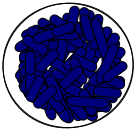


La microbiologie prévisionnelle ou Modélisation du développement microbien dans un aliment



Contexte historique

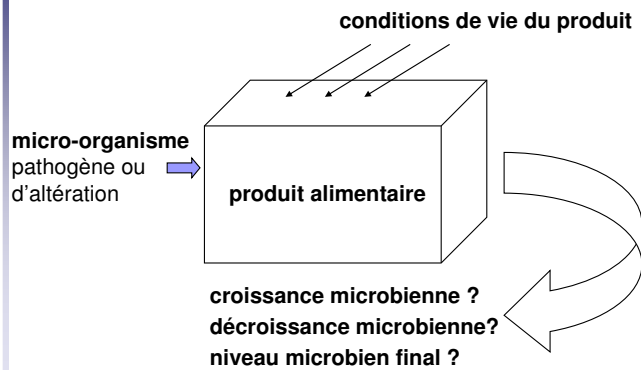
- Années 1920
modèles simples d'inactivation thermique
- Années 1980
nombreux modèles de croissance et de décroissance (naissance de la "Microbiologie Prévisionnelle")
- Années 1990
utilisation de ces modèles en appréciation des risques

Marie Laure Delignette-Muller, VetAgro Sup

2



Objectifs de la microbiologie prévisionnelle





Marie Laure Delignette-Muller, VetAgro Sup

3



Aliments

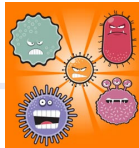
- Produits frais et prêts à consommer
traitements thermiques réduits
peu ou pas de conservateur 
- Produits d'origine animale
poisson, viande, lait, fromage, ... 
- facteurs de croissance intrinsèques :
nutriments, pH, aw, structure,
conservateurs ...

Marie Laure Delignette-Muller, VetAgro Sup

4



Micro-organismes



■ Micro-organismes pathogènes

Listeria monocytogenes, *Escherichia coli* O157:
H7, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*,
Bacillus cereus, *Clostridium* spp, *Yersinia*
enterocolitica, *Campylobacter* spp, ...

■ Micro-organismes d'altération

Pseudomonas spp, *Enterobacter* spp,
Brochothrix thermosphacta, *Bacillus*
stearothermophilus, ...



Conditions de vie du produit

- **Historique thermique**
conditions de conservation
traitements thermiques 
 - **Atmosphère gazeuse**
atmosphère modifiée
sous vide 
- = facteurs de croissance extrinsèques

Marie Laure Delignette-Muller, VetAgro Sup

5

Marie Laure Delignette-Muller, VetAgro Sup

6



Pourquoi modéliser ?

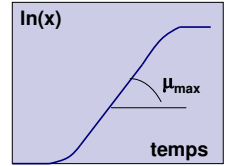
- **Développement microbien dans les aliments**
 - un problème très complexe
- **Traditionnels tests de croissance**
 - lents
 - coûteux
 - résultats valables uniquement sur l'aliment étudié dans les conditions étudiées
- **Modéliser pour**
 - mieux comprendre les phénomènes biologiques
 - prévoir le développement microbien à partir des principaux facteurs environnementaux



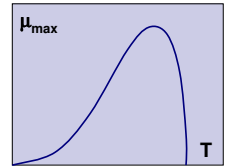
Niveaux de modélisation

- **Niveau primaire**
Evolution du nombre de micro-organismes en fonction du temps
- **Niveau secondaire**
Effet des facteurs environnementaux sur les paramètres des modèles primaires

Exemple



Exemple



Objectifs pédagogiques

- **Comprendre la démarche de modélisation de la croissance ou de la survie microbienne**
- **Découvrir quelques outils intégrant ces modèles**
- **Découvrir quelques applications de ces outils**



Plan

1. Les modèles primaires
2. Les modèles secondaires
3. Les applications des modèles



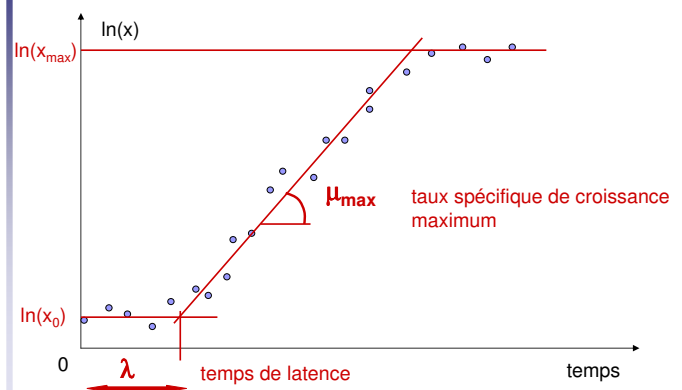
Plan

1. Les modèles primaires
2. Les modèles secondaires
3. Les applications des modèles



Caractérisation d'un cinétique de croissance

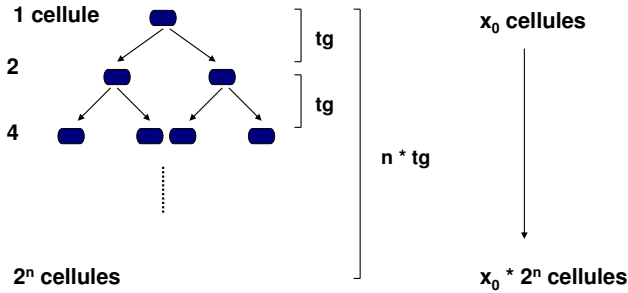
1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications





Hypothèses biologiques croissance exponentielle

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Le modèle exponentiel

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications

après $n * tg$: $x = x_0 * 2^n$
 $= x_0 * 2^{(t/tg)}$

- $\ln(x) = \ln(x_0) + (t/tg)\ln(2) = \ln(x_0) + \mu_{max} t$
avec $\mu_{max} = \ln(2)/tg$

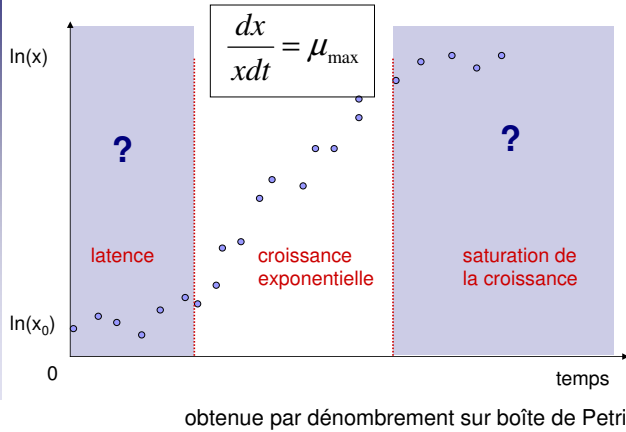
- $x = x_0 \exp(\mu_{max} t)$

- formulation différentielle: $\frac{dx}{xdt} = \mu_{max}$



Exemple de cinétique de croissance

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Exemple du modèle de Baranyi (1994)

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications

$$\frac{dx}{xdt} = \mu_{max} \alpha(t) f(x)$$

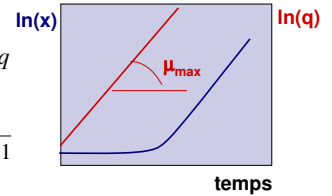
adaptation freinage

avec $x(t=0) = x_0$

■ adaptation (latence)

$$\alpha(t) = \frac{q(t)}{1+q(t)} \quad \text{avec} \quad \frac{dq}{dt} = \mu_{max} q$$

et $q(t=0) = q_0 = \frac{1}{\exp(\mu_{max} \lambda) - 1}$



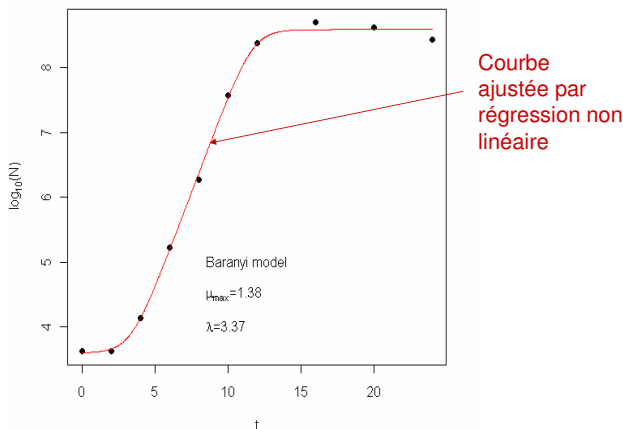
■ freinage (saturation)

$$f(x) = \left(1 - \frac{x}{x_{max}}\right)$$



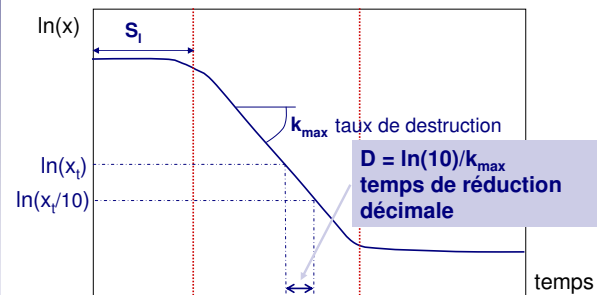
Ex. d'ajustement sur un jeu de données

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Modèles de survie

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Approche de modélisation très similaire



Exemple du modèle de Geeraerd (2000)

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

$$\frac{dx}{xdt} = -k_{\max} \underbrace{\alpha(t)}_{\text{épaulement}} \underbrace{f(x)}_{\substack{\text{concentration} \\ \text{résiduelle}}} \quad \text{avec} \quad x(t=0) = x_0$$

- Epaulement (S_f : shoulder) avant décroissance exponentielle

$$\alpha(t) = \frac{1}{1 + C_c(t)} \quad \text{avec} \quad \frac{dC_c}{dt} = -k_{\max} C_c$$

$$\text{et} \quad C_c(t=0) = \exp(k_{\max} S_f) - 1$$

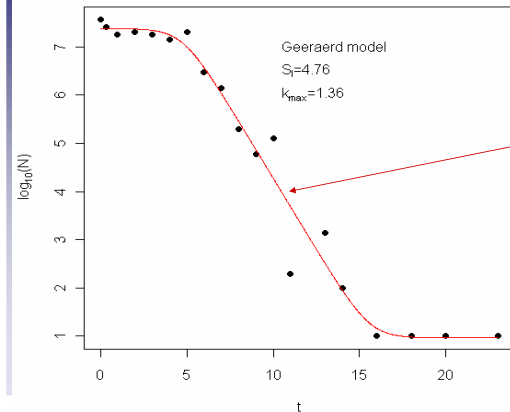
- Concentration résiduelle (x_{res})

$$f(x) = 1 - \frac{x_{res}}{x}$$



Ex. d'ajustement sur un jeu de données

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications



Courbe ajustée par régression non linéaire



A retenir

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Modèles primaires

- décrivent les cinétiques de croissance ou de survie d'une population microbienne
- permettent d'estimer les paramètres de croissance ou de survie
 - taux spécifique de croissance maximum μ_{\max}
 - temps de latence λ
 - temps de réduction décimale D
 - ...



Plan

1. Les modèles primaires
2. Les modèles secondaires
3. Les applications des modèles



Modèle secondaire

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Effet des facteurs environnementaux (T, pH, aw ou NaCl, ...)

Sur les paramètres de croissance μ_{\max} , λ ou de survie D

Exemple de l'effet de la température T



Modèle « racine carrée »

Ratkowsky et al., 1982

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

augmentation linéaire de $\sqrt{\mu_{\max}}$ avec la température

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b * (T - T_{\min})$$

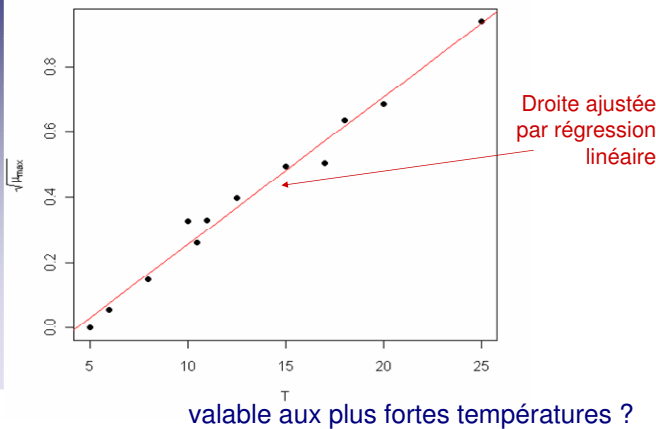
T_{\min} : température minimale de croissance



Modèle « racine carrée »

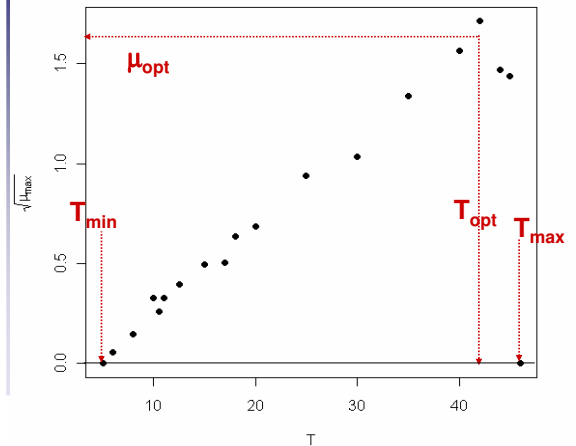
Ratkowski *et al.*, 1982

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Tendance sur une gamme de température plus étendue

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Ex. du modèle des T cardinales

Rosso *et al.*, 1993

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications

pour $T_{min} < T < T_{max}$,

$$\mu_{max}(T) = \mu_{opt} \gamma(T)$$

$$\gamma(T) = \frac{(T - T_{max})(T - T_{min})^2}{(T_{opt} - T_{min}) [(T_{opt} - T_{min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{max})(T_{opt} + T_{min} - 2T)]}$$

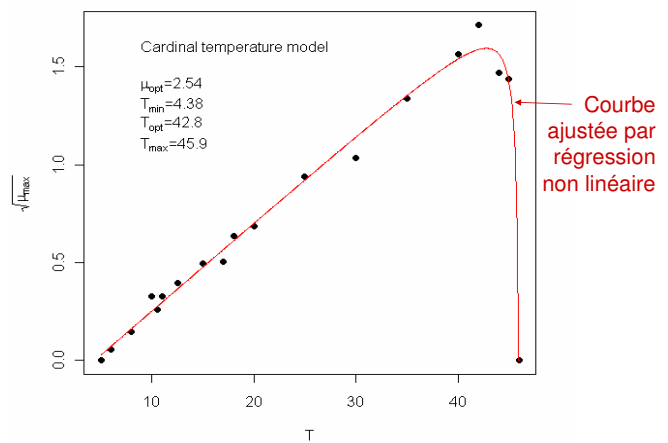
pour $T < T_{min}$ ou $T > T_{max}$,

$$\mu_{max}(T) = 0$$



Ex. d'ajustement sur un jeu de données

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications



Modélisation du temps de latence

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications

■ Paramètre plus difficile à modéliser

Influence du passé de la population microbienne et de sa taille

Effet

- de l'état physiologique initial
- de l'écart entre les conditions de culture et les conditions de préculture
- du nombre initial de cellules
variabilité de la latence cellulaire ayant plus d'impact pour des faibles inoculums

■ Différentes approches de modélisation

Modèles en cours de développement

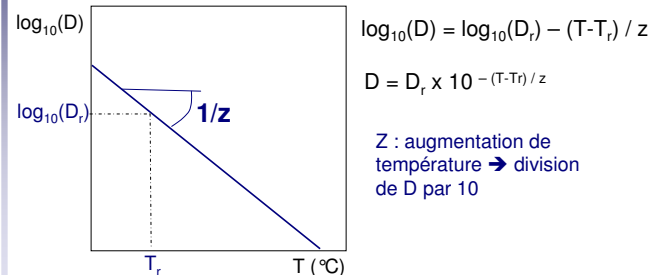


Modélisation du temps de réduction décimale

- 1. Modèles primaires
- 2. Modèles secondaires
- 3. Applications

■ Modélisation de la température

Modèle de Bigelow (1961)



■ Quelques modèles décrivant l'effet d'autres facteurs



A retenir

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Modèles secondaires

- décrivent l'effet des facteurs environnementaux (T, pH,...) sur les paramètres de croissance ou de survie (μ_{\max} , λ , D)
 - μ_{\max} : de nombreux modèles
 - λ : difficile à modéliser
 - effet du nombre de cellules et de leur état initial
 - D : modèles de destruction thermique essentiellement



Plan

1. Les modèles primaires
2. Les modèles secondaires
3. Les applications des modèles



Une aide pour

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

- estimer les DLC ou DLUO
- développer de nouveaux produits microbiologiquement stables
- définir les traitements thermiques (ex.: barèmes de pasteurisation)
- mettre en place une démarche HACCP
- évaluer l'exposition dans le cadre de l'évaluation des risques



Simulations dans l'aliment

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

- Modèles construits à partir de cinétiques obtenues
 - en milieu nutritif de laboratoire
 - en milieu liquide
 - en culture pure (sans flore annexe)
- Peut-on utiliser ces modèles pour prévoir le développement de micro-organismes dans les aliments?
 - Calage du modèle possible à partir de quelques cinétiques obtenues dans l'aliment
 - Travaux de recherche en cours sur l'effet de la structure de l'aliment et de la flore annexe



Simulations en conditions environnementales variables

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

- Modèles construits à partir de cinétiques obtenues
 - en conditions environnementales constantes
- Peut-on utiliser ces modèles lorsque les facteurs environnementaux varient?
 - oui
 - En supposant une adaptation immédiate aux conditions environnementales à tout instant
 - Valable tant que les variations ne sont pas trop brutales
 - En intégrant numériquement les équations différentielles décrivant les modèles primaires, dans lesquels les paramètres varient en fonction des facteurs environnementaux



Logiciels de simulation disponibles

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

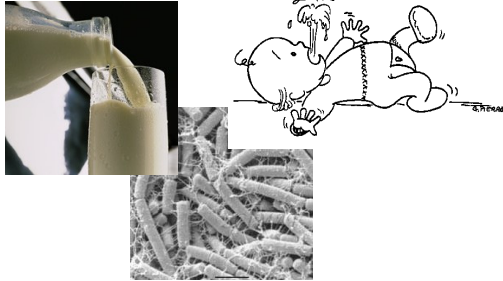
- Logiciels d'accès libre
 - Pathogen Modeling Program (US)
 - ComBase Predictor (UK)
 - ...
- Logiciel d'accès payant
 - Sym'Previus (France)



Exemple 1

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Simulation de la croissance de *Bacillus cereus* dans du lait pasteurisé depuis la pasteurisation jusqu'à la consommation



Choix des modèles et paramètres

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

- Modèle secondaire: racine carrée

$$\sqrt{\mu} = b(T - T_{\min})$$

- données de la littérature : $T_{\min} = 0^{\circ}\text{C}$ (psychrophiles)
 - cinétique à 30°C dans du lait pasteurisé : $\mu_{30^{\circ}\text{C}} = 1.13 \text{ h}^{-1}$
- Calage du modèle : estimation de $b = \dots$

- Modèle primaire: exponentiel ($\lambda=0$, pire cas)

$$\log_{10}x = \log_{10}x_0 + \mu/\ln(10) * d$$

= ...

$$\Delta \log_{10}x = \dots$$

pour chaque étape caractérisée par d et T

- Contamination initiale (x_0): 1 UFC/ml (pire cas)



Une simulation

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

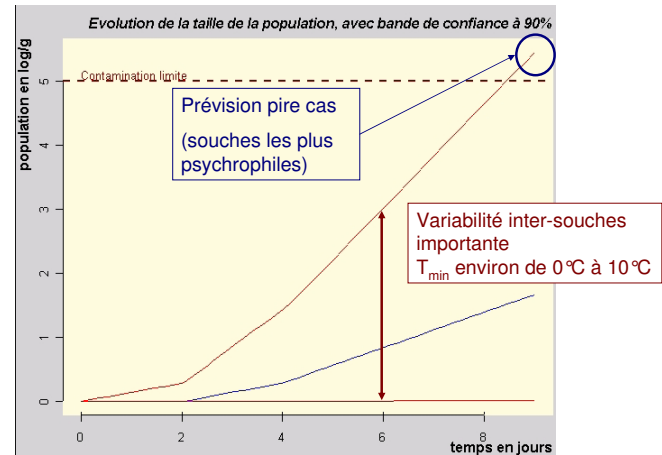
Phase	T°C	durée (jours)	durée (heures)	$\log_{10}x$
usine	4	2
distributeur	7	2
consommateur	8	5



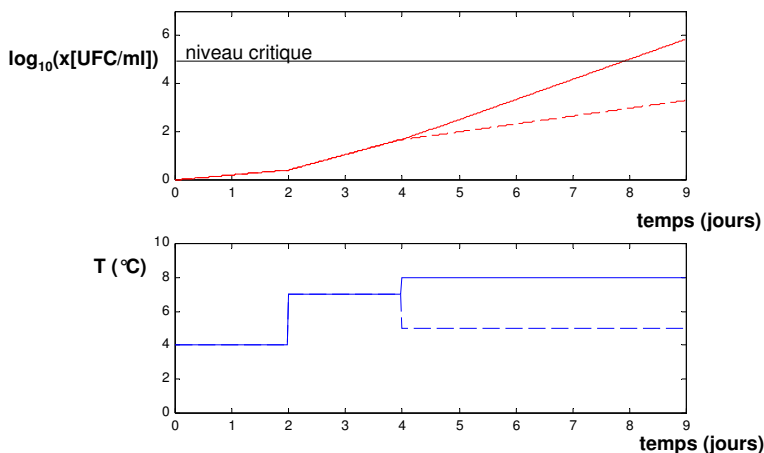
Simulations Sym'Previus

avec variabilités inter-souches

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications



2 simulations "pire cas" à différentes T° de conservation



Effet de la température de conservation sur la DLC

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

- Durée de conservation chez le consommateur d_{crit} conduisant au niveau critique $\log_{10}x_{\text{crit}}=5$ en fonction de la température du frigo T_{frigo} en supposant les deux 1^{ères} phases identiques

$$\log_{10}x_{\text{crit}} - \log_{10}x_{\text{dist}} = \dots$$

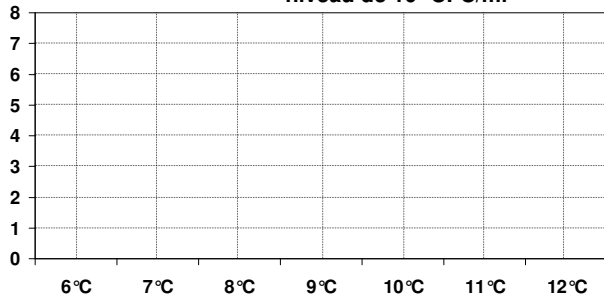
$$d_{\text{crit}} = \dots$$



Effet de la température de conservation sur la DLC

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Durée de conservation au frigo (jours) donnant un niveau de 10^5 UFC/ml



Température de conservation chez le consommateur



Exemple 2

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Risque lié à *listeria monocytogenes* : durée raisonnable de conservation de rillettes en fonction de leur température de stockage



Ce sera à vous de jouer !



Indicateurs temps température (ITT)

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

- Indicateurs physiques ou chimiques
 - Ex.: basé sur une **réaction enzymatique** modélisable (modèle t-T proche de la croissance microbienne) et induisant une **coloration** quantifiable
- Indicateurs biologiques
 - Ex.: croissance de bactéries lactiques qui en croissant abaissent le pH du milieu, induisant une **coloration** de ce milieu
- Indicateurs électroniques (plus cher)



Ex.: utilisation des ITT en distribution

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

une nouvelle vision de la fraîcheur



Si bonne conservation
TRACEO® est transparent,
le produit est frais,
le code-barres passe en caisse.

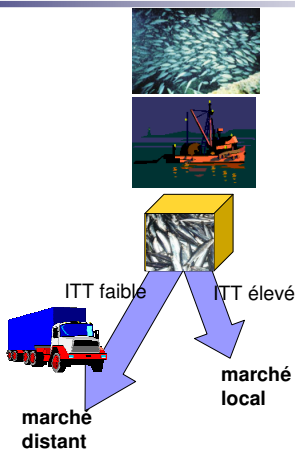


Si mauvaise conservation
TRACEO® est rose,
le produit n'est plus consommable,
le code-barres est voilé
et ne passe plus en caisse.



Ex.: ITT pour la distribution des poissons pêchés en mer

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications



Méthode SMAS
Koutsoumanis et al., 2005



A retenir

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

Applications

- Applications logicielles
 - Logiciels de simulation
 - Outils plus complets permettant des prévisions dans l'aliment pour des conditions environnementales variables
- **Prise en compte des sources d'incertitude et de variabilité recommandée**
- Indicateurs Temps Température
- ➔ Aide pour la maîtrise des dangers microbiologiques



Conclusions

- La microbiologie prévisionnelle constitue un outil d'intérêt pour aider à la maîtrise des dangers en complément aux méthodes plus classiques
- Quelques défis à relever en modélisation
 - de la latence
 - des interactions microbiennes
 - des effets de la structure de l'aliment
 - ...