénéiser l'échantillon et porter 2 fois 1ml dans deux boites de pétri de 90 mm de diamètre ; Compléter ensuite chacune des boites avec environ 20 ml de gélose Plate Count Agar (PCA) sans glucose fondue puis refroidie à (45±1) °C ;

- Homogénéiser les boites en faisant des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de 8 ;

Laisser solidifier sur pailleasse.

✓ Dans 1 ml d'échantillon par filtration

-Verser 50 ml d'eau distillée stérile dans l'entonnoir, homogénéiser l'échantillon et ajouter 1 ml d'échantillon. Filtrer le contenu sur une membrane stérile de 0,45 µm et la mettre dans une boite de pétri de 55mm de diamètre contenant PCA sans glucose.

***Incubation, Lecture et Dénombrement**

- Les deux premières boîtes sont incubées couvercle en bas respectivement à (22 ± 2) °C pendant 72 heures et à (36 ± 2) °C pendant 48 heures.
- La dernière boîte est incubée à (22 ± 2) °C pendant 72 heures.
- Compter toutes les colonies présentes dans les boîtes de pétri et exprimer le résultat par volume d'échantillon filtré.

I.4.4.1.1.2 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

- Homogénéiser l'échantillon et filtrer 250 ml de cet échantillon sur une membrane stérile de 0,45 µm ;
- Mettre la membrane sur gélose lactosée au tergitol7 et au TTC ;
- Incuber à (36 ± 2) °C pendant 48 heures.
- La lecture se fait après 24 heures et 48 heures.

***Lecture et dénombrement**

- Compter toutes les colonies de chaque type. Les colonies typiques sont de couleur jaune avec un centre orange, parfois rose beige ou brunâtre. Elles sont rondes, plates, granuleuses et parfois très muqueuse.
- Les colonies qui fermentent le lactose sont marquées par un halo jaune

***Isolement**

- Isoler 10 colonies proportionnellement choisies des différents types sur des boîtes de PCA de 90mm.
- Incuber à (36 ± 2) °C pendant 24 heures.

✓ Test oxydase

Il est basé sur la recherche de l'enzyme cytochrome oxydase.

- Avec l'anse en plastique, prélever une colonie ayant bien poussé et isolée ;
- Placer la colonie sur la zone réactionnelle de la bandelette et frotter avec l'anse ;
- En réaction positive la zone réactionnelle se colore de bleu

✓ Test KOH

Il est basé sur la structure Membranaire de la bactérie.

- Mettre une goutte de réactif KOH 3% sur une lame, déposer une colonie et homogénéiser à l'aide d'une anse.
- S'il y a formation d'un filament, le test KOH est positif.
- Les coliformes sont : Oxydase (-), KOH (+)

✓ Confirmation :

- Repiquer à l'aide d'une pipette pasteur dans des tubes contenant le milieu Kligler incliné, la pente en stries serrées et le culot par piqure centrale.

-Incuber à (36±2) °C pendant 24 heures.

- Ensemencer dans des tubes contenant le milieu Tryptophane bien mélanger le milieu et l'inoculum.

-Incuber à (44±1) °C pendant 24 à 48 heures.

- Ensemencer dans des tubes contenant le milieu EC MUG, bien mélanger le milieu et l'inoculum.

-Incuber à (44±1) °C pendant 24 à 48 heures

***Lecture et Expression des résultats :**

-Sont considérés comme coliformes, tout tube présentant un fond jaunâtre.

Glucose +, Lactose ±, Gaz ±, H₂S ±

-Ajouter une goutte du réactif Kovacs. L'anneau rouge indique que la réaction est positive. Les thermotolérants produisant de l'indole à 44°C.

-*Escherichia coli* produit une fluorescence sous lampe UV à 365nm

Les résultats sont exprimés en Nombre d'UFC/250ml

I.4.4.1.1.3 Recherche et dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* :

-Homogénéiser l'échantillon et filtrer 250 ml de cet échantillon sur une membrane stérile de 0,45 µm ;

-Mettre la membrane sur le milieu sélectif CN agar ;

-Incuber à (36±2) °C pendant 48 heures. La lecture se fait après 24 heures et 48 heures.

***Isolement**

-Isoler 5 colonies proportionnellement choisies des différents types sur des boîtes de PCA de 90mm. Incuber à (36±2) °C pendant 24 heures.

***Lecture et dénombrement**

Compter les colonies caractéristiques qui sont peu colorées ou de couleur beige, marron rougeâtre, bleu vert ou jaune et fluorescentes sous lampe UV (365nm).

***Isolement, identification et expression des résultats**

- ✓ Les colonies bleues vertes sont considérées comme *Pseudomonas aeruginosa* confirmées. Et Les colonies fluorescentes font l'objet d'un isolement sur PCA

-Incubation à (36±2) °C pendant 24 heures.

-Une inoculation dans des tubes contenant l'acétamide Broth et incubation à (36±2) °C pendant 24 heures.

-Sont considérés comme positifs, les tubes présentant une couleur jaune après l'ajout du réactif de Nessler sur l'acétamide Broth pour la détection d'ammoniac

- ✓ Les colonies brunes rougeâtres sont isolées sur PCA

- Test oxydase : *Pseudomonas aeruginosa* sont oxydase + ; ensemencement sur l'acétamide broth ; Un repiquage par stries en surface dans des tubes contenant le milieu King b et incubation à (36±2) °C pendant 24 heures.

-Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois une fluorescence sous lampe UV, sur milieu King b, et coloration jaune après l'ajout du réactif de Nessler sur l'acétamide Broth. Les résultats sont exprimés en Nombre d'UFC/250ml

I.4.4.1.1.4 Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux :

Homogénéiser l'échantillon et filtrer 250 ml de cet échantillon sur une membrane stérile de 0,45 µm ;

-Mettre la membrane sur le milieu Slanetz et Bartley ;

-Incuber à (36±2) °C pendant 48 heures.

-La lecture se fait après 24 heures et 48 heures.

***Isolement :**

Si les colonies sont rouges marrons, transférer la membrane sur le milieu sélectif BEAA (Bile Esculine Azide Agar) préchauffé pendant 1h à (44±1) °C.

-Incuber à (44±1) °C pendant 2 heures.

***Lecture :** Les colonies caractéristiques présentent un halo noir.

***Confirmation et expression des résultats**

- ✓ Test catalase :

-Sur une lame, déposer une goutte de H₂O₂, puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée avec une anse.

-Observer immédiatement.

-S'il y'a formation de bulles, dues à un dégagement de dioxygène (effervescence), la bactérie possède la catalase.

-Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme, c'est le cas des entérocoques intestinaux.

Les résultats sont exprimés en Nombre d'UFC/250ml

I.4.4.1.1.5 Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

-Homogénéiser l'échantillon et filtrer 250 ml de cet échantillon sur une membrane stérile de 0,45 μm ;

-Mettre la membrane sur le milieu sélectif OGA;

-Incuber à (22 ± 2) °C pendant 4 jours.

***Lecture et expression des résultats**

-Les levures présentent des colonies de contour bien défini, de couleur beige-rosé à bleu-vert, pouvant apparaître en relief (" 3D ") et sans centre de couleur intense.

-Les moisissures présentent des colonies larges, le thalle aux contours diffus, de couleur variable, plates, avec un centre présentant normalement une coloration intense.

-Compter à part toutes les levures et moisissures. Les résultats sont exprimés en Nombre d'UFC/250ml

I.4.4.1.1.6 Recherche et dénombrement des anaérobies sulfito-réducteur :

✓ Préparation d'échantillon et filtration

-Homogénéiser l'échantillon et prélever 50 ml de cet échantillon.

-Destruction de la forme végétative en déposant l'échantillon dans un bain marie à (75 ± 5) °C pendant 15 min ;

-Provoquer la germination des spores par un choc thermique en déposant l'échantillon sous l'eau de robinet; Filtrer l'échantillon à travers une membrane stérile de 0.20 μm ;

-Mettre la membrane sur milieu TSC.

-Incuber à (37 ± 1) °C pendant (20 ± 4) heures à (44 ± 4) heures dans des conditions d'anaérobiose en utilisant une jarre contenant un générateur d'anaérobiose et un indicateur d'anaérobiose.

***Lecture, dénombrement**

-Compter les colonies typiques noires entourées d'un halo noir qui sont considérées comme ASR confirmés. Les colonies beiges doivent subir un test de confirmation

***Confirmation et expression des résultats**

- Faire un isolement parallèle sur TSC en conditions d'aérobie et d'anaérobie.
- Incuber à (37 ± 1) °C pendant (20 ± 4) heures.

✓ Test catalase

- S'il y'a formation de bulles, dues à un dégagement de dioxygène (effervescence) la bactérie possède la catalase.
- Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme, c'est le cas des ASR.
- Les résultats sont exprimés en Nombre d'UFC/50ml

I.4.4.2 Cas du COP et nettoyage manuel :**❖ Contrôle de l'ambiance et des surfaces :**

L'ambiance et les surfaces des zones à haute hygiène (remplisseuse) ont un impact sur la qualité du produit fini car ils sont en contact direct. Leur qualité microbiologique est primordiale dans le secteur agroalimentaire c'est pour cela le contrôle microbiologique est indispensable à ce niveau.

I.4.4.2.1 Contrôle des ambiances :

Le bio collecteur micro-flow a été développé pour le contrôle du niveau de bio-contamination de l'air dans les endroits critiques. Il permet donc le prélèvement d'un éventail de ces bio-contaminants aéroportés en effectuant des géloses standard d'agar. Le bio collecteur Micro-Flow est principalement utilisé pour la détermination de la teneur en levures moisissures.

➤ Principe :

L'air prélevé passe à travers la tête perforée, à une vitesse constante et pendant une période déterminée par l'utilisateur. L'air passe ensuite sur la boîte de pétri remplie d'une gélose spécifique. A la fin de période de prélèvement la boîte de pétri est enlevée et placée dans un incubateur. A la fin de l'incubation il sera possible de compter les colonies sur la boîte (UFC/cm²) et d'évaluer le niveau de bio-contamination d'air du secteur analysé sur la base du volume d'air prélevé.

➤ Mode opératoire:

- Avant de démarrer le prélèvement, le Micro-Flow doit être désinfecté ;
- Régler le débit absorbé de l'appareil à 120 L par minute, à raison de 500L / 4 min et 10 sec ;
- Poser la boîte pétri qui contient le milieu selectif OGA à son endroit spécifique;

- Poser le Micro-Flow dans la place qu'on veut analyser (remplisseuse) ; activer-le avec sa télécommande. Voir **figure 9**. Incuber à 22°C pendant 4 jours.

Expression des résultats : C'est le nombre UFC de levures et ou moisissure /cm² / 500 litres d'air.



Figure 9 : Contrôle d'ambiance à l'intérieur de la remplisseuse C

I.4.4.2.2 Contrôle des surfaces:

Les germes recherchés sont les coliformes et *Pseudomonas aeruginosa*.

❖ Test d'écouvillonnage :

Principe : Il présente l'avantage de permettre des prélèvements dans des endroits peu accessibles aussi bien sur les surfaces planes que bombées. Elle est intéressante pour rechercher les « nids microbiens » pouvant se former dans des coins ou des cavités.

Nous avons effectué ce test au niveau de la remplisseuse (Intérieur remplisseuse, bec de remplissage, la bouchonneuse et l'étoile de transfert).

Mode opératoire :

- Vider et arrêter la remplisseuse.
- Désinfecter les mains;
- Porter un masque et ouvrir la porte de la remplisseuse ;
- Procéder au prélèvement ;
- Au moment du prélèvement, plonger l'extrémité de l'écouvillon dans une solution stérile pour l'humidifier (eau distillée, eau peptonée tamponnée, TSE)
- Rouler doucement l'écouvillon sur la surface à contrôler ;
- Mettre l'écouvillon dans un tube à essai stérile contenant 10 ml du TSE ;
- Agiter l'écouvillon dans la solution afin de disperser les microorganismes ;
- Procéder à la filtration du liquide d'essorage.

➤ **Recherche et dénombrement des coliformes totaux ; fécaux et *Escherichia coli*:**

- Homogénéiser et filtrer 5ml de l'échantillon sur une membrane de 0.45µm ;
- Mettre la membrane sur le milieu sélectif gélose lactosée au Tergitol et au TTC ;
- Incuber à (36±2) °C pendant 48 heures ;
- La lecture se fait après 24heures et 48heures. L'étape de l'isolement et identification est la même citée dans la recherche et dénombrement de coliformes pour l'eau de source.

Expression des résultats :

Le nombre d'UFC /10 cm².

➤ **Recherche et dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* :**

- Homogénéiser et filtrer 5ml de l'échantillon sur une membrane stérile de 0.45µm ;
- Mettre la membrane sur le milieu sélectif CN agar ;
- Incuber à (36±2) pendant 48 heures ;
- La lecture se fait après 24 heures à 48heures.

L'étape de l'isolement, identification et confirmation est la même que celle citée dans la recherche et dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* pour l'eau de source.

Expression des résultats :

Le nombre d'UFC /10 cm².

Résultats & Discussion

II.1 Audit sur les prérequis de la validation :

La station du CIP de Nestlé Waters Algérie est une station d'utilisation unique elle tire son nom du fait qu'elle utilise les solutions de nettoyage qu'une seule fois.

-Le CIP est de type semi-automatique. Il se déroule sous l'œil vigilant des agents de CIP consciencieux de l'importance de cette opération.

-Tous les équipements installés sont conformes et répondent aux critères de conception hygiénique en allant des forages jusqu'aux remplisseuses. Les canalisations doivent être de qualité alimentaire, non absorbants et résistants au produit et de nettoyage en place (**Curiel et al., 1993**).

-Nous avons noté une absence de bras mort, toutes les surfaces internes des équipements sont accessibles à la solution de nettoyage.

-Les équipements et la tuyauterie ont la propriété d'auto vidange.

✓ **Calibration des instruments de mesure** : Tout le matériel utilisé au laboratoire, à la production et à la station de CIP est calibré chaque jour en interne pour certains appareils (pH mètre, conductimètre) et chaque année pour d'autres (Thermomètres et sondes de conductimètre de la station de CIP, étuves, réfrigérateur, microflow analyseur d'air..) par des organismes spécialisés.

✓ **Validation des méthodes d'analyse** : le PTC (Product Technology Center) de Nestlé Waters organise un test de performance 2 fois /an pour évaluer l'équipe de laboratoire de microbiologie et de physicochimie. Le laboratoire de NWA a toujours obtenu de très bons résultats.

Le PTC fait aussi des formations et des audits de laboratoire pour vérifier l'application des GLP et des LI.

En vue de valider les méthodes d'analyse de la détermination des concentrations des agents nettoyants nous avons préparés des solutions de nettoyage et désinfections à des concentrations connues et les vérifié avec les protocoles analytiques définis par les fournisseurs. Les résultats sont représentés sur le **tableau 8**.

Tableau 8 : Résultats de la validation des protocoles analytiques de la détermination de la concentration des produits de nettoyage et de désinfection.

Produit de de nettoyage et de désinfection	Concentration des solutions préparées de nettoyage et de désinfection dans 1 L d'eau (m/m)			
	0,50%	1%	2%	3%
	Vérification de ces concentrations			
Divosan Osa N	0,51	0,98	2,01	2,89
Diverspray	0,49	1,02	2	3,02
Descale	0,52	1	2,04	2,9
P3 Oxonia	0,51	1,05	1,98	3,02
Topax 55	0,5	1,03	2	2,97
Topax 66	0,47	0,96	1,98	2,9

Le tableau ci-dessus ne montre pas des différences significatives entre les concentrations des solutions préparées et les résultats obtenues après vérification en suivant les protocoles analytiques.

Selon **Bailly (2004)** la validation de ces méthodes a pour but de fiabiliser les résultats d'analyse et de démontrer qu'elle est appropriée à l'usage auquel elle est destinée.

✓ **Procédure de nettoyage** : Un audit sur le terrain auprès des opérateurs révèle de réelles différences quant à l'application des procédures, le cas du COP automatique et nettoyage manuel. Ces procédures nécessitent d'être complétées et précisées. Les temps de nettoyage, et les concentrations de solvants utilisées ne sont pas précisés.

La validation du nettoyage doit être appliquée sur des procédures existantes. La finalité de la validation est de montrer et prouver que le nettoyage est suffisant et efficace.

L'ultime but de ces procédures est d'assurer la reproductibilité quel que soit la personne réalisant le nettoyage (**Bailly, 2004**).

✓ **Formation du personnel** : L'équipe de l'assurance qualité et de la production ont eu une formation sur l'hygiène générale par le Directeur de Développement de l'Afrique Francophone (Johnson Diversey) le fournisseur des produits de nettoyage et désinfection.

-Nous avons fait une formation pour les agents de nettoyage sur les notions de base de la validation du nettoyage et son importance vis-à-vis la qualité du produit fini et la sécurité alimentaire du consommateur. La formation a été suivie d'une évaluation à chaud.

II.2 Validation du CIP :

II.2.1 Résultats et discussion de la validation du CIP effectué le 21 & 25/01 et 03/02/2012 :

II.2.1.1 Paramètres du nettoyage et de désinfection :

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage et de désinfection de trois cycles successifs de CIP effectués le 21 & 25/01 et 03/02/2012 avec le même détergent sont illustrés dans les tableaux 9. (Ces résultats représentent la moyenne de trois cycles)

Tableau 9 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection du CIP effectué le 21 & 25/01 et 03/02/2012

Zone	Vitesse (m/s)	Température (°C)	Temps de contact	Concentration m/m	Nom et nature du produit
Liaison Forage F1	1,9	46,3	20 mn	1,69	Divosan Osa-N détergent acide / désinfectant
Prétraitement F1 & cuve 820	1,7	45,7		1,66	
Liaison Forage F2	2,6	44,8		1,63	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,7	44,9		1,55	
Remplisseuse C	1,5	45,1		1,5	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	45 °C	20 mn	1.5±0.2	
Liaison Forage F1	1,91	80	30 mn	-	Eau chaude
Prétraitement F1 & cuve 820	1,6	81			
Liaison Forage F2	2,5	81.5			
Prétraitement F2 & cuve 810	1,65	80			
Remplisseuse C	1,5	80.5			
Remplisseuse D	1.23	80			
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	80±1 °C	30 mn		

Un CIP acide a été effectué le 21, 25/01 et 03/02/2012 sur tous les équipements en allant des liaisons des deux forages jusqu'aux remplisseuses C et D. Les 4 paramètres des étapes clés du CIP sont illustrés dans le **tableau 9**.

- Le produit utilisé est le Divosan osa N. Sa fiche technique et son SDS sont en **annexe 08**

➤ La vitesse de la solution de nettoyage varie d'une zone à l'autre selon le débit qui dépend du diamètre de la tuyauterie. La vitesse est supérieure à 1.5 m/s pour les liaisons des deux forages et les prétraitements, elle est de 1.5 m/s pour et la remplisseuse C. de ce fait elle est conforme dans toutes les zones nettoyées et désinfectées, sauf pour la ligne D. Sa vitesse est 1.23m/s, ce qui inférieur à la norme définie. Cette non-conformité ne risque pas de diminuer l'efficacité de nettoyage et de désinfection puisqu'il y'a absence de bras mort.

D'après **Bakarić (2004)**, la vitesse des solutions de nettoyage ne doit pas être inférieure à 1,50 m / s, et cela est indépendant du diamètre du tuyau. Cependant le débit volumétrique augmentera avec le diamètre du tuyau. C'est seulement avec une vitesse de 1.5 m/s qu'il y'a une turbulence suffisante dans les bras morts pour éliminer les souillures.

Une augmentation de la vitesse d'écoulement de plus de 1,5 m /s ne donne pas des avantages substantiels en termes de temps de nettoyage (**Kessler et Lund, 1989**).

➤ Le temps de contact recommandé par le fournisseur des produits de nettoyage et définie par la SOP (Standard Operating Procedure) est respecté.

Selon **Bakarić (2004)**, le temps de nettoyage optimal pour chaque application ne peut être déterminé qu'au cours des essais en usine, mais doit être constamment surveillée et validée.

- Un temps de nettoyage trop court peut entraîner une canalisation mal nettoyée.
- Un temps trop long va produire des retards excessifs et donc d'augmenter le temps d'arrêt.

➤ La concentration du détergent/désinfectant est conforme pour tous les cycles de CIP effectués. Elle diminue d'une zone à l'autre. un phénomène de dilution s'est produit à cause de la présence d'eau dans le circuit. L'opérateur doit être très vigilant face à ce phénomène, et doit corriger la concentration en cas où la dilution est importante. Il est recommandé de déterminer de la concentration de la solution de nettoyage par deux personnes différentes et refaire l'analyse deux fois.

Selon **Kessler et Lund (1989)**, une augmentation de la concentration des produits chimiques n'augmente pas nécessairement l'efficacité du nettoyage. Il y'a une concentration optimale, au-dessus de laquelle l'efficacité du nettoyage diminue et augmente le temps de nettoyage. Il augmente par contre le temps de rinçage.

➤ La température de la solution de nettoyage et de la désinfection est respectée pour les 3 cycles de CIP. Le choix de la température doit toujours être fait à l'égard des conditions de travail, la nature des dépôts et des solutions de nettoyage utilisées. Après plusieurs essais effectués au niveau de l'usine, une température de 45°C est jugée la plus adéquate pour un nettoyage efficace.

Les basses températures des solutions de nettoyage (40°C à 50°C) minimisent l'usure des équipements et réduit aussi considérablement les pertes de chaleur. Toutefois, la prolongation du temps nécessaire pour obtenir des résultats équivalents, est généralement plus coûteuse que le fonctionnement à des températures plus élevées (Bakarić, 2004).

Selon Curiel et al (1993), la température influe sur l'efficacité du détergent, et la température optimale pour le CIP est déterminé par les tâches de nettoyage et les détergents utilisés.

➤ En augmentant le temps de contact (30min) et la température (80°C), la désinfection par l'eau chaude renforce l'effet désinfectant du produit chimique. Les résultats révèlent une conformité de tous les paramètres dans toutes les zones désinfectées.

La désinfection à l'eau chaude peut être un processus comparativement lent, l'équipement a besoin de cycles de chauffage et de refroidissement en plus de la période de l'activité.

L'eau chaude peut mener à la formation des films et la fixation des souillures restantes et elle peut diminuer la durée de vie d'équipement. Bien que non corrosif, l'expansion thermique peut soumettre l'équipement à un stress (Bakarić, 2004).

II.2.1.2 Rinçage final :

Les résultats de la validation du rinçage final de trois cycles successifs de CIP effectués le 21 & 25/01 et 03/02/2012 sont illustrés respectivement dans le tableau 10.

Tableau 10 : Résultats de la validation du rinçage final du CIP effectué le 21 & 25/01 et 03/02/2012

Zone	pH	C _e (µS/cm)	Analyse sensorielle	Temps	Analyse sensorielle j+1	Analyse sensorielle j+7
Après Filtres 1µ (F1)	7.84	455	IN	1 h	IN	IN
Cuve 820	7.85	456	IN		IN	IN
Après Filtres 1µ (F2)	7.87	435	IN		IN	IN
Cuve 810	7.87	437	IN		IN	IN
Après Filtration finale de la ligne C	7.85	435	IN		IN	IN
Produit Fini C	7.86	436	IN		IN	IN
Produit fini D	7.84	436	IN		IN	IN
Normes Nestlé Waters	7.6<pH <8	410<Ce<504	IN	*Non déterminé	IN	IN

*Le rinçage n'a pas une durée déterminée (minimum 20 mn), il dépend du pH, Conductivité électrique (C_e) et de l'analyse sensorielle.

IN : le produit ne présente aucune odeur et aucun goût indésirable

Le rinçage est la dernière étape clé du CIP, il se fait avec une eau de la même qualité que l'eau à embouteiller. L'eau de rinçage final est donc contrôlée par son potentiel d'hydrogène, sa conductivité électrique et ses propriétés organoleptiques.

Les résultats illustrés dans les tableaux ci-dessus montrent une stabilité des valeurs de pH et de Conductivité de l'eau de rinçage final.

D'après l'historique des analyses physicochimiques de l'eau de source Nestlé Vie Pure, la variation de pH est très faible. Elle se rapproche de la neutralité pour l'eau de forage car le pH des eaux naturelles est lié à la nature des terrains traversés, le pH varie de 7.84 à 7.87. Pour la conductivité électrique on remarque qu'il y'a deux valeurs différentes 455 et 435. Les deux forages n'ont pas la même valeur de la conductivité ce qui explique cette différence.

L'analyse sensorielle de l'eau de rinçage final des différentes zones nettoyées et désinfectées ne révèle aucune odeur indésirable relative à l'utilisation de détergent/désinfectant. Le produit fini même après j+1 et j+7 ne présente pas un goût ou une odeur indésirable.

La conformité des résultats d'analyses physicochimique et sensorielle nous permet de dire que le rinçage a été bien fait.

II.2.1.3 Désinfection :

Les résultats de la validation de la désinfection de trois cycles successifs de CIP effectués le 21, 25/01 et 03/02/2012 sont illustrés respectivement dans les tableaux **11,12 et 13**

Tableau 11 : Résultats de la Validation de la désinfection du CIP effectué le 21/01/12

FAMT	Forage F1	Après filtre 1 μ	Forage F2	Après filtre 1 μ	Après filtration finale C	Produit fini C	Après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	9	–	5	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	2	–	3	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	8	10	6	4	–	–	–	–	–
	5	12	7	2					
	9	14	5	3					

Tableau 12 : Résultats de la Validation de la désinfection du CIP effectué le 25/01/12

FAMT	Forage F1	Après filtre 1 μ	Forage F2	Après filtre 1 μ	Après filtration finale C	Produit fini C	Après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	12	–	9	–	0	0	0	1	100 UFC
1ml/36 °C	3	–	4	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	11	5	8	6	–	–	–	–	–
	9	4	12	7					
	10	5	10	4					
	7	5	9	5					
	9	6	11	6					
	11	8	8	6					
	10	7	7	8					

Tableau 13 : Résultats de la Validation de la désinfection du CIP effectué le 03/02/12

FAMT	Forage F1	Après filtre 1 μ	Forage F2	Après filtre 1 μ	Après filtration finale C	Produit fini C	Après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	12	–	9	–	0	1	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	4	–	3	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	11	5	10	4	–	–	–	–	–
	12	6	8	5					
	10	6	9	2					

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de source de son émergence à son embouteillage révèlent une absence totale des germes pathogènes, des indicateurs de contamination fécale et des levures et moisissures dans tous les échantillons analysés.

Nous pouvons déduire que cette eau est naturellement protégée et exempte de toutes contaminations (pureté originale) donc elle répond aux normes de qualité des eaux de sources définies par le JORA. Les deux forages sont parfaitement protégés par des périmètres de protection.

Selon **Desjardin (1997)**, la contamination bactérienne des eaux souterraines est très faible, le long séjour dans le sol et la filtration naturelle ne favorisent pas le développement des bactéries.

Puisqu'il y'a absence de germes pathogènes dans tous les échantillons analysés, nous avons mentionné que les résultats de la recherche de la FAMT, c'est à partir de ces résultats que le CIP est planifié.

Nestlé Waters exige la recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale à 22°C dans 1 ml après les filtres de 1 µ et après la filtration finale et le dans le produit fini. Ces analyses ont pour objectif de vérifier l'état des conduites, planifier le programme de CIP ainsi que contrôler et éliminer les biofilms pour préserver la qualité microbiologique de l'eau de source.

D'après les résultats obtenus, les forages sont caractérisés par une charge faible de la FAMT. Selon le **tableau 11**, on remarque que la flore totale a augmenté par rapport aux résultats du forage Après la filtration 1 µ (relative à F1). Après investigation, il a été révélé que la date de changement de filtre a été dépassée. Les **tableaux 12** et **13** montrent une diminution de la flore totale par rapport au forage ce qui prouve l'efficacité du filtre. Le contrôle microbiologiques après les 3 cycles de CIP montre une diminution de la flore totale après la filtration 1 µ (relative à F2) par rapport au forage ce qui prouve l'efficacité de la filtration mais aussi l'efficacité du nettoyage et de la désinfection chimique et thermique.

Une absence total de la FAMT après filtration finale des deux lignes de production, la désinfection effectuée était efficace, il n'y'a pas eu de formation de biofilm dans la tuyauterie (de la salle de traitement jusqu'à la filtration finale).

La recherche et le dénombrement de la FAMT dans le produit fini des deux lignes de production C&D révèlent la présence d'une UFC/1ml à 22°C. Ce qui reste conforme à la norme définie par le journal officiel algérien (100 UFC/1 ml à 22°C). La qualité microbiologique du produit fini est le résultat de l'efficacité de CIP, le respect des règles d'hygiène sans oublier la qualité de la matière première (préformes, bouchon). De ce fait, Nestlé Waters Algérie impose des exigences très poussées tant du point de vue de la qualité microbiologique des matières premières que du choix des fournisseurs. A cet effet, des spécifications et des exigences s'imposent aux fournisseurs concernant les certificats de contrôle exigés. De plus, chaque matière première réceptionnée est soumise à un nouveau contrôle physique, microbiologique et sensoriel.

II.2.2 Résultats et discussion de la validation du CIP effectué le 10/02, 02 & 16/03/2012 :

II.2.2.1 Paramètres du nettoyage et de désinfection :

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage et de désinfection de trois cycles de CIP. Un CIP alcalin effectué le 10/02 et 16/03/2012 et un CIP 7étapes effectué le 02/03/2012. Les résultats sont illustrés dans le tableau **14**.

Tableau 14 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection du CIP effectué le 10/02 et 02/03/12

Zone	Vitesse (m/s)	Température (°C)	Temps de contact	Concentration m/m	Nom et nature du produit
Liaison Forage F1	1.86	80	20 mn	2.15	Diverspray détergent alcalin
Prétraitement F1 & cuve 820	1.51	79.9		2.12	
Liaison Forage F2	2.39	80		2.15	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,52	80		2.12	
Remplisseuse C	1.5	79.6		2	
Remplisseuse D	1.22	79.7		2	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	75±5 °C	20 mn	2%±0.5	
Liaison Forage F1	1,95	80	30 mn	-	Eau chaude
Prétraitement F1 & cuve 820	1,52	81.1			
Liaison Forage F2	2,64	80			
Prétraitement F2 & cuve 810	1,51	80.5			
Remplisseuse C	1,5	80.4			
Remplisseuse D	1,23	81			
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	80±1 °C	20 mn		

D'après les résultats obtenus lors du CIP acide et les résultats présentés ci-dessus, la vitesse des solutions de nettoyage de chaque zone est constante. Elle est conforme à la norme fixée sauf pour la ligne D, le débit de cette dernière est faible. De ce fait, cette zone risque toujours d'être mal nettoyée.

Le nettoyage alcalin avec le diverspray nécessite une haute température (70° à 80°) pour qu'il soit efficace. Les températures et le temps de contact de la solution de nettoyage sont enregistrés sur l'ordinateur de la station de CIP, elles sont conformes aux valeurs fixées par la SOP. La température varie de 79.6 à 80 °C et le temps de contact de la solution de nettoyage avec les zones nettoyées est fixé à 20 mn.

La concentration du détergent est conforme pour les deux cycles de CIP effectués. Elle varie de 2.15 à 2 % m/m.

Concernant la désinfection à l'eau chaude, une conformité de vitesse, de temps et de la température a été observée. Les paramètres ont été validés auparavant. Le tableau ci-dessus confirme les résultats obtenus.

Tableau 15 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection du CIP effectué le 16/03/12

Zone	Vitesse (m/s)	Température (°C)	Temps de contact	Concentration m/m	Nom et nature du produit
Liaison Forage F1	1.93	80	20 mn	2.18	Diverspray détergent alcalin
Prétraitement F1 & cuve 820	1.51	79.8		2.15	
Liaison Forage F2	2.4	80.2		2.18	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,5	80.1		2.18	
Remplisseuse C	1.5	80		2.08	
Remplisseuse D	1.22	79.8		2	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	75±5 °C	20 mn	2%±0.5	
Liaison Forage F1	1.8	70	20 mn	2.28	Descalé détergent acide
Prétraitement F1 & cuve 820	1.5	70		2.28	
Liaison Forage F2	2.3	69.6		2.15	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,51	70		2.15	
Remplisseuse C	1.5	70.3		2.09	
Remplisseuse D	1.23	70.7		2.03	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	65± 5°C	20 mn	2%±0.5	
Liaison Forage F1	1.91	Ambiante	20 mn	1,02	P3 Oxonia Désinfectant
Prétraitement F1 & cuve 820	1.52			1.1	
Liaison Forage F2	2.3			0.97	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,51			0.9	
Remplisseuse C	1.5			0.87	
Remplisseuse D	1.25			1	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	Ambiante	20 mn	1%±0.2 m/v	

Le tableau 15 montre les résultats obtenus lors de CIP 7 étapes qui commence par un nettoyage alcalin suivi par un nettoyage acide et terminé par une désinfection chimique.

Les deux premières phases révèlent une conformité des paramètres contrôlés (vitesse, température, temps et concentration).

La température fixée par la SOP est de $65 \pm 5^\circ\text{C}$, les résultats obtenus sont conformes et varient de 69.6 à 70.7°C .

La concentration du détergent est conforme et varie de 2.28 à 2.03% m/m. on remarque toujours la présence de phénomène de dilution.

La 3^{ème} phase représente la désinfection, le désinfectant utilisé est le P3-Oxonia ses molécules actives sont l'acide péracétique et le H_2O_2 .

Les résultats de la détermination de la concentration révèlent une conformité vis-à-vis la norme fixée par la SOP qui est de $1\% \pm 0.2$ m/v.

La désinfection chimique est un processus rapide, il se fait à froid par rapport à l'eau chaude qui est un processus lent, l'équipement a besoin de cycles de chauffage et de refroidissement en plus de la période de l'activité.

II.2.2.2 Rinçage final :

Les résultats de la validation du rinçage final de trois cycles de CIP effectué le 10/02, 02 & 16/03/2012 sont illustrés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Résultats de la validation du rinçage final de CIP effectué le 10/02, 02 & 16/03/2012

Zone	pH	Ce ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Analyse sensorielle	Temps	Analyse sensorielle j+1	Analyse sensorielle j+7
Après Filtre 1μ (F1)	7.87	455	IN	40mn	IN	IN
Cuve 820	7.85	453	IN		IN	IN
Après Filtre 1μ (F2)	7.84	435	IN		IN	IN
Cuve 810	7.86	436	IN		IN	IN
Après Filtration finale de la ligne C	7.85	453	IN		IN	IN
Produit Fini C	7.88	434	IN		IN	IN
Après Filtration finale de la ligne D	7.85	455	IN		IN	IN
Produit Fini D	7.8	456	IN		IN	IN
Normes Nestlé Waters	$7.6 < \text{pH} < 8$	$410 < \text{Ce} < 504$	IN	*Non déterminé	IN	IN

Les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus montrent une stabilité des valeurs de pH et de Conductivité de l'eau de rinçage final.

Le pH est proche de la neutralité, il varie de 7.8 à 7.87. Pour la conductivité électrique les valeurs varient de 435 à 456.

L'analyse sensorielle de l'eau de rinçage final des différentes zones nettoyées et désinfectées ne révèle aucune odeur indésirable relative à l'utilisation de détergents et désinfectant. Le produit fini même après j+1 et j+7 ne présente pas un goût ou une odeur indésirable.

La conformité des résultats d'analyses physicochimique et sensorielle nous permet de dire que le rinçage a été bien fait pour les 3 cycles de CIP effectués.

II.2.2.3 Désinfection :

Les résultats de la validation de la désinfection de trois cycles de CIP effectué le 10/02, 02 et 16/03/2012 sont illustrés respectivement dans les tableaux 17,18 et 19.

Tableau 17 : Résultats de la Validation de la désinfection du CIP effectué le 10/02/12

FAMT	Forage F1	Après filtre 1 μ	Forage F2	Après filtre 1 μ	Après filtration finale C	Produit fini C	Après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	11	–	8	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	2	–	2	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	12	5	7	4	–	–	–	–	–
	10	4	9	5					
	11	7	5	8					
	10	10	10	12					

Tableau 18 : Résultats de la Validation de la désinfection du CIP effectué le 02/03/12

FAMT	forage F1	après filtre 1 μ	forage F2	après filtre 1 μ	après filtration finale C	produit fini C	après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	13	–	9	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	4	–	1	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	14	5	7	3	–	–	–	–	–
	10	6	12	5					
	12	2	10	4					
	11	5	3	7					
	9	8	8	9					
	10	12	10	12					
	7	14	9	7					

Tableau 19 : Résultats de la Validation de la désinfection du CIP effectué le 16/03/13

FAMT	forage F1	après filtre 1 μ	forage F2	après filtre 1 μ	après filtration finale C	produit fini C	après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	8	–	10	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	4	–	2	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	10	4	9	3	–	–	–	–	–
	8	5	5	2					
	6	3	10	5					
	11	6	12	7					
	4	4	9	9					
	2	9	5	11					
	9	11	10	14					

Les tableaux ci-dessus représentent les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de source de son émergence à son embouteillage après deux CIP alcalin et un CIP 7 étapes.

Pour évaluer l'efficacité de nettoyage et de la désinfection nous nous sommes basé sur les résultats de la FAMT dans les différentes zones traitées et on les compare avec celle des forages. On remarque qu'il y'a toujours une augmentation de la flore mésophile aérobie totale 3 jours après le nettoyage et de la désinfection. Et cela après la filtration 1 μ des deux forages. Les filtres fonctionnent bien d'après le Test d'intégrité (test qui permet de vérifier l'efficacité du filtre). Les résultats de la validation des paramètres de la désinfection révèlent une conformité vis-à-vis les normes fixés par la SOP, plus précisément la concentration du désinfectant a été bien conforme aussi. Cela veut dire que le problème réside au niveau du nettoyage, les liaisons des deux forages ont été mal nettoyées.

Selon **Bouix et Leveau (1999)**, Le nettoyage et la désinfection sont deux opérations complémentaires, il n'y a pas de bonne désinfection sans nettoyage préalable « on ne désinfecte que du propre ». Comme action corrective, il a été décidé d'augmenter la concentration du détergent utilisé de 2 à 3% m/m et procéder de nouveau la validation.

Une absence total de la FAMT après filtration finale et dans le produit fini des deux lignes, il n'y'a pas eu de formation de biofilm dans la canalisation (de la salle de traitement jusqu'à la filtration finale). On peut dire que le CIP a été efficace à ce niveau.

II.2.3 Résultats et discussion de la validation du CIP effectué le 01, 11 & 18/05/2012 :

II.2.3.1 Paramètres du nettoyage et de désinfection :

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage et de désinfection de trois cycles de CIP effectué le 01, 11 & 18/05/2012 sont illustrés dans le tableau 20.

Tableau 20 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection du CIP effectué le 01, 11 & 18/05/12

Zone	Vitesse (m/s)	Température (°C)	Temps de contact	Concentration m/m	Nom et nature du produit
Liaison Forage F1	1.9	80	20 mn	3.15	Diverspray détergent alcalin
Prétraitement F1 & cuve 820	1.51	80		3.10	
Liaison Forage F2	2.3	79.8		3.19	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,5	80		3	
Remplisseuse C	1.5	80.1		3.12	
Remplisseuse D	1.21	79.6		3	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	75±5 °C	20 mn	3%±0.3	
Liaison Forage F1	1.85	Ambiante	20 mn	1.18	P3 Oxonia Désinfectant
Prétraitement F1 & cuve 820	1.5			1.16	
Liaison Forage F2	2.27			1.18	
Prétraitement F2 & cuve 810	1,52			1.16	
Remplisseuse C	1.5			1.10	
Remplisseuse D	1.22			1.10	
Normes Nestlé Waters	1.5 m/s	Ambiante	20 mn	1%±0.2	

Le tableau 20 montre les résultats de la validation de trois cycles de CIP alcalin. Ce dernier devait être revalidé puisque la concentration du détergent a été augmentée de 2 à 3% m/m.

La vitesse, le temps et la température sont bien conformes, aucun changement n'a été effectué à leurs niveaux. Concernant la concentration du détergent elle varie de 3.19 à 3%. Toutes ces valeurs sont conformes à la nouvelle valeur fixée.

Concernant la désinfection, tous les paramètres contrôlés sont en accord avec les normes définies par Nestlé waters.

II.2.3.2 Rinçage final :

Les résultats de la validation du rinçage final de trois cycles de CIP effectué le 01, 11 & 18/05/2012 sont illustrés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Résultats de la validation du rinçage final du CIP effectué le 01, 11 & 18/05/2012

Zone	pH	Ce ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Analyse sensorielle	Temps	Analyse sensorielle j+1	Analyse sensorielle j+7
Après Filtre 1 μ (F1)	7.85	453	IN	40mn	IN	IN
Cuve 820	7.86	436	IN		IN	IN
Après Filtre 1 μ (F2)	7.87	434	IN		IN	IN
Cuve 810	7.86	436	IN		IN	IN
Après Filtration finale de la ligne C	7.85	453	IN		IN	IN
Produit Fini C	7.84	456	IN		IN	IN
Après Filtration finale de la ligne D	7.85	453	IN		IN	IN
Produit Fini D	7.86	454	IN		IN	IN
Normes Nestlé Waters	7.6 < pH < 8	410 < Ce < 504	IN	*Non déterminé	IN	IN

Le tableau ci-dessus représente les résultats du contrôle physicochimique et sensoriel de l'eau de rinçage finale de 3 cycles de CIP alcalin.

La durée de rinçage dépend du contrôle de pH, C_e et l'analyse sensorielle. Elle est variable d'un CIP à l'autre (35 mn à 40 mn).

Les valeurs de pH se rapprochent de la neutralité donc du pH de l'eau de forage, le même cas pour la conductivité qui varie de 434 et 456 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (même conductivité que l'eau de forage).

La validation de rinçage finale se confirme par les résultats de l'analyse sensorielle des échantillons de toutes les zones traitées qui sont conformes c'est-à-dire les échantillons de l'eau à ces niveau ne présentent aucun goût ou odeur indésirables et cela pour les trois cycles de nettoyages et désinfection.

II.2.3.3 Désinfection :

Les résultats de la validation de la désinfection de trois cycles de CIP effectué le 01, 11 & 18/05/2012 sont illustrés dans le tableau 22.

Tableau 22 : Résultats de la validation de la désinfection du CIP effectué le 10/05/12

FAMT	forage F1	après filtre 1 μ	forage F2	après filtre 1 μ	après filtration finale C	produit fini C	après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	14	–	9	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	3	–	1	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	11	7	5	2	–	–	–	–	–
	6	5	2	1					
	9	6	6	3					
	12	8	10	4					
	15	2	9	5					
	11	4	9	6					
	10	6	7	8					

Tableau 23 : Résultats de la validation de la désinfection du CIP effectué le 11/05/12

FAMT	forage F1	après filtre 1 μ	forage F2	après filtre 1 μ	après filtration finale C	produit fini C	après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	11	–	8	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	5	–	1	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	12	5	7	3	–	–	–	–	–
	11	4	8	4					
	10	6	2	0					
	9	2	0	0					
	8	5	2	1					
	11	5	3	1					
	12	4	1	2					

Tableau 24 : Résultats de la validation de la désinfection du CIP effectué le 18/05/12

FAMT	forage F1	après filtre 1 μ	forage F2	après filtre 1 μ	après filtration finale C	produit fini C	après filtration finale D	Produit fini D	Normes J.O.R.A.D.P N°27,2006
1ml /22 °C	8	–	7	–	0	0	0	0	100 UFC
1ml/36 °C	3	–	2	–	0	0	0	0	20 UFC
1 ml/22°C (filtration)	10	6	6	2	–	–	–	–	–
	8	3	7	4					
	6	2	9	5					
	9	4	8	3					
	5	2	10	6					
	7	3	5	3					
	11	5	7	4					

Les résultats obtenus de la validation de la désinfection après le CIP alcalin précédent, dont la concentration de détergent était de 2% m/m, n'étaient pas satisfaisante. Il a fallu revalider le CIP alcalin en augmentant cette fois ci la concentration de détergent de 2 à 3% en gardant le même désinfectant (P3-Oxonia).

Les tableaux ci-dessus représentent les résultats du contrôle microbiologiques de l'eau de source de son émergence à son embouteillage.

Diminution de la charge bactérienne (FAMT) après la filtration 1 μ des deux forages, en comparant les résultats des forages avec ceux après la filtration 1 μ . Les liaisons des forages ont été bien nettoyées. On peut dire que le CIP cette fois ci est efficace, et cela sans augmenter la concentration du désinfectant. Seule l'augmentation de la concentration du détergent était efficace pour obtenir de bons résultats. Ça confirme que le nettoyage et la désinfection sont deux opérations complémentaires, il n'y a pas de bonne désinfection sans nettoyage préalable « on ne désinfecte que du propre » (**Bouix et Leveau, 1999**).

L'absence totale de la FAMT après filtration finale des deux lignes de production est le résultat d'une filtration et CIP efficaces.

La recherche et le dénombrement de la FAMT dans le produit fini des deux lignes de production C&D révèlent une conformité vis-à-vis la norme définie sur le journal officiel Algérien dans tous les échantillons analysés.

II.3 Validation du COP et nettoyage manuel :

La fréquence du COP/nettoyage manuel dépend de la fréquence du CIP ainsi que le planning de la production.

II.3.1 Résultats et discussion de la validation du COP et nettoyage manuel effectués le 03, 08/03 & 15/04/2012 :

II.3.1.1 Paramètres du nettoyage et de désinfection :

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage et de désinfection de trois cycles de COP/nettoyage manuel effectués le 03, 08/03 & 15/04/2012 sont illustrés respectivement dans les tableaux **25** et **26**.

Tableau 25 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection du COP et nettoyage manuel effectués le 03/03/12

Remplisseuse	Produit	Concentration (m/m)	Température	Temps de contact
C	T3-Topax 66 détergent désinfectant alcalin chloré moussant	4	ambiante	20 mn
D		3.35		20 mn
Normes Nestlé Waters		2%	ambiante	20 mn

Tableau 26 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection du COP et nettoyage manuel effectués le 08/03 & 15/04/12

Remplisseuse	Produit	Concentration (m/m)	Température	Temps de contact
C	T3-Topax 66 détergent désinfectant alcalin chloré moussant	2.02	ambiante	20 mn
D		2.06		20 mn
Normes Nestlé Waters		2%	ambiante	20 mn

Ces 3 cycles de nettoyage ont été effectués après des interventions de maintenance à l'intérieur des remplisseuses. Les critiques T (temps, température, titration) doivent être enregistrés pour chaque cycle de nettoyage (**Bakarić, 2004**).

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage et désinfection illustrés dans le tableau 25 montrent des valeurs de concentration, du produit nettoyant et désinfectant, élevées du seuil défini. Le temps de contact du produit nettoyant et désinfectant a été respecté.

Après investigation nous avons trouvé que :

- La buse qui définit la concentration au niveau de la remplisseuse D était celle de 3 %. Une action corrective a été mise en place : changement de buse.
- Concernant la remplisseuse C, la concentration a été réglée à 4%, un changement du paramètre de la concentration de la station du COP a été effectué.

Le processus de nettoyage doit correspondre strictement au mode opératoire décrit dans une procédure, il doit être appliqué par du personnel habilité avec des moyens qualifiés (**Anonyme 2, 2005**).

D'après la **FAO (1993)** Le problème le plus important dans les industries alimentaires se situe plus au niveau du respect de la concentration pendant le processus de lavage qu'au niveau de sa détermination. Selon **Bakarić (2004)**, une augmentation de la concentration des produits chimiques n'augmente pas nécessairement l'efficacité du nettoyage. Il y'a une concentration optimale, au-dessus de laquelle l'efficacité du nettoyage diminue et augmente le temps de nettoyage.

En résumé, on peut dire qu'une concentration trop élevée provoque :

- Une perte de produit actif
- Des résultats non améliorés
- Un rinçage plus délicat
- Des risques de traces
- Des problèmes de rejets
- Difficulté de manipulation (**FAO, 1993**).

II.3.1.2 Rinçage final :

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage et de désinfection de trois cycles de COP/nettoyage manuel effectués le 03, 08/03 & 15/04/2012 sont illustrés respectivement dans les tableaux 27 et 28.

Tableau 27 : Résultats de la validation du rinçage final du COP et nettoyage manuel effectués le 03/03/12

Remplisseuse	Contrôle visuel	pH des surfaces contrôlées			
		Int Remp	ET Trans	T Caps	Bc Remp
C	Aucune trace de mousse	8 < pH < 9	7 < pH < 8	8 < pH < 9	7 < pH < 8
D	Aucune trace de mousse	8 < pH < 9	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8
Normes Nestlé Waters	disparition complète de la mousse	7 < pH < 8			

Int Remp : Intérieur remplisseuse**T Caps** : Tête de capsulage**Bc Remp** : Bec de remplissage**ET Trans** : étoile de transfère**Tableau 28 : Résultats de la validation du rinçage final du COP et nettoyage manuel effectués le 08/03& 15/04/12**

Rempli- -sseuse	Contrôle visuel	pH des surfaces contrôlées				Analyse sensorielle du produit fini au démarrage	Analyse sensorielle du produit fini J+1	Analyse sensorielle du produit fini J+7
		Int Remp	ET Trans	T Caps	Bc Remp			
C	Aucune trace de mousse	$8 < \text{pH} < 9$	$8 < \text{pH} < 9$	$8 < \text{pH} < 9$	$8 < \text{pH} < 9$	IN	IN	IN
		$7 < \text{pH} < 8$	$7 < \text{pH} < 8$	$7 < \text{pH} < 8$	$7 < \text{pH} < 8$		IN	IN
		$8 < \text{pH} < 9$	$8 < \text{pH} < 9$	$8 < \text{pH} < 9$	$8 < \text{pH} < 9$	IN		IN
		$7 < \text{pH} < 8$	$7 < \text{pH} < 8$	$7 < \text{pH} < 8$	$7 < \text{pH} < 8$		IN	IN
Normes Nestlé Waters	disparition complète de la mousse	$7 < \text{pH} < 8$				IN		IN

Selon le tableau 27, les valeurs du pH sont comprises entre 8 et 9 ce qui est proche du pH alcalin (le produit de nettoyage est de nature alcaline). Le rinçage n'était pas bien fait, ces résultats confirment qu'une concentration élevée du produit de nettoyage a comme conséquence un rinçage plus délicat avec des risques de traces. Pour cela il a fallu faire un 2^{ème} rinçage.

Le rinçage est destiné à éliminer toute trace de produit utilisé précédemment sans évidemment apporter une nouvelle souillure ou de nouveaux microorganismes. Un rinçage mal effectué peut être à l'origine de la présence dans l'aliment de résidus indésirables de détergents et de désinfectants (Guillet *et al.*, 2002).

Selon le tableau 28, le contrôle visuel ne montre aucune trace de la mousse du produit nettoyant. Le contrôle du pH des surfaces internes des deux remplisseuses C&D montrent une conformité par rapports à la norme. Des valeurs comprises entre 7 et 8 sont enregistrées pour les 3 cycles de COP et nettoyage manuel.

Le contrôle du pH peut être adapté à la surveillance en ligne, il est facile et peu coûteux à la fois mais il reste insuffisant pour valider le rinçage. C'est pour ça il est complété par l'analyse sensorielle effectuée par des panélistes formés et évalués périodiquement.

Les résultats de l'analyse sensorielle de l'eau de source « Nestlé Vie Pure » révèlent une bonne qualité organoleptique liée à leur pH neutre légèrement basique et à la température (12-14) °C qui confèrent à cette eau la fraîcheur. L'eau ne dégage aucune odeur, et possède un goût très agréable. Le rinçage a été bien fait pour les 2 lignes de production et cela est prouvé par l'analyse sensorielle du produit fini, au démarrage, j+1 et au j+7.

Selon **Degrement(1978)**, une eau colorée n'est pas agréable pour les usages domestiques et en particulier pour la boisson. Car elle provoque toujours un doute sur la potabilité.

Les odeurs et le goût indésirables peuvent être le résultat d'une croissance de micro-organismes occasionnels, d'une contamination par les matériaux utilisés, ou encore de la présence de substances organochlorées. Elle doit être acceptable pour les consommateurs (**Rodier et al., 1995**).

II.3.1.3 Désinfection :

Les résultats de la validation de la désinfection de trois cycles de COP/nettoyage manuel effectués le 03, 08/03 & 15/04/2012 sont illustrés dans le tableau 29.

Tableau 29 : Résultats de la validation de la désinfection du COP et nettoyage manuel effectués le 03, 08/03 & 15/04/2012

Remplisseuse		Coliforme Totaux	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Levure et moisissures
C	Int Remp	0	0	0	-
	ET Trans	0	0	0	
	T Caps	0	0	0	
	Bc Remp	0	0	0	
	Ambiance	0	0	0	0
D	Int Remp	0	0	0	-
	ET Trans	0	0	0	
	T Caps	0	0	0	
	Bc Remp	0	0	0	
	Ambiance	0	0	0	0
Normes Nestlé Waters		0	0	0	0

Des prélèvements effectués sur les surfaces à traiter permettent de révéler le ou les types de microorganismes présents et d'évaluer le degré de contamination. Les modalités de la procédure de nettoyage et de désinfections sont alors réduites des résultats obtenus.

Les résultats du contrôle microbiologique illustrés dans le tableau ci-dessus révèlent une absence totale des germes pathogènes et indicateurs de contamination fécale au niveau des zones à haute hygiène (remplisseuses), ce qui élimine les risques de contamination de l'eau de source « Nestlé Vie Pure » à l'embouteillage.

Le nettoyage que ce soit manuel ou automatique a touché toutes les parties sensibles des remplisseuses (bec de remplissage, les têtes de capsulage..). Aucune zone critique n'est difficilement accessible. L'air à l'intérieur de la remplisseuse est exempt des germes susceptibles d'altérer la qualité microbiologique de l'eau de source à l'embouteillage. Les opérateurs et les techniciens, qui interviennent dans les zones à haute hygiène (remplisseuses), appliquent les NGMP et respectent les règles d'hygiène :

-Lavage et désinfection des mains à l'entrée de la salle de production et après intervention dans la remplisseuse ;

-Obligation de porter la charlotte, la tenue de la production, les chaussures de sécurité, les surchaussures et un masque à usage unique en cas d'intervention dans la remplisseuse.

II.3.2 Résultats et discussion de la validation du COP et nettoyage manuel effectués le 02, 14/03 & 20/04/2012 :

II.3.2.1 Paramètres du nettoyage :

Les résultats de la validation des paramètres de nettoyage de trois cycles de COP/nettoyage manuel effectués le 02, 14/03 & 20/04/2012 sont illustrés respectivement dans les tableaux 30 et 31.

Tableau 30 : Résultats de la validation des paramètres de nettoyage du COP et nettoyage manuel effectués le 02 & 14/03/12 :

Remplisseuse	Produit	Concentration (m/m)	Température	Temps de contact
C	T3-Topax 56	1.37	ambiante	20 mn
D	détergent acide moussant	2.01		20 mn
Normes Nestlé Waters		2%	ambiante	20 mn

Tableau 31: Résultats de la validation des paramètres de nettoyage du COP et nettoyage manuel effectué le 20/04/2012 :

Remplisseuse	Produit	Concentration (m/m)	Température	Temps de contact
C	T3-Topax 56	2.02	ambiante	20 mn
D	détergent acide moussant	2		20 mn
Normes Nestlé Waters		2%	ambiante	20 mn

Le produit de nettoyage utilisé dans les trois cycles de COP et le nettoyage manuel est de nature acide, il est utilisé généralement après 2 cycles de nettoyage alcalin pour enlever les souillures minérales à l'intérieur de la remplisseuse. Les 3 cycles de nettoyage sont effectués par différents agents de nettoyage.

Le tableau 30 montre que le temps de contact du produit avec les surfaces nettoyées a été respecté. La concentration du produit de nettoyage au niveau de la ligne D est de 2% m/m et de 1.37 % (m/m) au niveau de la ligne C. Ce qui est inférieur à la valeur fixée.

Après investigation, en suivant le diagramme d'Ishikawa on a trouvé que le bidon de détergent contenait une solution diluée. Cela a été prouvé par la détermination de la concentration d'une solution de détergent à 2 % préparée à partir du même bidon. La concentration trouvée a été de 1.38% (m/m). Selon la **FAO (1993)** une concentration trop basse provoque :

- Des résultats insuffisants (restes de souillures physiques)
- Perte de produit puisqu'il y a consommation sans efficacité.
- Un manque de séquestrant entraînera un dépôt de tartre.

Les opérations de nettoyage manuel/automatique ont été surveillées par nous-même pour vérifier l'application de la procédure de nettoyage, intervenir en cas de déviation et mettre en place une action corrective.

La formation des opérateurs ou ceux qui font le prélèvement d'échantillons est importante, les échantillons doivent être représentatifs (**Bakarić, 2004**).

Les résultats illustrés dans le tableau **31** sont conformes aux normes, la concentration du produit de nettoyage était de 2% m/m. Le temps de nettoyage a été respecté par les agents de nettoyage qui ont été formés et évalués.

II.3.2.2 Rinçage final :

Les résultats de la validation du rinçage final de trois cycles de COP/nettoyage manuel effectués le 02,14/03 & 20/04/2012 sont illustrés dans le tableau **32**.

Tableau 32 : Résultats de la validation du rinçage final du COP et nettoyage manuel effectués le 02, 14/03 & 20/04/2012 :

Remplisseuse	Contrôle visuel	pH des surfaces contrôlées				Analyse sensorielle du produit fini au démarrage	Analyse sensorielle du produit fini J+1	Analyse sensorielle du produit fini J+7
		Int Remp	ET Trans	T Caps	Bc Remp			
C	Aucune trace de mousse	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
		7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
		7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
		7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
D	Aucune trace de mousse	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
		7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
		7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
		7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	7 < pH < 8	IN	IN	IN
Normes Nestlé Waters	disparition complète de la mousse	7 < pH < 8				IN	IN	IN

Les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus montrent une conformité de tous les paramètres contrôlés.

Le pH des surfaces contrôlées des remplisseuses, après le rinçage, est au voisinage du pH de l'eau de source. Le contrôle visuel ne révèle pas la présence de la mousse du produit nettoyant. L'inspection visuelle est l'une des méthodes les plus simples pour vérifier le résultat de nettoyage (Bakarić, 2004).

L'analyse sensorielle de la 1^{ère} et la dernière bouteille du produit fini qui sortent de la remplisseuse (selon le nombre de bec de remplissage de chaque remplisseuse) est un paramètre de libération de la ligne de production. L'opérateur doit remplir un check list après chaque

nettoyage. La 1^{ère} et la dernière bouteille du produit fini des deux lignes de production sont IN c'est-à-dire qu'elles ne présentent aucun goût ou odeur indésirables relatifs à l'utilisation du produit de nettoyage. L'analyse sensorielle du produit fini même après j+1 et j+7 montre que l'eau de source ne présente aucune odeur ou goût indésirables.

II.3.2.3 Contrôle microbiologique :

Les résultats du contrôle microbiologique après trois cycles de COP/nettoyage manuel effectués le 02,14/03 & 20/04/2012 sont illustrés dans le tableau 33.

Tableau 33 : Résultats du contrôle microbiologique

Remplisseuse		Coliforme Totaux	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Levure et moisissures
C	Int Remp	0	0	0	-
	ET Trans	0	0	0	
	T Caps	0	0	0	
	Bc Remp	0	0	0	
	Ambiance	0	0	0	0
D	Int Remp	0	0	0	-
	ET Trans	0	0	0	
	T Caps	0	0	0	
	Bc Remp	0	0	0	
	Ambiance	0	0	0	0
Normes Nestlé Waters		0	0	0	0

Le tableau ci-dessus représente les résultats du contrôle microbiologique des surfaces internes des deux remplisseuses C & D après 3 cycles de nettoyage. On remarque une absence totale des indicateurs de contamination fécale récente et des germes pathogènes sur les surfaces contrôlées. La méthode de contrôle d'hygiène par écouvillonnage permet de renseigner sur l'efficacité du système de nettoyage et désinfection adoptée (Corrège *et al.*, 1995).

Les surfaces et les matériels en contact avec les produits alimentaires doivent être maintenus à un bon niveau de propreté (Guillet *et al.*, 2002).

La qualité microbiologique de l'air à l'intérieur des remplisseuses est contrôlée par le bio-collecteur microflow, selon les tableaux ci-dessus on remarque une absence des levures et moisissures dans l'ambiance des deux remplisseuses. Ces résultats confirment que le nettoyage a été efficace et les filtres de traitement d'air fonctionnent bien. Selon Guillet *et al.* (2002), l'objectif de l'analyse des ambiances est de détecter une source de contamination capable de

disséminer des microorganismes dans l'air et estimer la charge microbienne de l'air c'est-à-dire une estimation à la fois quantitative et qualitative. La mesure quantitative de la contamination aéroportée peut servir à vérifier la fiabilité d'un système de traitements d'air : filtres non colmatés.

Conclusion

Conclusion

Notre travail a porté sur la validation d'un plan de nettoyage et de désinfection des lignes de production de l'eau de source Nestlé vie pure et le contrôle de l'efficacité de ce plan durant une période de 6 mois.

Une étude précise et minutieuse des prérequis de la validation a prouvé que :

Tous les équipements installés sont conformes et répondent aux critères de conception hygiénique en allant des forages jusqu'aux remplisseuses.

Les instruments de mesure sont calibrés ainsi que les méthodes d'analyse sont validées.

Les procédures de nettoyage ont été mises à jour, nous avons réussi de prouver la reproductibilité de ces procédures quel que soit la personne réalisant le CIP, COP et Nettoyage manuel. Ces deux derniers ont marqué au début de cette étude des différences quant à l'application des procédures.

La formation et la sensibilisation des agents de nettoyage sur l'importance de leur rôle dans l'assurance qualité et la sécurité alimentaire du consommateur a fait ses épreuves et cela s'est traduit par les bons résultats obtenus.

L'ensemble des analyses effectuées ont montré que le nettoyage dépend de la nature des souillures à éliminer et des surfaces à nettoyer. Il dépend aussi des 6 T (temps, température, titration, turbulence, training, technologie), un changement de l'un de ses paramètres nécessite une revalidation.

Les résultats du contrôle microbiologique de tous les échantillons analysés révèlent une excellente qualité microbiologique. L'absence de germes dans l'eau des forages est expliquée par le phénomène de l'autoépuration de nappes.

La préservation de cette qualité de l'eau après filtration et l'eau conditionnée est le résultat d'un plan de nettoyage et de désinfection efficace mais aussi la maîtrise des dangers biologiques donc de la bonne pratique du système HACCP.

« Nestlé vie pure » présente une bonne qualité physico-chimique à raison de l'absence de polluants chimiques et la maîtrise des procédures de nettoyage et de désinfection des lignes de production.

L'agréable qualité organoleptique est liée au pH légèrement basique.

Recommandations

Le nettoyage est garant de la qualité du produit fini. Au terme de cette étude, il convient de faire quelques recommandations pour améliorer l'efficacité et l'efficience du nettoyage et de la désinfection.

- ❖ Remplacer le nettoyant/désinfectant T3-Topax 66 par un autre produit qui ne doit pas être chloré. Le chlore est un produit corrosif qui peut diminuer la durée de vie du matériel de production.
- ❖ Améliorer le processus de CIP en remplaçant la station actuelle par une station entièrement automatique qui permet la réutilisation des solutions de nettoyage et donc de faire des économies des produits de nettoyage, d'énergie et d'eau. Elle permet aussi une plus grande sécurité pour le personnel.
- ❖ Améliorer la protection de l'environnement, il est impératif de procéder une étude concernant l'évaluation de la qualité des eaux de rejets.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Azzaz Med, Mezioud Morad., 2009. Contribution à l'étude des protocoles de la désinfection des bâtiments d'élevage existant dans la région du centre d'Alger, Thèse de Docteur vétérinaire, USDB ,51p.

Benédicte Rullier., 1996. L'hygiène alimentaire, repère pratique Nathan, France, 136p.

Bretzel P., 1997. Qualité des eaux souterraines –qualité naturelle-influence de la surface-pollution.

Bouix M. et Leveau J.Y ., 1999. Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries, édition Tec et Doc, Lavoisier, paris, 340-364p.

Bosgiraud, C., 2003.Microbiologie générale et santé. Edition ESKA..

Broutin Cécile., 2004. Adopter une démarche qualité basée sur L'analyse et la maîtrise des dangers, Application aux petites entreprises agroalimentaires en Afrique de l'Ouest ; AGRIDOC.GRET, 6-7p. (broutin@gret.org).

Bailly. J., 2004. Stratégie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique, These de Doctorat Pharm, Lyon,

Bacarić. N., 2004. Technical Manual for Cleaning-in-Place.PTC Konolfingen Nestec Ltd. 1800 Vevey, Switzerland

Bolzan.C., 2008. La validation de nettoyage en industrie pharmaceutique. Faculté de pharmacie. Université HENRI POINCARÉ NANCY 1.

Bouri Imene., Djemia samira., 2008. Contrôle de l'efficacité du nettoyage et de désinfection d'équipements de production des jus de fruit et son impact sur la qualité du produit fini (unité Vita jus). Thèse d'ingénieur, Institut d'Agronomie-Université de Blida, pp 15-24.

Characklis, W. G. 1989. Biofilms. New York: Wiley. p55-89.

Curiel. G J, Hauser. G, Peschel.P, Timperley. D A., 1993. 'Hygienic equipment design criteria', Trends in Food Science & Technology, Vol 3(11), p. 277.

Correge. I., Le Roux.A., Butin. M., 1995. Comparaison de méthodes rapides de contrôle de l'efficacité du nettoyage-désinfection. - Viande Prod. Carnés,16(4), 123-130.

Campanac, C., 2002. Biofilms bactériens : intérêt dans l'utilisation de l'activité détergente : approche des facteurs impliqués dans la formation et la résistance finale. *Thèse, Université Paul Sabatier, Toulouse*

Carole L., Vignola., 2002. Fondation de la technologie laitière du Québec, science et technologie du lait, transformation du lait. Les presses internationales polytechniques, édition scientifique, 587p.

Degremont., 1978. Mémento technique de l'eau. 8ème édition Reuil Malmaison : degremont-paris.1200p

De Beer, D., P. Stoodley, F. Roe et Z. Lewandowski.,1994. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol. Bioeng.* 43: 1131-1138.

Degremont., 2005. Mémento technique de l'eau. 10^{ème} édition-Rueil-Malmaison : DEGREMONT/ Vol 2. (LXI-p1718)

Desjardin.R., 1997. Analyse de l'eau. 2^{ème} édition : presse internationale polytechnique. p08

Delarras. C., 1997. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier Tech et Doc-Paris. P349, 341

Delarras. C et Bernard.T., 2006. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2^{ème} édition Lavoisier Tech et Doc-Paris. p 66

Duke.M, Stalder.R, 2008. Validation of the Effectiveness and Efficiency of Cleaning. August 2008.Nestec Ltd., CH-1800 Vevey, Switzerland

Espeland, E. M. et R. G. Wetzel.,2001.Complexation, Stabilization, and UV Photolysis of Extracellular and Surface-Bound Glucosidase and Alkaline Phosphatase: Implications for Biofilm Microbiota. *Microb. Ecol.* 42: 572-585.

Gauthier, Y., et P. Isoard. 1989. L'adhésion des bactéries sur les surfaces. Industries alimentaires et agricoles. 106:31-33.

Gartier et al. , 1997. Gestion des problèmes environnementaux dans les industries agro-alimentaire, édition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

Gilbert, P., J. Das et I. Foley.,1997. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Adv. Dent. Res.* 11: 160-167.

Guiraud.J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD-Paris. p652

Guillet.F, Leyra.G, Verne-Bourdais.E, Bonnefoy.C., 2002. Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Wolters Kluwer France, 245 page

Haslay.C et Lerlec. H., 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Edition Lavoisier Tec & doc- Paris. P101, 66, 108.

Jolicoeur.M., 2003. Approche de la validation, Ecole Polytechnique de Montréal.

Kluger. D, Pochard, Mrozek, Schlusser, Vogele, Bousser et al., 1981. Hygiène en industrie alimentaire, Henkel France SA, 1981, 116 p.

Kessler, H. and Lund, D., 1989. Fouling and Cleaning in Food Processing, ICFC III, Germany.

Lederer Jean., 1986. Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire, 3^{ème} édition, Paris.

Laban.F, Bouloumie. C, Bousquet-Bedu. M, Cavil. J, Dumant. A, Durand. F et al., 1999 Choix et qualification des produits détergents et désinfectants, S.T.P Pharma Pratiques , 9 (3) 251-257.

Le Magrex-Debar, E., J. Lemoine, M. P. Gelle, L. F. Jacquelin et C. Choisy., 2000 Evaluation of biohazards in dehydrated biofilms on foodstuff packaging. *Int. J. Food.Microbiol.* 55: 239-243.

Leyral. G et Vierling. E., 2001. Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires 3^{ème} édition Doin- Paris.280 p

H. L. M. Lelieveld, M. A. Mostert and J. Holah., 1995. Hand book of hygiene control in the food industry. Woodhead publishing limited. Cambridge England.

Louafi et Larbi ., 2007 . Nettoyage et désinfection des bâtiments avicoles. Mémoire de docteur vétérinaire ; Université SAAD DAHLEB-BLIDA.

Multon.J.L., 2002. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaire. Edition Lavoisier Tech et Doc-Paris. p27, 427,461

McNeill, K. et I. R. Hamilton, (2003) Acid tolerance response of biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol. Lett.* 221: 25-30.

Meunier O., 2008.Résumé Pathologie Biologie (e-mail : olivier.meunier@chru-strasbourg.fr)0369-8114/ –2008 Elsevier Masson SAS. place-de-l'Hôpital, 67091 Strasbourg cedex, France

- Nauciel. C., 2001.** Bactériologie médicale. Edition Masson-Paris. p106, 107, 127
- O'Toole, G. A. et R. Kolter,1998.** Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol. Microbiol.* 30: 295-304.
- Potelon. J-I., 1998.** Le guide des analyses de l'eau potable. Edition la lettre du cadre territorial S.EPT. 253p
- Philippe J M., Bouvet., Christine Jacquet ., 2002.**Sécurité alimentaire du consommateur ,2ème édition ,EDITION Tec et Doc ,433p.
- Plavinet Pierre Jean.,Hubert Pointurier .,2003 .**La gestion matières dans l'industries laitières, EDITION Tec et Doc ,Lavoisier, Paris,385p.
- Palmer, J., S. Flint et J. Brooks., 2007.** Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 34: 577-588.
- Perlemuter L., Quevau Villiers J ., Perlemuter G., Amar B., Aubert L ., Pitard L., 2007 .** Hygiène, Elsevier Mason- Moulineaux Cedex.
- Roger Veisseyre., 1979 .**Technologie du lait, constitution, récolte, traitement et transformation du lait. La maison rustique (Librairie de l'académie d'Agriculture), Paris.
- Raoult. D., 1998.** Dictionnaire des maladies infectieuses. Edition ELSEVIER-Paris. p 283
- Rodier. J, Bazin. C, Brouton. J. P, Chambou. P, Champseur. H., 2005.** Analyse de l'eau. 8^{ème} Edition DUNOD-Paris. p57, 67, 945, 947, 954, 1132, 1365
- Shoeller.H., 1974.** Les eaux souterraines. Edition Masson. P339
- Sliwinski. F., 1995.** Le nettoyage, un élément majeur de l'assurance qualité : techniques et validation, Th D Pharm, Lille.
- Spinnler.H.E., 1998.** Technologies de transformation des produits agroalimentaires. Edition Techniques d'ingénieur-Paris. p1
- Stoodley, P., K. Sauer, D. G. Davies et J. W. Costerton., 2002.** Biofilms as complex differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 56: 187-209.
- Salager.JL., 2002.** Surfactifs : Types et usages, Universidad de los Andes
- Spiroux Joël ., 2008 .**Mieux consommer pour une santé durable 4eme journée des pratiques du en Haute-Normandie Rouen, Actes du colloque, 53p.

Teitzel, G. M. et M. R. Parsek., 2003. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 69: 2313-2320.

Yang, J., R. Bos, G. F. Belder, J. Engel et H. J. Busscher., 1999. Deposition of oral bacteria and polystyrene particles to quartz and dental enamel in a parallel plate and stagnation point flow chamber. *J. Colloid Interface Sci.* 220: 410-418.

Autres références :

Anonyme, 1998. RMBEE (Collection études sensorielles Magrébiennes) : les industries agroalimentaire dans les pays du Maghreb ; réseau Maghrébin d'étude économiques ; 595p

Anonyme, 2001. Recommendations on : Validation Master Plan, IQ & OQ, Non Sterile Process. Validation, Cleaning Validation, PIC/S.

Anonyme1, 2002. Cleaning Validation and Critical Cleaning Processes, Conference Proceedings - IVT, June 19-20 2002 ; Dublin

Anonyme2, 2002. « How to do » Document: Interpretation of the ICH Q7a Guide, APIC–Version 4.

Anonyme 1. 2005 Bureau pour la connaissance des marchés industriels (BCMI), Les grands types de contaminants et les vecteurs de la contamination, Document réalisé pour le guide de l'ultra propreté, 5e édition.

Anonyme 2, 2005. Le nettoyage en salle propre, guide, méthodes et bonnes pratiques. Document réalisé pour le guide de l'ultra propreté, Bureau de la connaissance des marchés industriels, 5e édition.

Anonyme, 2006 .N.E.P. et traitement d'eau. Nestlé waters Algérie.

Anonyme, 2007. Horizon bleu, Bureau d'étude : Eau-sol-environnement-géomatique

Anonyme, 2012. Formation sur l'hygiène générale Johnson Diversey.

Bishop A., 1997. "Basic Principles of Sanitation",PDF.

Bonnes pratiques de fabrication version consolidée, 2007, Bulletin officiel N°2007/1 bis, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

FAO., 1993. Hygiène dans l'industrie alimentaire. Les produits et l'application de l'hygiène. Département de l'agriculture.

<http://www.fao.org/DOCREP/004/T0587F/T0587F00.HTM>

Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire n° 45 du 15 juillet 2004.
Décret exécutif n° 04-196 relatif à l'exploitation et la protection des eaux minérales naturelles et des eaux de source.

Nestlé Good Manufacturing Practices GI-31.100-1. October **2007.** Nestec Ltd., CH-1800 Vevey, Switzerland

Nestlé Manufacturing Instructions MI-10.508-1. **2011.** Nestec Ltd., CH-1800 Vevey, Switzerland

Nestlé Laboratory Instructions. **2012.** Nestec Ltd., CH-1800 Vevey, Switzerland

Annexes

Annexes

Annexe 1

❖ Critères de choix d'un détergent :

1-Critères concernant les propriétés de détergent :

- **Toxicité** : Un détergent doit être le moins toxique possible pour le personnel mais également le plus respectueux possible de l'environnement, biodégradable et correspondre à la législation sur les rejets.

- **L'efficacité du détergent** : Il faut éviter au maximum de multiplier les étapes de nettoyage. Un détergent devra avoir un bon pouvoir mouillant, émulsionnant, anti-redéposition. Il devra être stable à des températures élevées. Son rinçage et son élimination devront être aisés.

- **DéTECTABLE** : Un bon détergent doit pouvoir être dosable à de faibles concentrations. Ce paramètre est requis dans le cas de la validation du nettoyage.

- **RENTABLE** : Le produit doit avoir un coût de mise en œuvre avantageux (temps de cycle, temps de contact, et temps de rinçage ne devront pas être trop élevés afin de ne pas immobiliser les équipements pendant une durée trop importante).

- **Stabilité** : Le produit à l'état pur (ou la solution diluée si la dilution n'est pas faite extemporanément) doit avoir une stabilité et une date de péremption connues dans les conditions de stockages indiquées sur la fiche technique.

- **Nature et état des souillures** : Organiques ou minérales, humides ou séchées et de leur degré d'incrustation dans le matériel.

- **Nature du matériel** ou du support : Le détergent ne doit pas présenter de caractère agressif vis-à-vis des surfaces à nettoyer (Le maintien de l'intégrité de la surface est le facteur critique (en particulier pour les joints et appareils de mesure). La liste des matériaux destinés à être en contact avec le produit doit être établie et leur compatibilité avec l'agent de nettoyage vérifiée.

- **Qualité de l'eau utilisée** : Dureté, caractère corrosif et éventuellement qualité Microbiologique. Une eau avec une dureté élevée nécessitera la présence de complexant.

• **Mode de nettoyage** : On utilisera :

- des produits peu moussants en cas de nettoyage manuel.
- des produits moussants pour les canons à mousse.
- des produits non moussants pour les nettoyages en place. La mousse peut entraver la performance de nettoyage, elle fait caviter des pompes comme résultat de l'introduction d'air dans les lignes.

2-Critères concernant le fabricant :

• **Certification** : Il doit disposer d'un système d'assurance qualité certifié.

• Il doit pouvoir fournir la fiche technique du produit, sa composition (au moins qualitative) et informer son client lors d'un changement dans la formule.

Annexe 2

Tableau 1: Comparaison des différents types de nettoyage

Paramètres	Nettoyage manuel	Nettoyage automatique
Temps	Rapide Temps de latence entre les étapes peut varier	Temps élevé Temps de latence mieux contrôlé
Force	Force élevée Difficile à quantifier Non uniforme Difficilement reproductible	Force faible Difficile à quantifier Uniforme et reproductible
Concentration	Faible : risque pour le personnel Détergent peu toxique	Formules plus agressives
Température	Non contrôlée, variable	Plus élevée, mieux contrôlée

(Anonyme1, 2002)

Annexe 3

Tableau 2 : les opérations de NEP

Protocoles de CIP	Protocoles de CIP						
	Rincer	Nettoyer	Rincer	Nettoyer	Rincer	Désinfecter	Rincer
7 étapes	●	○	●	●	●	●	●
5 étapes			●	⊙	●	●	●
3 étapes					●	●	●
●	L'eau de rinçage doit être de même qualité que l'eau embouteillée						
○	Nettoyage alcalin						
●	Nettoyage acide						
⊙	Nettoyage alcalin ou acide (dépend de la teneur de minéraux de l'eau)						
●	Désinfection chimique ou Eau chaude à 85°C						
●	Produits nettoyant désinfectant à la fois						

(Manufacturing Instructions de Nestlé Waters, 2011)

Annexe 4

❖ Présentation de l'unité Nestlé Waters Algérie:

Nestlé Waters, le leader mondial d'eau embouteillée s'installe au Maghreb en construisant sa première usine en Algérie au niveau de la source TABERKACHENT à Blida.

Nestlé Waters est une S.P.A dirigée et gérée par Monsieur SAIDAWI. I. Elle est constituée d'une unité de production d'une superficie de 25000 m², dotée d'une technologie moderne pour répondre aux normes internationales les plus strictes, exploitée par 150 personnels formés et hautement qualifiés. Elle est dotée d'un laboratoire de contrôle de qualité physicochimique et microbiologique et d'une salle d'évaluation sensorielle.

L'unité a commencé la production de son eau de source « Nestlé vie pure », sous deux formats 1.5l et 0.5l, le jour même de son inauguration le 08 Mai 2008. Son taux de production était de 40 millions litres en 2008 et 75 millions en 2009.

Nestlé Waters s'engage dans l'amélioration continue des performances dans le respect strict de la législation et la réglementation Algérienne. Pour cela des programmes de management de la sécurité des denrées alimentaires, de la santé et la sécurité au travail et de l'environnement sont mis en place. Son système de management intégré (SMI) conformément aux 3 référentiels natifs ISO 9001, ISO 14001 et OHSAS 18001 est certifié depuis Janvier 2010. Un audit de certification a été effectué fin Décembre 2009 pour évaluer l'efficacité du système mis en place. Nestlé Waters est certifié ISO 22000 en 2011.

Le label de qualité Nestlé est un engagement envers ses consommateurs.

Annexe 5

Verrerie	Appareillages	
Bécher	Ph mètre	Rampe de filtration
Erlenmeyer	Bec Bunsen	Réfrigérateur
Burettes	Pieds à coulisse	Jarre d'anaérobie
Pipette pasteur	Autoclave	Balance
Pipettes graduées	Conductimètre	Tubes à essais stériles
Boîte de pétri	Thermomètre	Turbidimètre
Flacons	Spectrophotomètre	Agitateur
Fiolle	Bain marie 45°C	Distillateur
Éprouvettes graduées	Étuves de 22°C, 36°C, 44.5°C	
	Balan Haute à flux laminaire	
	Lampe sous ultras violet	
	Le bio collecteur Micro-flow	
	Balance électronique à haute précision	

➤ **Milieu de culture**

Plate Count Agar (PCA) sans glucose :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Tryptone.....6.0

Extrait de levure.....3.0

Agar Agar.....15.0

pH final 7,2 ±0.2 à 25°C

Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15±1 minutes.

Gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7 :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Lactose.....20.0

Peptone.....10.0

Extrait de levure.....6.0

Extrait de viande.....5.0

Bleue de bromothymol.....0.05

Agar Agar.....12.7

Solution TTC 0.05%.....50ml

Solution Tergitol 7 0.2%.....50ml

pH final 7,2 ±0.2 à 25°C

Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15±1 minutes

EC MUG

Tryptone.....20

Lactose.....5

Sels de bile N°3.....1.5

Di potassium phosphate.....4

Monopotassium phosphate...1.5

Chlorure de sodium.....5

4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide (MUG)..0.05

pH 6.9 ± 0.2 à 25°C stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15±1 minutes

Tryptophane

Tryptone.....	10
L-Tryptophane.....	1
Chlorure de sodium	5
pH à 25°C : 7,5 ± 0,2.	

Kligler (Kligler-Hajna) :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Peptone	20,0
Extrait de viande	3,0
Extrait de levure.....	3,0
Thiosulfate Sodium.....	0,5
Lactose	10,0
Glucose	1,0
Rouge de Phénol	0,024
Na Cl	5,0

Ammonium ferrique (III) citrate ..0,5

Agar-agar

12,0 g

pH final 7,1± 0,2 à 25°C, stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15±1 minutes.

CN Agar :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Peptone de gélatine	16,0
Hydrolysate de caséine	10, 0
Potassium sulfate	10, 0
Magnesium chlorure	1, 4
Agar Agar	13, 0
Glycerol.....	10.0

CN supplement.....4 ml

pH final $7,1 \pm 0,2$ à 25°C , stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 ± 1 minutes.

King b

Peptone de caséine.....10.0

Peptone de viande10.0

Di-Potassium hydrogène phosphate (K_2HPO_4)....1.5

Sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$).....1.5

Glycerol10.0

Agar15.0

Solution A900 ml

Solution B1 ml

Les tubes sont fermés et autoclavés à 121°C pendant 15 min.

Solution B

Molybdate de sodium ($\text{Na}_2\text{MoO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$)....0.5

Sulphate de fer ($\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$)0.05

Eau distillée.....100 ml

Solution A

Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)1.0

Sulfate de magnésium anhydre (MgSO_4)0.2

Acétamide2.0

Na Cl.....0.2

Eau distillée.....99 ml

Bouillon à l'acétamide :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Acétamide2,0

Sulfate de magnésium anhydre (MgSO_4).....0,2

Phosphate monopotassique1,0

Molybdate de sodium ($\text{Na}_2\text{MoO}_4, 2.\text{H}_2\text{O}$)5,0

Sulfate de fer ($\text{FeSO}_4, 7.\text{H}_2\text{O}$)0,5

Chlorure de sodium.....0,2
Eau (exempte d'ammoniac)1000 ml

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,5.

Slanetz et Bartley :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Tryptone20.0
Extrait de levure5.0
D+Glucose..... 2.0
Hydrogénophosphate dipotassique.....4.0
Azide de sodium.....0.4
Agar-agar10.0

Chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium (TTC)....0.1ml

pH final : 7.2, stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

Gélose Bile Esculine Azide Agar (BEAA) :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Tryptone.....17.0
Peptone.....3.0
Extrait de levure.....5.0
Bile de bœuf déshydratée.....10.0
Chlorure de sodium.....5.0g
Esculine.....1.0g
Citrate de fer ammoniacal.....0.5ml
Azoture de sodium.....0.15
Agar-agar.....13g

pH final : 7.1, stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

TSC Agar (Tryptose Sulfite Cycloserine Agar) :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Tryptone.....15.0
Peptone de farine de soja.....5.0

Extrait de levure.....5.0

Disulfite de sodium.....1.0

Ammonium- fer (III) citrate.....1.0

Agar Agar.....15.0

pH final 7,2 ±0.2 à 25°C, stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15±1 minutes.

OGA (Oxytétracycline Glucose Agar) :

La formule type de ce milieu de culture en g/l d'eau distillée est :

Extrait de levure.....5.0

D (+) glucose.....20.0

Agar Agar12.0

Supplément sélectif (oxytétracycline)...100ml

pH final 7,2 ±0.2 à 25°C, stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15±1 minutes.

Bouillon Tryptone Sel Eau (TSE) :

Tryptone.....1.0

Chlorure de sodium.....8,5

pH final.....7.

Annexe 6

Le protocole de validation défini par le Product Technology Center de Nestlé waters

1. Etude de validation :

Obtention de preuves que les éléments du plan de nettoyage sont efficaces et la reproductibilité est possible. L'étude montre que la ligne telle qu'elle est conçue et installée peut être nettoyée régulièrement selon les paramètres choisis.

- Pour le CIP, cela signifie que l'étude de validation devrait prouver que les correctes paramètres « 4Ts » (temps, température, titration, Turbulence) ont été sélectionnés, en conformité avec le type de processus et le produit, pour répondre aux critères d'acceptation spécifiés.
- Pour le nettoyage manuel, l'étude de validation devrait prouver que les correctes paramètres « 3Ts » (temps, température, titration) ont été sélectionnés, l'étude de validation devrait montrer que la procédure permet la cohérence de nettoyage par des opérateurs différents (**Duke et Stalder, 2008**).

2. Pré-requis :

Les conditions préalables de validation de la performance sont les suivants:

- Qualification du design
- Qualification de l'installation
- Qualification des opérations (**Duke et Stalder, 2008**).

2.1 Qualification du design (DQ) :

Qualification du design veille à ce que toutes les spécifications de la conception répondent aux notions d'ingénierie d'hygiène basées sur la chimie des produits, des conditions de traitement, des agents de nettoyage et de méthodologies de nettoyage. Ceci s'applique à:

- Toutes les surfaces en contact avec le produit.
- Design de l'équipement (**Duke et Stalder, 2008**).

2.2 Qualification de l'installation (IQ):

- Confirmer que l'installation est conforme aux spécifications.
- Confirmer la possibilité de nettoyer et pour les opérateurs d'avoir accès en particulier pour le nettoyage manuel.
- Assurer l'étalonnage des instruments (**Duke et Stalder, 2008**).

2.3 Qualification des opérations (QO):

- La qualification opérationnelle vérifie que les systèmes fonctionnent selon les SOP.
- Pour les systèmes CIP, différents cycles doit être exécuté pour faire en sorte que le système est équilibré hydrauliquement et que les soupapes et les pompes fonctionnent comme prévu. La boule de NEP doit être vérifiée. Autres dispositifs de nettoyage doivent fonctionner comme prévu (**Duke et Stalder, 2008**).

2.4 Qualification de Performance (PQ) :

La qualification de la performance confirme que le matériel est propre après les cycles de nettoyage et que les critères d'acceptation pour la propreté sont respectés. Au cours de cette étape, les processus planifiés sont testés pour la cohérence et l'efficacité.

- Pour le CIP, l'étude de 3 cycles est nécessaire.
- Pour le COP et le nettoyage manuel l'étude de 3 cycles préformés par 2-3 différents opérateurs et l'équipe de nettoyage, est nécessaire (**Duke et Stalder, 2008**).

4.3 Les critères d'acceptation ou les niveaux acceptables de résidus :

- Ces critères sont directement liés aux spécifications du produit.

- Les types de résidus à prendre en considération peuvent être microbiologiques ou chimiques.
- Pour chaque critère noté, il doit être défini des outils de suivi (**Duke et Stalder, 2008**).

4.4 Surveillance :

- Une séquence planifiée et régulière des observations ou de mesures afin d'évaluer si tous les critères d'acceptation sont sous contrôle pour chaque cycle de nettoyage.
- Les méthodes de surveillance devraient être similaires à celles utilisées dans les études de validation.
- Tous les échantillons doivent être quantitativement et qualitativement représentatifs.
- Action en cas de déviation doit être clairement documentée
- Suivi des CIP consiste à vérifier à la ligne que le 4Ts (temps, température, titration, Turbulence) sont sous contrôle.
- Pour le nettoyage manuel et le COP, la surveillance doit se concentrer sur l'application de la SOP et les résultats de nettoyage.
- Les opérateurs devraient être formés pour s'assurer qu'ils comprennent les tests et les écarts à signaler ainsi que l'importance de la sécurité alimentaire de ces écarts (**Duke et Stalder, 2008**).

Annexe 7

Présentation de l'installation NEP à Nestlé Waters Algérie:

Le système NEP inclut principalement:

- Une cuve NEP d'un volume de 5000 l.
- Une pompe permettant de faire circuler les produits de nettoyage vers les différentes zones à nettoyer.
- Un échangeur à plaque permettant de chauffer et de refroidir les produits de nettoyage.
- Un filtre à poche 1 Om permettant de filtrer des dépôts ou particules enlevés par les différents nettoyages.
- Un système de stérilisation de l'air comprimé afin de pouvoir vidanger les tuyauteries après les cycles de NEP.
- Un système de stérilisation pour pouvoir stériliser l'eau adoucie nécessaire à la réalisation des préparations des solutions de nettoyage.
- Une armoire électrique permettant de gérer les différentes séquences de nettoyage.
- Débitmètre: Il permet la vérification ou le contrôle des débits des diverses solutions qui circulent lors d'un nettoyage.

- Capteur de température à l'alimentation : on retrouve un capteur de température à la sortie de l'échangeur de chaleur.
- Capteur de température de retour : leur rôle est de s'assurer que le lavage se fait à la bonne température.
- Capteur de débit : ce capteur permet de vérifier si le liquide revient de l'équipement vers le NEP ou l'égout.
- Manomètre pour la mesure de la pression.
- Conductimètre : le Conductimètre sert à vérifier la concentration de la solution de lavage (Anonyme, 2006).

Annexe 08 : fiche technique et SDS du Divosan osa-N

Divosan OSA-N VS37

Divosan.

Phosphate free acidic detergent disinfectant / terminal disinfectant for CIP applications

Description

Divosan OSA - N is a concentrated low foaming phosphate free acidic detergent disinfectant / terminal disinfectant for CIP applications in the brewing, beverage, dairy and processed food industries

Key properties

Divosan OSA . N has low foam characteristics making the product ideal for CIP use

Divosan OSA . N provides effective detergency for single stage cleaning in many scenarios

Divosan OSA . N is effective against a wide range of spoilage organisms including yeast, bacteria and mould

Divosan OSA . N is highly effective at removing inorganic scale deposits, including calcium phosphate and calcium oxalate

Divosan OSA . N has free rinsing characteristics reducing rinsing time

Divosan OSA . N concentrations can be measured by conductivity

Divosan OSA . N solutions can be reclaimed and reused

Divosan OSA . N is effective at low temperatures

Divosan OSA . N can be used in carbon dioxide atmospheres without evacuation

Divosan OSA . N has shown not to have any effect on beer head retention at recommended use concentrations

Divosan OSA . N is safe on epoxy lined vessels

Divosan OSA . N is free of oxidising halogens, no AOX or halide related corrosion

Divosan OSA . N is free of phosphate and is fully biodegradable

Benefits

- Provides effective cleaning and or disinfection, ensuring equipment hygiene and product quality assurance
- Suitable for single stage cleaning and disinfection in many scenarios reducing cleaning times and utility usage, increasing production capacity whilst reducing total costs
- Suitable for use at ambient temperatures in many scenarios, reducing utility costs and heat stress

- Reduced corrosion potential and thermal stress minimises maintenance requirements
- Low environmental impact, particularly suitable where phosphate restrictions apply
- Effective in carbon dioxide environments reducing total cleaning time and gas replacement costs
- Product reclaim lowers usage rates and effluent discharge volumes
- Suitable for automatic dosing and control by conductivity, ensuring consistent delivery of product and performance

Use instructions

Divosan OSA . N should be used at concentrations between 0.6 . 1.7% w/w (0.5 . 1.5% v/v), dependent on soil loading, temperature and application.

Always rinse thoroughly after use.

Diversey Eastern and Central Africa Ltd

Kaptagat Road, Loresho

P.O Box 41939 -00100 GPO

Tel. +254 (20) 4224 888 / 4180 481

Fax +254 (20) 4224 888 / 4180 481

www.diversey.com

Technical data

Appearance Clear colourless liquid

Relative Density at 20°C 1.15

pH (1% solution at 20°C) 1.6

Chemical Oxygen Demand (COD) 303 gO₂/kg

Nitrogen Content (N) 42 g/kg

Phosphorus Content (P) none

Divosan OSA . N

[% w/w]

Specific conductivity at 25°C

[mS/cm]

0.5 6.1

1.0 11.6

1.5 17.1

2.0 23.1

The above data is typical of normal production and should not be taken as a specification.

Safe handling and storage information

Store in original closed containers, away from extremes of temperatures. Full guidance on the handling and

disposal of this product is provided in a separate Material Safety Data Sheet.

For professional use only

Product compatibility

Divosan OSA . N is safe for use on the materials commonly found in the beverage and food industry when

applied under the recommended conditions. Always rinse surfaces thoroughly after use.

In the event of uncertainty, it is advisable to evaluate individual materials before any prolonged use.

Test method

Reagents: 0.1 N Sodium hydroxide solution

Bromophenol blue Indicator

Procedure: Add 2-3 drops of the Indicator solution to 10 ml of the test solution. Titrate with the caustic to a blue end point.

Calculation: % w/w **Divosan OSA . N** = titre (ml) x 0.31

% v/v **Divosan OSA . N** = titre (ml) x 0.27

Microbiological data

EN1276 bactericidal suspension test; passed at 0.5% dilution in hard water (300ppm as CaCO₃), 0.3% bovine

albumen (high soil) and 5 minute contact time.

EN13697 bactericidal non-porous surface test; passed at 1.5% dilution in hard water (300ppm as CaCO₃), 0.3%

bovine albumen and 5 minute contact time.

EN1276 suspension test; passed against *Lactobacillus brevis* at 0.5% dilution in hard water (300ppm as CaCO₃),

0.3% bovine albumen (high soil) and 5 minute contact time.

EN13697; passed against *Lactobacillus brevis* at 1.5% dilution in hard water (300ppm as CaCO₃), 0.3% bovine

albumin and 5 minute contact time.

EN1650 fungicidal suspension test; passed against *Candida albicans* at 1.5% dilution in hard water (300ppm as

CaCO₃), 0.3% bovine albumin and 15 minute contact time.

EN1650; passed against *Saccharomyces cerevisiae* at 1.0% dilution in hard water (300ppm as CaCO₃), 0.3%

bovine albumin and 15 minute contact time.

Available pack sizes

Pack size

20Lt