



Hygiène des surfaces : optimisation des procédures par une meilleure compréhension des phénomènes de bio-adhésion

P.Poupault : IFV Pôle Val de Loire Centre - Tél : 02 47 23 45 11 pascal.poupault@vignevin.com

Mécanismes d'adhésion, altérations et procédures d'hygiène

Contexte

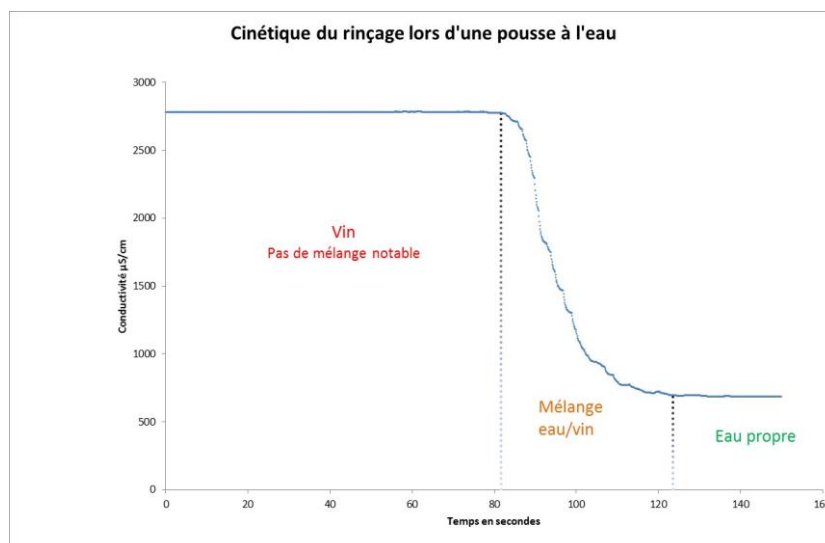
Les microorganismes d'altération, dans des conditions statiques, montrent une aptitude à la bio-adhésion et formation de biofilms qui sont souche-dépendantes. En conditions dynamiques, sur circuit-test, les premiers résultats montrent également une aptitude à l'adhésion sur acier inoxydable, qui est souche-dépendante. Les bans d'essais sur bois confirment l'intérêt des techniques alternatives au chimique pour éliminer les microorganismes en profondeur.

L'optimisation des procédures de nettoyage-désinfection vise aussi une meilleure maîtrise de l'opération de rinçage et des quantités d'eau consommées. Pour cela, il faut envisager les paramètres hydrodynamiques les plus adaptés.

Résultats

Le rinçage est la première opération de la procédure d'hygiène. Les études précédentes ont permis d'identifier la conductivité électrique comme traceur pertinent de la qualité du rinçage (absence de résidus) (graphique 1).

Graphique 1 : Evolution de la conductivité lors d'un rinçage à l'eau



Les derniers résultats montrent un rinçage peu efficace - avec des traces de vins dans les canalisations - quand la vitesse d'écoulement de l'eau est faible (< 0,5m/s). Au contraire, le rinçage avec des vitesses d'écoulement élevées (1,3 m/s) est efficace, même avec de « faibles » quantités d'eau (1 fois le volume des canalisations).

Ainsi, un rinçage efficace nécessite non pas des volumes importants, mais des vitesses linéaires (débits) élevées. En pratique, les rinçages doivent être réalisés aux vitesses maximales des pompes et, en cas d'installations importantes, par l'intermédiaire d'une pompe annexe reliée à une réserve d'eau.

Les derniers travaux sur la bio-adhésion sont focalisés sur *Brettanomyces*. Dans un premier temps, en conditions statiques au laboratoire (UMR AgroParisTech – INRA MICALIS) et pour se rapprocher des conditions rencontrées sur site, l'incidence du pré-conditionnement des surfaces est étudiée.

Sur acier inoxydable, le pré-conditionnement par le vin n'a pas entraîné de réductions drastiques dans le nombre de cellules adhérentes viables cultivables, comme le montrent les photos réalisées en Microscopie à Balayage (Figure1).

Sur microplaques, les trois souches ont montré une capacité à former des structures 3D, l'architecture des structures formées était toutefois souche-dépendante et milieu-dépendante.

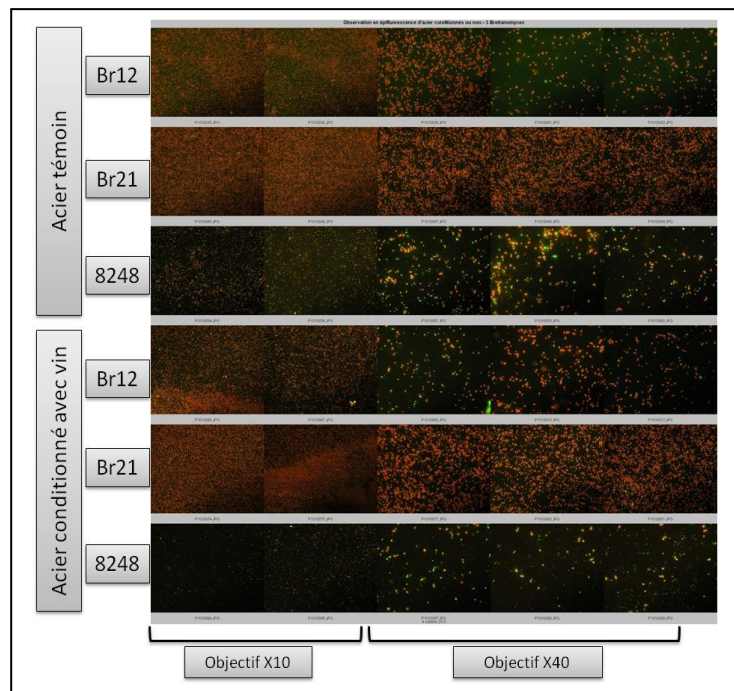


Figure 1 – Flore adhérente totale sur acier 316 conditionné ou non (liquide d'adhésion vin synthétique) (photo UMR-INRA Micalis)

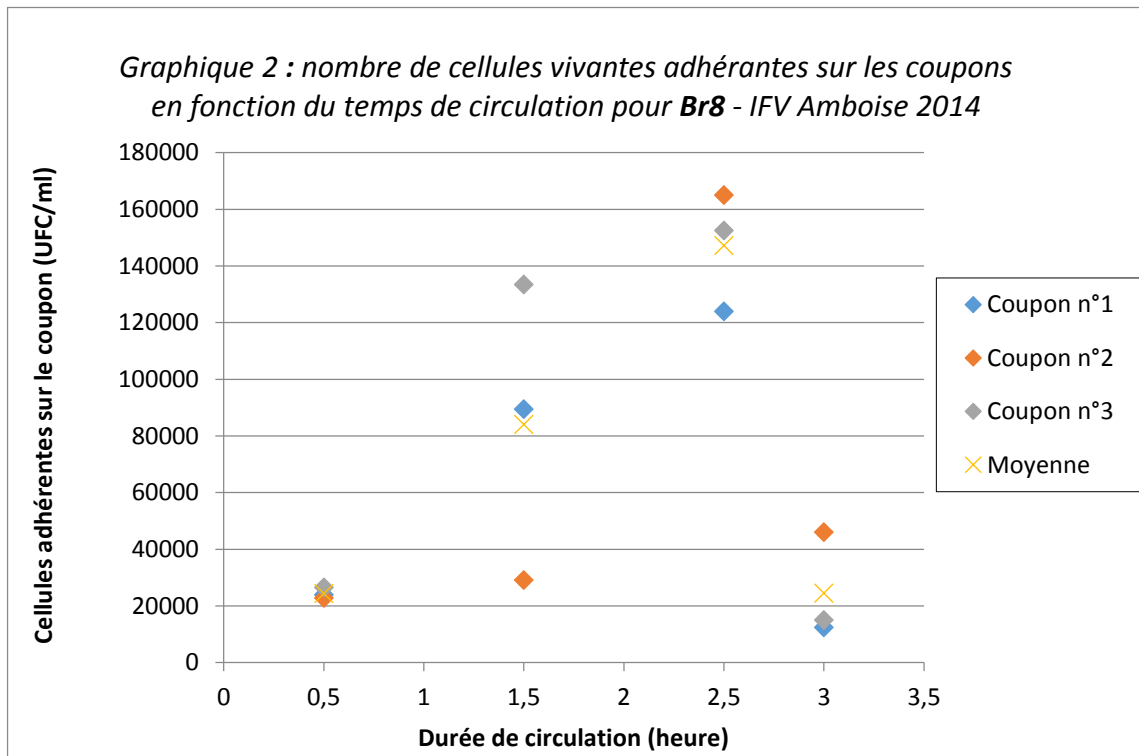
Dans un deuxième temps, dans des conditions dynamiques, sur circuit-test, des cinétiques d'encrassement sont suivies, par mesure des populations adhérentes, dans le temps, à une surface en acier inoxydable 316L (coupon circulaire d'une surface de 3,14 cm²). Grâce à l'incorporation d'un manchon équipé de coupons extractibles (photos 1 et 2), les cellules vivantes et adhérentes, circulant par l'intermédiaire d'un vin synthétique (contenant 10⁶ levures/ml) sont révélées sur milieu gélosé après décrochement par ultra-sons.

Photos 1 et 2 : manchon incorporé dans le circuit-test et coupon extractible incorporé à chacune des faces du manchon.



Les paramètres hydrodynamiques (débit) sont contrôlés et la température du milieu circulant, maîtrisée par une double enveloppe sur la cuve. Pour les trois souches de levures du genre *Brettanomyces* testées (souches au comportement bio-adhésif différent en statique), on note une adhésion importante. Les cinétiques d'adhésion sont, comme en

statique, différentes entre les trois souches (nombre de cellules adhérentes viables cultivables, pic d'adhésion) (graphique 2 : exemple pour l'une des trois souches).



Les pics d'adhésion sont atteints après 1,5, 2 ou 3 heures de circulation, et les niveaux d'adhésion (moyenne sur 3 coupons) sont élevés. Il apparaît également que la nature de la souche influence l'homogénéité de l'adhésion. Ainsi, malgré l'utilisation de la simulation numérique des écoulements lors de la conception du manchon, les populations adhérentes sont, pour une souche en particulier, réparties de façon hétérogène entre les quatre faces.

L'aptitude des souches, sur circuit-test, à « survivre » à une procédure de nettoyage-désinfection est évaluée, par leur capacité à recontaminer les surfaces (coupons en acier inoxydable) après passage d'un vin synthétique stérilisé. Il est alors possible de constater des niveaux de résistance différents (niveau d'adhésion) entre les trois souches à l'origine des recontaminations. Ces différences peuvent également être dues aux caractéristiques de la levure. Cela se confirme quand l'aptitude à « survivre » est évaluée après une procédure optimisée (après démontage et trempage des éléments comme les vannes, joints dans une solution désinfectante avant rinçage et remontage). Le niveau de recontamination plus ou moins rapide reflète alors des comportements bio-adhésifs sensiblement différents (niveau, localisation). Ces résultats sont à confirmer, y compris l'incidence de la procédure d'hygiène sur l'état physiologique des levures.

L'aptitude à l'adhésion est très sensiblement liée à la nature de la souche de levure du genre *Brettanomyces*. Les caractéristiques morphologiques et physiologiques de la souche semblent avoir une incidence directe sur le pouvoir d'adhésion mais également sur la capacité de la souche à résister à une procédure de nettoyage-désinfection, puis à recontaminer un autre vin par l'intermédiaire des surfaces.