

# GUIDE PRATIQUE

## Ammoniums Quaternaires et pratiques de nettoyage et de désinfection en filières laitières et fromagères

Avec la participation de :



Décembre 2014

# Sommaire

1- Préambule : pourquoi ce guide pratique ? .....	3
2- Les ammoniums quaternaires .....	4
2-1 Pourquoi s'intéresser aux ammoniums quaternaires ? .....	4
2-2 Qui sont-ils ? .....	4
2-3 La réglementation .....	5
2-4 Le contexte dans les filières laitières de Franche-Comté.....	6
3- Les ammoniums quaternaires en fromagerie .....	7
3-1 Méthodologie .....	7
3-2 Résultats.....	8
4- Les bonnes pratiques de nettoyage et de désinfection.....	12
4-1 Nettoyer avec «TACT» .....	12
4-2 Nettoyer avec « Sens ».....	13
5- Conclusion.....	16

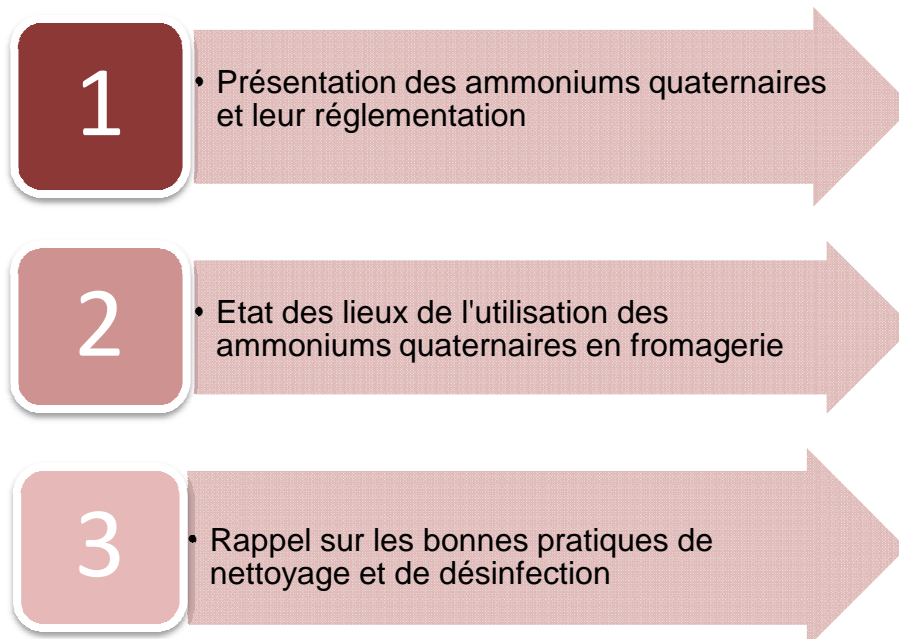
## 1- Préambule : pourquoi ce guide pratique ?

L'objectif de ce guide est de sensibiliser les acteurs des filières laitières et fromagères Franc-Comtoises sur l'usage des produits de nettoyage et de désinfection depuis la production du lait jusqu'à la vente des produits finis pour éviter la présence de résidus, notamment chimiques, dans les produits et co-produits issus des productions et des transformations laitières et fromagères.

Ce document de synthèse a pour objectifs principaux :

- d'apporter un éclairage sur les ammoniums quaternaires ;
- de rappeler les bases sur le nettoyage et la désinfection dans les industries agroalimentaires ;
- d'évoquer les conséquences que peuvent engendrer des négligences dans ce domaine.

Ce guide se compose de trois parties :



## 2- Les ammoniums quaternaires

### 2-1 Pourquoi s'intéresser aux ammoniums quaternaires ?

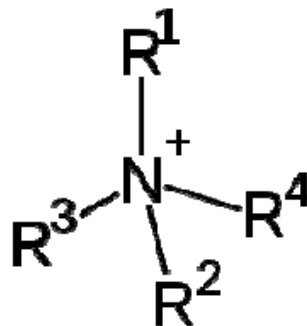
Dans le cadre de l'article 31 du règlement (CE) n°178/2002, la Commission Européenne (CE) a demandé à l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) de recueillir des données de surveillance sur les résidus de chlorure de didécyl diméthyl ammonium (DDAC) et de chlorure de benzalkonium (BAC) dans les aliments et fournir une évaluation statistique des données recueillies selon les lignes directrices du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale (section résidus de pesticide).

Cette étude s'est déroulée entre novembre 2012 et avril 2013 dans 16 Etats membres et en Norvège. Au total, 5472 échantillons ont été analysés (légumes, fruits et coques, denrées d'origine animale, aliments pour bébé, céréales et autres produits végétaux).

5168 échantillons (95%) ne contenaient pas de résidus quantifiables de la substance analysée. Mais le plus grand nombre d'échantillons avec au moins une détection positive a été trouvé dans le lait et les produits laitiers (90/239 échantillons avec des résultats quantifiés). La substance ayant le plus grand nombre de détections positives était le DDAC.

### 2-2 Qui sont-ils ?

Les ammoniums quaternaires (AQ) sont des composés dérivés de l'ammoniac et dans lesquels les 4 ions hydrogène sont remplacés par des groupements « alkyle ». Leur formule générale est  $NR_4^+$  où R est un groupement alkyle.



Ammonium quaternaire

Il existe un très grand nombre de composés d'ammoniums quaternaires. Les composés de l'ion ammonium quaternaire peuvent être utilisés dans de nombreuses applications : comme désinfectants, agents tensioactifs, adoucissants, agents antistatiques.

Lors de la surveillance des résidus chimiques dans les aliments, les analyses positives de détection de composés d'ammoniums quaternaires sont de plus en plus fréquentes. Il s'agit principalement de chlorure de benzalkonium (BAC) et de chlorure de didécyl diméthylammonium (DDAC).

Ces molécules ont des propriétés tensio-actives très intéressantes, c'est pourquoi leur utilisation lors du nettoyage en industrie agroalimentaire est fréquente. Leur excellente propriété désinfectante leur assure également un champ d'utilisation encore plus large dans le secteur de la production alimentaire et laitière en particulier bien que la molécule BAC ne soit pas autorisée en industrie agroalimentaire.

Les molécules d'ammoniums quaternaires peuvent également être employées dans le secteur agricole notamment sur les cultures ou pour la désinfection des locaux.

Ces propriétés sont déjà exploitées largement dans le secteur de l'entretien ménager : nettoyants universels et sanitaires, désinfectants ménagers, détergents pour vaisselle et mains, détergents pour textile. Des certifications comme l'écolabel européen excluent leur utilisation.

Certains composés de l'ion ammonium quaternaire sont inscrits au niveau européen dans la liste des substances que les produits cosmétiques ne doivent pas contenir notamment les molécules de la famille des BAC.

### **2-3 La réglementation**

Les résidus d'ammoniums quaternaires, en particulier le chlorure de didécyl diméthylammonium (DDAC) et le chlorure de benzalkonium (BAC), ont fait l'objet d'une proposition de la commission européenne. Cette proposition, présentée en comité permanent en juin 2014, visait à réviser l'annexe du règlement (CE) N°396/2005 du Parlement Européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales de résidus (LMR) applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.

Jusqu'ici il n'y avait pas de limite fixée pour le DDAC et le BAC. Le règlement 396/2005 prévoyait donc une valeur par défaut pour la teneur maximale en résidus de pesticides dans les aliments de 0,01 mg/kg soit 10 ppb. Cette limite générale était appliquée «par défaut», c'est-à-dire pour tous les cas où une LMR n'a pas été fixée de manière spécifique pour un produit ou un type de produit. Avec la proposition présentée, la LMR est passée de 0.01mg/kg (10ppb) à 0.1mg/kg (100ppb) pour les produits d'origine animale (animaux terrestres), dont le lait, le sérum et les fromages pour chaque famille de molécules.

## 2-4 Le contexte dans les filières laitières de Franche-Comté

En ce qui concerne les préconisations dans les filières AOP de Franche-Comté, l'Union Régionale des Fromages d'Appellation Comtois (URFAC) gère les contrôles du respect des cahiers des charges de chacune des AOP.

Pour l'utilisation des désinfectants, l'approche concerne les élevages et les fromageries.

**En élevage**, la peau des trayons et la surface intérieure du matériel de traite sont des réservoirs de flore microbienne sauvage. Cette flore porte en elle la « signature » des exploitations laitières. Dans les fabrications au lait cru, cette flore se développe au cours de l'affinage et transmet au fromage la spécificité de son terroir d'origine. Il faut donc la préserver par des techniques d'hygiène adaptées à la salissure, à la saison, aux résultats de qualité du lait et surtout par de la prévention, en maintenant les animaux propres notamment.

Ainsi, l'usage de désinfectant sur les trayons avant la traite est interdit tout comme la désinfection du matériel de traite. Néanmoins, la désinfection peut-être autorisée au cas par cas dans des situations particulières et encadrées. La désinfection des lavettes individuelles est recommandée, mais celles-ci doivent être rincées et essorées avant utilisation.

**En fromagerie** comme en élevage, une liste des produits de nettoyage et de désinfection autorisés a été publiée. Les produits contenant des ammoniums quaternaires sont interdits sauf en situation d'urgence où certains produits en contenant peuvent être exceptionnellement autorisés (ex : Divosan QC, Incidin AL, Détergacid 2). L'URFAC n'autorise leur utilisation qu'en cas d'absolue nécessité. Par exemple si l'atelier est touché par une contamination de *Listeria* difficile à éliminer autrement.

L'usage de ces produits n'est pas justifié en fonctionnement normal car il y a un fort risque de détruire l'équilibre de la flore microbienne ambiante. Dans ces conditions, l'URFAC préconise d'exclure absolument l'usage de ces produits pour le nettoyage des circuits et du matériel en contact avec les produits. En cas d'utilisation, il est recommandé de rincer très abondamment le matériel après usage pour éviter le phénomène de rémanence (note URFAC transmise aux producteurs de lait AOP et aux fromageries en mars 2013).

## 3- Les ammoniums quaternaires en fromagerie

### 3-1 Méthodologie

Afin de mieux cerner les teneurs présentes dans le lait, le sérum et les fromages, une sélection d'un échantillon de fromageries représentatif des filières fromagères franc-comtoises a été proposée : 10 sites ont été retenus et étudiés en fonction de leur taille, de leur statut ainsi que de leurs activités :

- petite coopérative (moins de 7 millions de litres par an) ;
- grosse coopérative (plus de 7 millions de litres par an) ;
- fabrication de Comté uniquement ;
- fabrication d'autres produits.

Un travail sur l'élaboration d'une grille d'audit a ensuite été mené pour faciliter les enquêtes sur site. Cette grille a été bâtie sur un modèle ayant déjà fait ses preuves puisque l'un des partenaires du projet l'utilisait pour auditer ses fournisseurs. Cette grille avait plusieurs rôles : elle devait, dans un premier temps, rendre compte de l'utilisation des produits de nettoyage et de désinfection, mais aussi des pratiques de nettoyage et enfin du matériel en place.

Les audits sur le terrain ont pu débuter dès le mois d'avril 2014 pour s'achever en juillet 2014. Parallèlement aux audits sur site, des prises d'échantillons ont été réalisées. Sur chaque site, le même échantillonnage a été effectué :

- lait avant fabrication ;
- sérum en aval des fabrications ;
- fromage en début d'affinage (15 jours environ).

Les échantillons ont ensuite été conservés au congélateur à -30°C. L'objectif était d'analyser la présence ou non de molécules d'ammoniums quaternaires. C'est le laboratoire Eurofins à Nantes qui était chargé de réaliser les analyses sur les échantillons.

Les différents composés d'ammoniums quaternaires recherchés ont été les suivants :

Benzyl diméthyl octyl ammonium chloride (BAC-C8)  
Benzyl diméthyl decyl ammonium chloride (BAC-C10)  
Benzyl diméthyl dodecyl ammonium chloride (BAC-C12)  
Miristalkoniumchloride (BAC-C14)  
Cetalkonium chloride (BAC-C16)  
Benzyl diméthyl octadecyl ammonium chloride (BAC-C18)  
Chlorure de benzethonium  
Benzalkonium chloride (BAC-total)  
Dioctyl diméthyl ammonium chloride (DDAC-C8)  
Didecyl diméthyl ammonium chloride (DDAC-C10)  
Didodecyl diméthyl ammonium chloride (DDAC-C12)  
Diméthyl ammonium chloride (DDAC-total)



Les produits analysés ont été regroupés dans le tableau 1 en fonction des dix sites étudiés.

sites	Lait	Sérum	Fromage
1	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée non cuite	Pâte pressée non cuite (PPNC)
2	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)
3	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)
4	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte molle	Pâte molle (PM)
5	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)
6	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée non cuite	Pâte pressée non cuite (PPNC)
7	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)
8	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)
9	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)
10	Lait cru avant fabrication	Lactosérum de pâte pressée cuite	Pâte pressée cuite (PPC)

Tableau 1 : produits analysés sur les 10 sites de transformation étudiés.

### 3-2 Résultats

L'ensemble des résultats d'analyses sur les échantillons de lait, de sérum et de fromage de chacun des 10 sites étudiés sont regroupés dans le tableau 2. La limite de détection des analyses est définie à 0.003 mg/kg.

Ce que l'on peut constater :

- Il n'y a pas de résidus d'ammoniums quaternaires BAC ou DDAC dans les laits et sérums analysés.
- En ce qui concerne les fromages, on constate une détection systématique du DDAC C10. La LMR, selon le règlement (CE) 396/2005 non révisé (0.01mg/kg), est dépassée dans 3 cas (sites 5, 8 et 10).
- Pour les sites 8 et 10 nous avons une combinaison des molécules présentes, BAC C12 + DDAC C10 pour le site 8 et BAC C12 + BAC C14 + DDAC C10 pour le site 10.
- En fonction de l'évolution réglementaire de la fin d'année 2014 qui a fait passer la limite maximale de résidus (LMR) à 0.1 mg/kg, l'ensemble des résultats de cette étude sont inférieurs à cette nouvelle LMR.



sites	Lait (mg/kg)		Sérum (mg/kg)		Fromage (mg/kg)		
	BAC	DDAC	BAC	DDAC	BAC C14	BAC C12	DDAC C10
1	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,010
2	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,005
3	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,003
4	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,005
5	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,022
6	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,003
7	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,005
8	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,003	0,038
9	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,006
10	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	0,005	0,019	0,008

Tableau 2 : résultats d'analyses des échantillons prélevés sur les 10 sites étudiés.

Les analyses des pratiques en terme de nettoyage et de désinfection dans les différents ateliers visités n'ont pas permis de faire des corrélations avec la présence de résidus d'ammoniums quaternaires dans les produits finis. En effet, lors de nos visites mais également lorsque l'on détaille les plans de nettoyage des sites, nous n'avons pas relevé l'utilisation de produits à base d'ammoniums quaternaires qui pourraient contaminer directement les produits. Les seuls produits à base d'ammoniums quaternaires rencontrés sur les sites sont les produits de nettoyage des mains.

Une hypothèse peut toutefois être formulée au sujet de la présence de résidus d'AQ dans les fromages. L'effet de concentration du lait lors de la fabrication des fromages peut expliquer la détection constatée. Ce qui suggère une présence non détectable mais existante et en dessous du seuil analytique dans le lait et dans le sérum. L'effet de concentration semble donc rendre détectable un résiduel d'AQ dans les fromages. Le type de technologie fromagère dont l'effet de concentration varie (PPC>PPNC>PM) ne semble pas concerné mais notre faible nombre d'échantillons ne peut pas nous permettre de l'affirmer. Toutefois, la présence détectable d'AQ à plus de 10 ppb (0.01 mg/kg) dans les poudres de lait infantile avait déjà été mentionnée par le CNIEL, ce qui suggère bien un effet de concentration probable.

La question de l'origine de cette concentration résiduelle reste donc posée.

L'absence de l'utilisation de produits à base d'AQ dans les fromageries enquêtées suggère que la présence détectée dans les fromages n'a pas pour origine l'utilisation de produits de nettoyage en contenant officiellement dans les fromageries. Par contre, il n'est pas possible de contrôler leur utilisation dans les élevages laitiers collectés par les fromageries suivies. Même si l'URFAC préconise la non utilisation de produits de nettoyage à base d'AQ, il n'est pas impossible que certains élevages en utilisent malgré tout. Si à cela s'ajoute de mauvaises pratiques de rinçage, il n'est pas impossible qu'une concentration non nulle se retrouve dans le lait puis dans les fromages.

Les travaux sur les biocides du CNIEL semblent donner quelques indices sur ce sujet. Une enquête effectuée dans 40 élevages de l'ouest, du nord et du centre de la France, sélectionnés pour leur tendance à utiliser de façon avérée ou supposée des ammoniums quaternaires, montre que 30 élevages sur les 40 utilisent des produits avec des AQ.

Aucune trace résiduelle d'AQ (BAC ou DDAC) n'a été détectée dans le lait des élevages utilisant des produits sans AQ.

Par contre l'utilisation de certains biocides, contenant des AQ, notamment pour la désinfection des bâtiments et le soin des trayons avant la traite (lingettes pré-imbibées, solution de pré-trempage) entraîne des résultats d'analyses BAC et DDAC positifs comme le montre le tableau 3.

Site	Usages déclarés du biocide avec AQ	DDAC	BAC	Résultats sur lait
19	Lingettes pré-imbibées pour le nettoyage des trayons avant la traite		X	BAC $C_{12}$ = 0.005 mg/kg
24	Désinfection des bâtiments		X	BAC $C_{12}$ = traces
25	Lingettes pré-imbibées pour le nettoyage des trayons avant la traite		X	BAC $C_{12}$ = 0.005 mg/kg
26	Trempage des trayons avant la traite	X		DDAC $C_{10}$ = 0.012 mg/kg

Tableau 3 : résultats d'analyses des échantillons de lait cru en tank prélevés dans des fermes utilisant des produits de nettoyage et de désinfection à base d'AQ.

Il semble donc exister des sources potentielles de contamination du lait dans les exploitations laitières. Cette conclusion pose cependant la question d'un seuil non détectable qu'il aurait fallu lever en effectuant par exemple une lactocoagulation du lait permettant un effet de concentration (prendre un lait emprésuré et le faire caillé en tube à essai pour en extraire uniquement le caillé). Une méthode de séparation membranaire serait encore plus adaptée pour créer cet effet de concentration avant analyse.

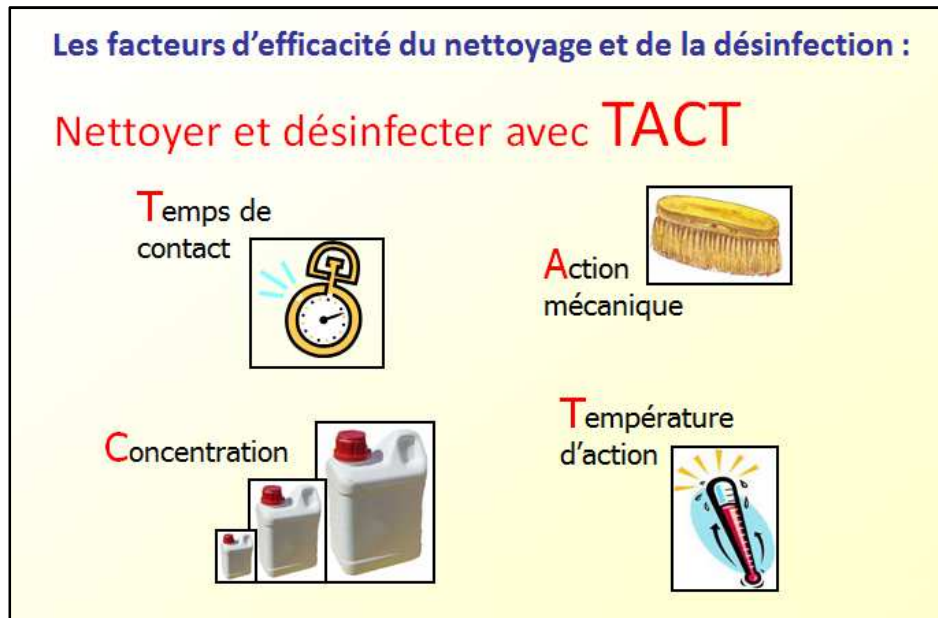
Toutefois, la seule explication plausible de nos résultats positifs sur les fromages réside dans l'utilisation probable de produits de nettoyage contenant des AQ sur le matériel en contact avec le lait et/ou les fromages :

- produits de pré-trempe ou lingette pré-imbibées sur le pis des vaches,
- produits de nettoyage-désinfection des installations de traite, tank à la ferme, tuyauterie et camion de ramassage, tank et tuyauterie à la fromagerie,
- produits de nettoyage-désinfection des installations de transformation de la fromagerie,
- produits de nettoyage-désinfection des moules, des supports de pose et d'affinage des fromages et/ou des robots de frottage des fromages.

Une enquête plus poussée semble nécessaire pour confirmer ces pistes. L'idée d'effectuer une concentration du lait par lactocoagulation ou autres méthodes spécifiques pourrait permettre d'améliorer la détection de cas de contamination en dessous du seuil de détection analytique. Des essais semblent nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

## 4- Les bonnes pratiques de nettoyage et de désinfection

### 4-1 Nettoyer avec « TACT »



**T**emps de contact souvent surévalué par précaution : il est nécessaire de définir le temps « juste » pour nettoyer efficacement sans surconsommation de produits, d'eau, d'énergie et de temps.

**A**ction mécanique en fonction du matériel : vérifier l'efficacité des brossages manuels, des pressions ou vitesses de circulation des produits dans les tuyauteries, de l'agitation des bacs de trempage.

**C**oncentration : à adapter pour obtenir des résultats satisfaisants sans surconsommer de produits pour des résultats non améliorés, une perte financière, un rinçage plus délicat, des risques de traces, des problèmes de rejets dans l'environnement.

**T**empérature d'action : adaptée pour abaisser la tension superficielle des liquides, ramollir les souillures, affecter la viabilité des micro-organismes nuisibles, augmenter la vitesse des réactions chimiques sans dépasser la résistance thermique des matériaux, la cuisson des souillures et le danger de brûlure pour les nettoyages manuels

## 4-2 Nettoyer avec « SENS »

### Critères de choix et d'efficacité des produits

Les produits se choisissent avec bon **SENS**:

**S: Souillures** => Type de souillure (tartre, matière grasse...)

**E: Eau** => Dureté, qualité de l'eau

**N: Nettoyage** => Mode de nettoyage (mécanique, manuel, trempage...)

**S: Support** => Type de support (inox, plastique...)

**Souillure** : identifier les types de souillures à éliminer, organiques ou minérales et privilégier des détergents alcalins pour des souillures organiques et des détergents acides pour des souillures minérales.

**Eau** : utiliser un détergent adapté à la dureté de l'eau qui peut réduire son efficacité. Une eau dure nécessite l'utilisation de complexant.

**Nettoyage** : définir la méthode de nettoyage en fonction de l'équipement à nettoyer, du type de surface et de l'état de l'encrassement :

- par brossage
- en aspersion
- en immersion
- par application de mousse
- en circuits fermés.

**Support** : utiliser un détergent adapté à la surface de contact pour éviter la corrosion des métaux et la dégradation des matières plastiques.

Un plan de nettoyage et de désinfection (PND) doit faire figurer l'ensemble des pratiques associées à chaque zone et matériel de l'entreprise qui précise les surfaces et matériels à nettoyer, les produits à utiliser, la dose, la fréquence définie en interne, le mode opératoire et la personne responsable du suivi.

Par ailleurs, il est indispensable de **vérifier l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection.**

Il faut vérifier que les objectifs du nettoyage et/ou de la désinfection et les valeurs cibles associées sont atteints. Ce peut-être, selon les cas :

- l'absence de résidus par une vérification visuelle,
- l'absence de résidus de détergents et/ou désinfectants par contrôle du pH, test d'acidité,...
- le respect des seuils de contamination microbiologique par des analyses selon un plan d'échantillonnage représentatif,
- la non détection de résidus d'ingrédients allergènes par test immunologique ou par méthode PCR sur l'eau de rinçage ou, dans le cas d'un nettoyage à sec, sur le début de la production suivante.

Les moyens de contrôles peuvent être les suivants :

- Des tests colorimétriques par écouvillonnage pour le contrôle de l'efficacité du nettoyage (indicateurs de résidus de protéines, de matières organiques ou de bactéries spécifiques),
- Des tests par écouvillonnage des surfaces et analyses microbiologiques classiques (temps de réponse de 1 à plusieurs jours selon les bactéries analysées) ou par ATP-métrie (temps de réponse immédiate mais sans approche du type de bactéries et à ne pas utiliser en milieu contenant des cellules végétales comme en élevage).

## Les moyens de contrôles des surfaces ouvertes

Contrôle du nettoyage : tests rapides /qualitatifs



Traces de protéines



## Les moyens de contrôles des surfaces ouvertes

Contrôle de la désinfection :

Méthodes directes :



Boîtes contact



Lames gélosées

Méthodes par prélèvement puis dénombrements



écouvillons



chiffonnettes



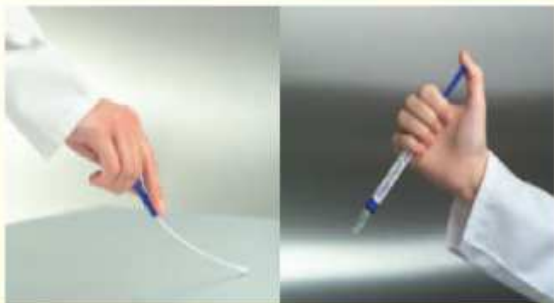
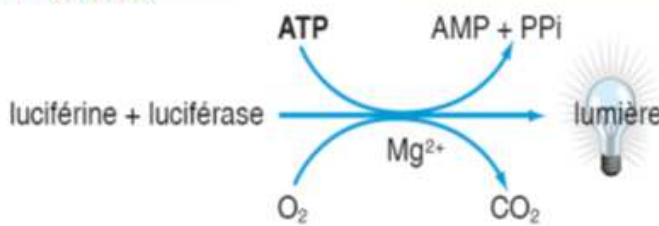
éponge

Une fois prélevés, les microorganismes sont cultivés puis dénombrés et/ou identifier. Milieux spécifiques ou non



## Moyens de contrôles des surfaces ouvertes

L'ATP-métrie



Réponses instantanée



## 5- Conclusion

Nous avons constaté au cours de cette étude que des résidus d'ammoniums quaternaires (AQ) peuvent se trouver sur les fromages. Durant le temps et avec les moyens qui étaient à notre disposition, nous n'avons pas pu clairement établir la source de la contamination chimique des produits.

La piste d'une utilisation de produits contenant des AQ à l'échelle des élevages laitiers reste une piste à confirmer.

L'utilisation d'une méthode de concentration du lait par lactocoagulation en petit volume par exemple permettrait de vérifier aussi l'hypothèse d'une absence d'autres sources de contamination en AQ que les produits de nettoyage ou de désinfection.

Car en supposant le respect de l'interdiction de leur utilisation dans les élevages produisant du lait pour les AOP franc-comtoises, nos résultats semblent suggérer que d'autres sources de contamination pourraient exister. Par exemple en lien avec l'alimentation ou l'environnement des animaux ou sur l'ensemble du matériel en contact avec le lait après sa sortie du pis des vaches laitières, sur le caillé ou sur les fromages (installation de traite, tank à la ferme, tuyauterie et camion de ramassage, tank et tuyauterie à la fromagerie, matériel de transformation, support de pose et d'affinage des fromages, robot de frottage).

Dans ces conditions, et même si ces contaminations restent faibles, une vigilance accrue sur le sujet reste nécessaire. En effet, une présence même inférieure à la LMR doit nous alerter pour essayer de définir les sources de contamination.



**ENIL : Ecole Nationale d'Industrie Laitière**

Grande Rue  
25620 Mamirolle  
Tél : 03 81 55 92 00  
[www.enil.fr](http://www.enil.fr)