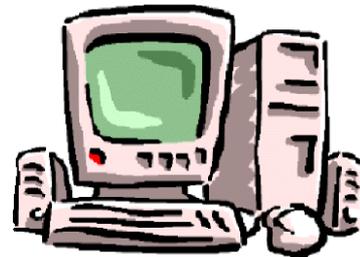
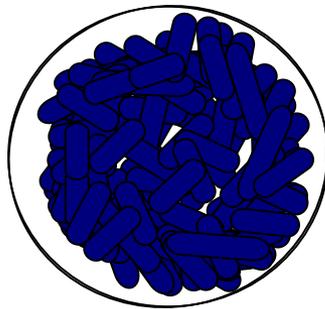


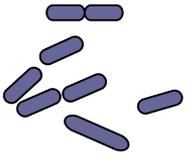


VetAgro Sup

La microbiologie prévisionnelle ou Modélisation du développement microbien dans un aliment

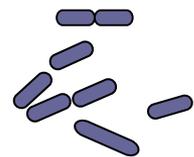
septembre 2011



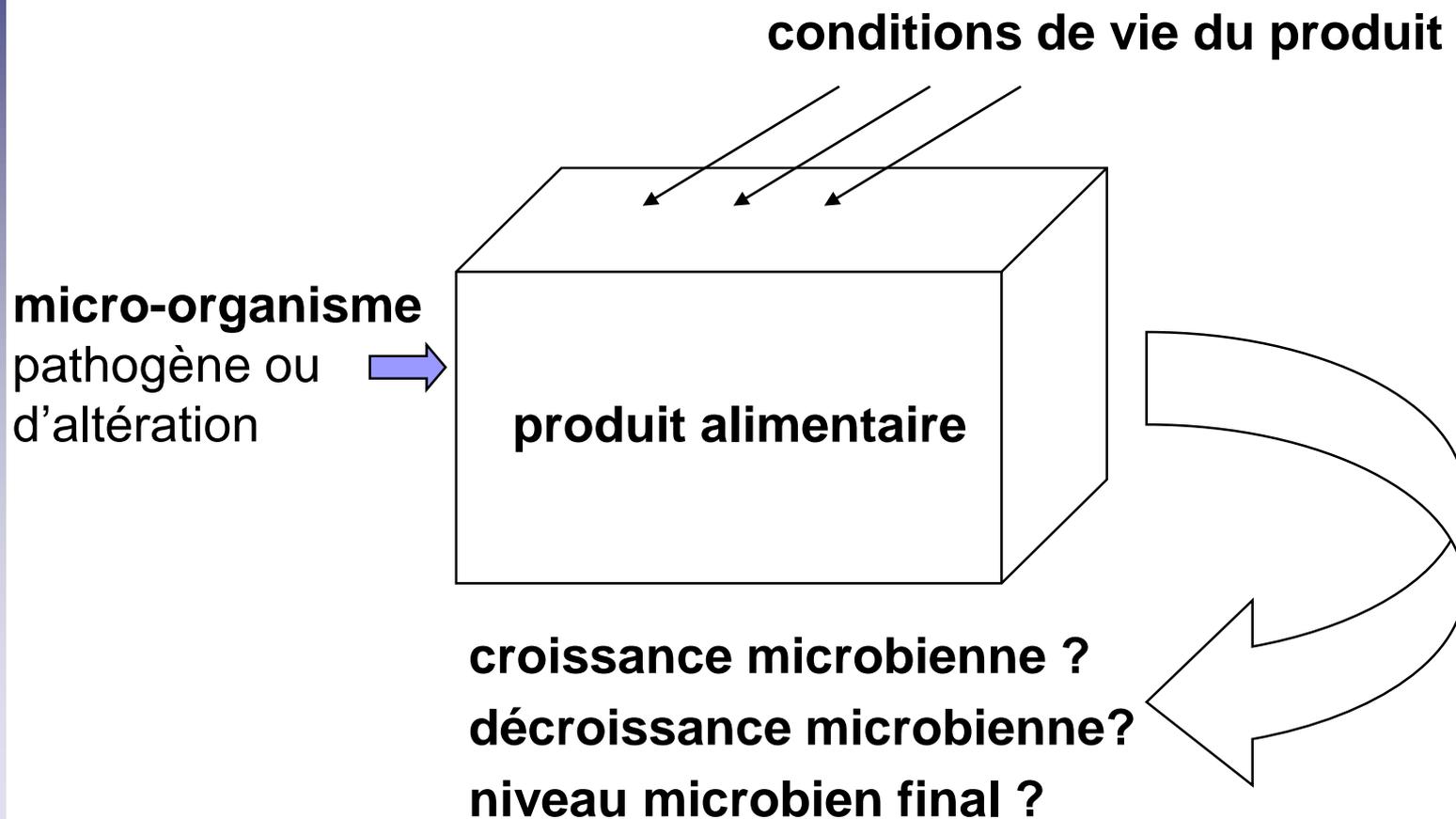


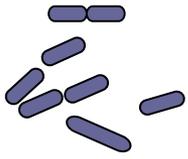
Contexte historique

- 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



Objectifs de la microbiologie prévisionnelle





Aliments

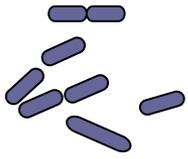
- Produits frais et prêts à consommer
traitements thermiques réduits
peu ou pas de conservateur



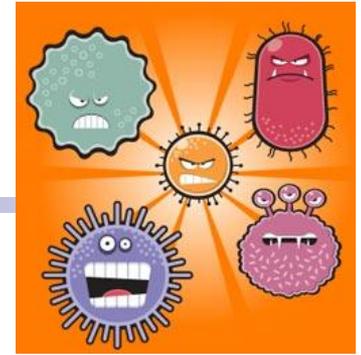
- Produits d'origine animale
poisson, viande, lait, fromage, ...



- facteurs de croissance intrinsèques :
nutriments, pH, aw, structure,
conservateurs ...



Micro-organismes

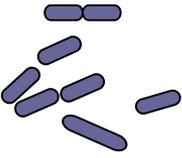


■ Micro-organismes pathogènes

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

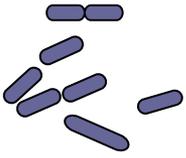


- **Atmosphère gazeuse**

 - atmosphère modifiée
 - sous vide

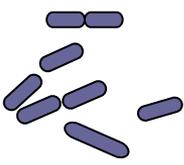


= facteurs de croissance extrinsèques



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

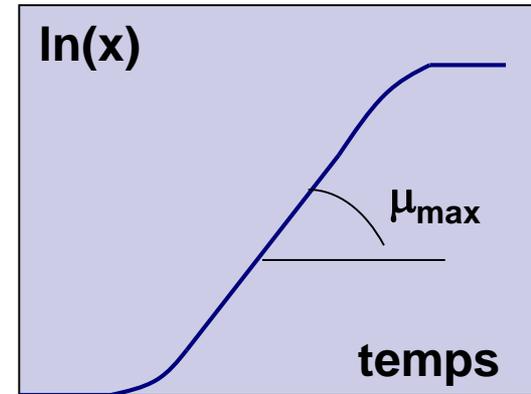


Niveaux de modélisation

■ Niveau primaire

Evolution du nombre de micro-organismes en fonction du temps

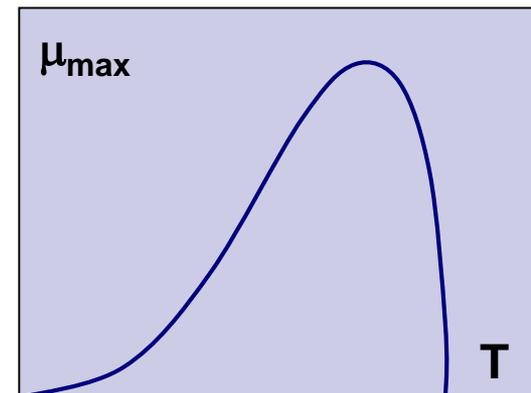
Exemple

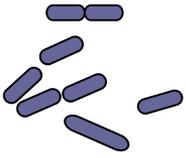


■ Niveau secondaire

Effet des facteurs environnementaux sur les paramètres des modèles primaires

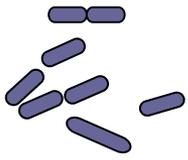
Exemple





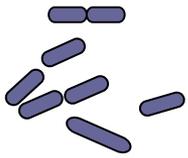
Objectifs pédagogiques

- **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**



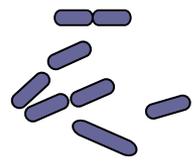
Plan

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



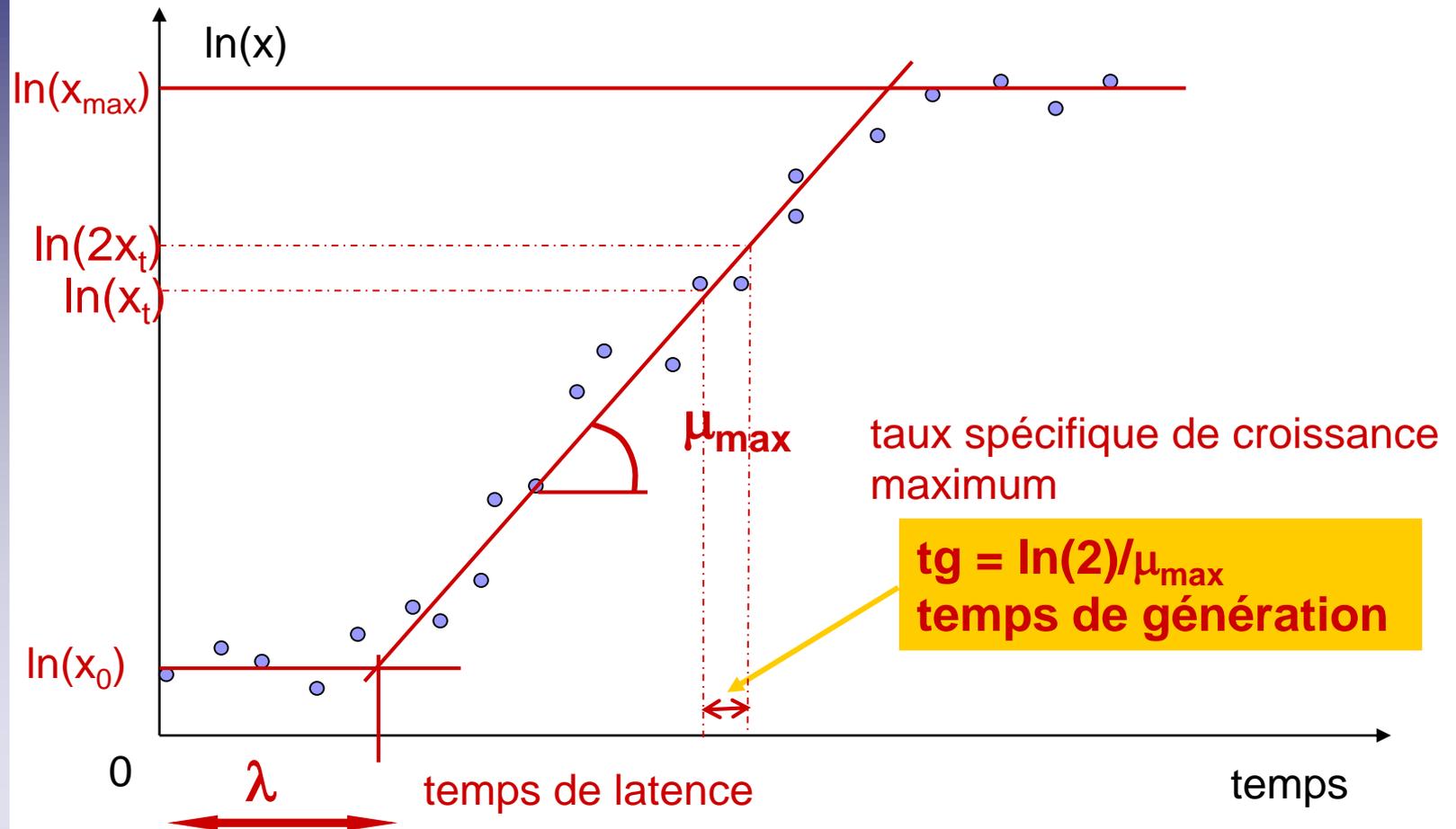
Plan

- 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



Exemple du modèle de Baranyi (1994)

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

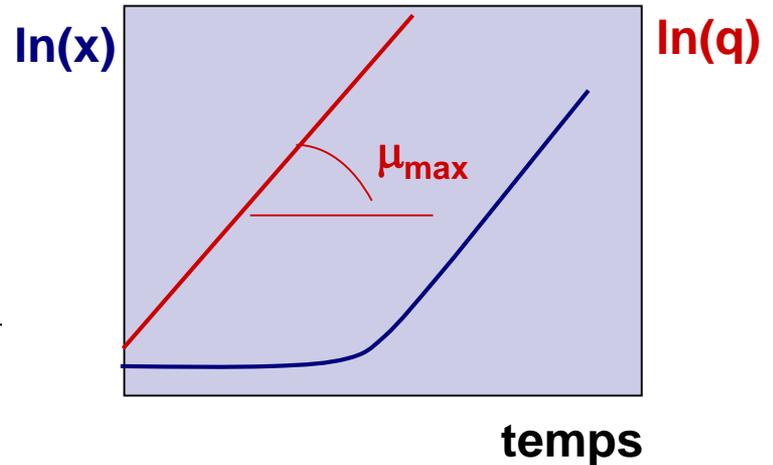
$$\frac{dx}{xdt} = \mu_{\max} \alpha(t) f(x) \quad \text{avec} \quad x(t=0) = x_0$$

adaptation freinage

■ adaptation (latence)

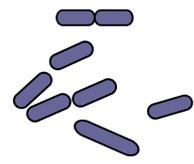
$$\alpha(t) = \frac{q(t)}{1+q(t)} \quad \text{avec} \quad \frac{dq}{dt} = \mu_{\max} q$$

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



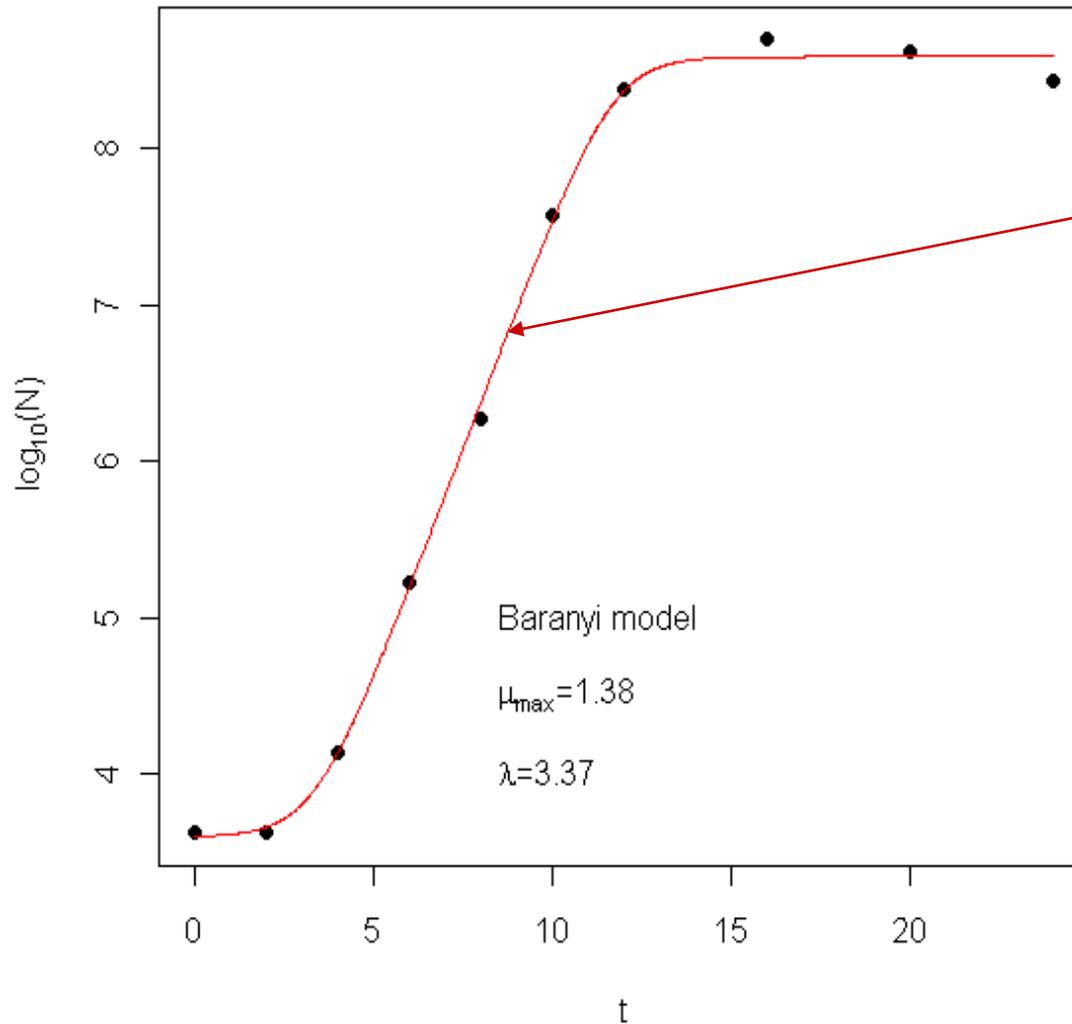
■ freinage (saturation)

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

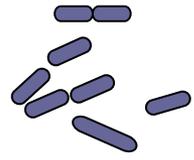


Ex. d'ajustement sur un jeu de données

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

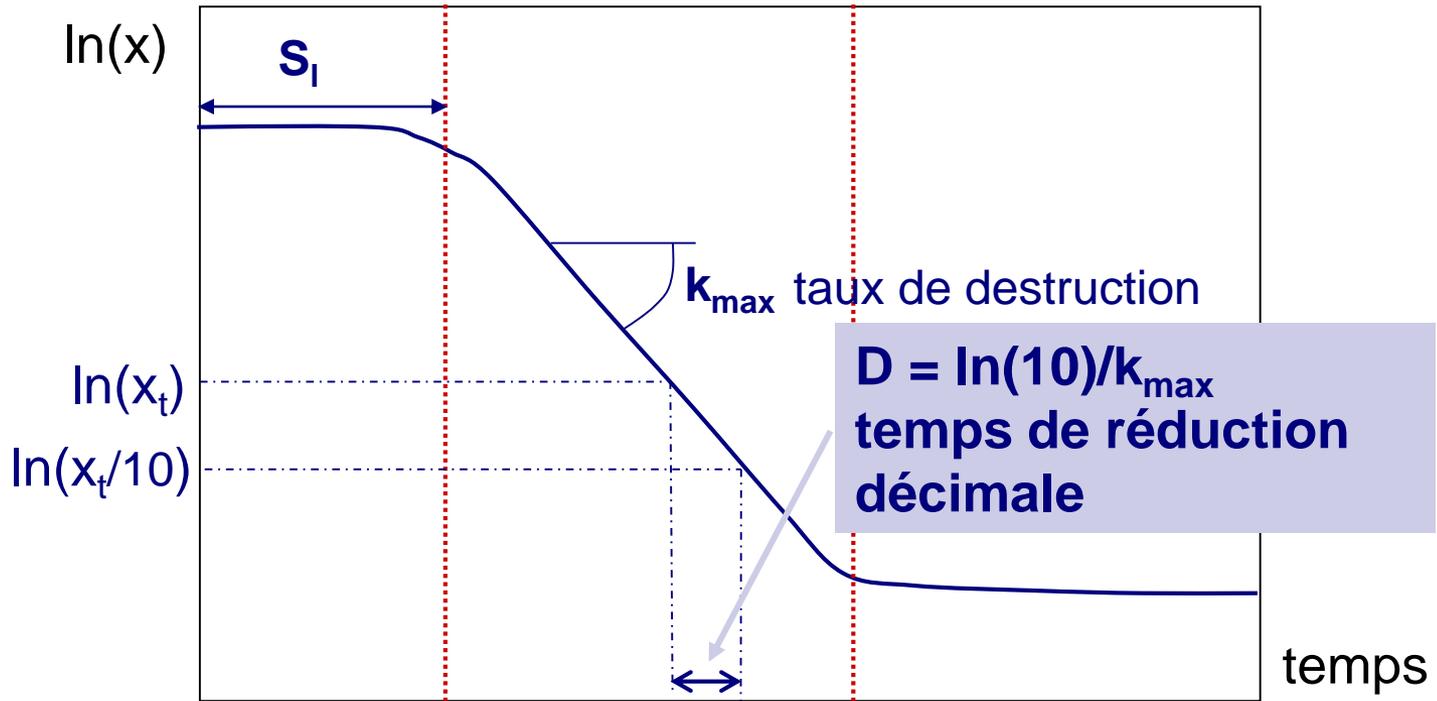


Courbe
ajustée par
régression non
linéaire

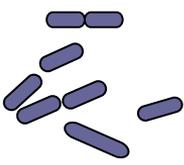


Modèles de survie

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

$$\frac{dx}{xdt} = -k_{\max} \alpha(t) f(x) \quad \text{avec} \quad x(t=0) = x_0$$

épaulement concentration
résiduelle

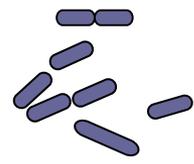
- Epaulement (S_l : shoulder) avant décroissance exponentielle

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

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

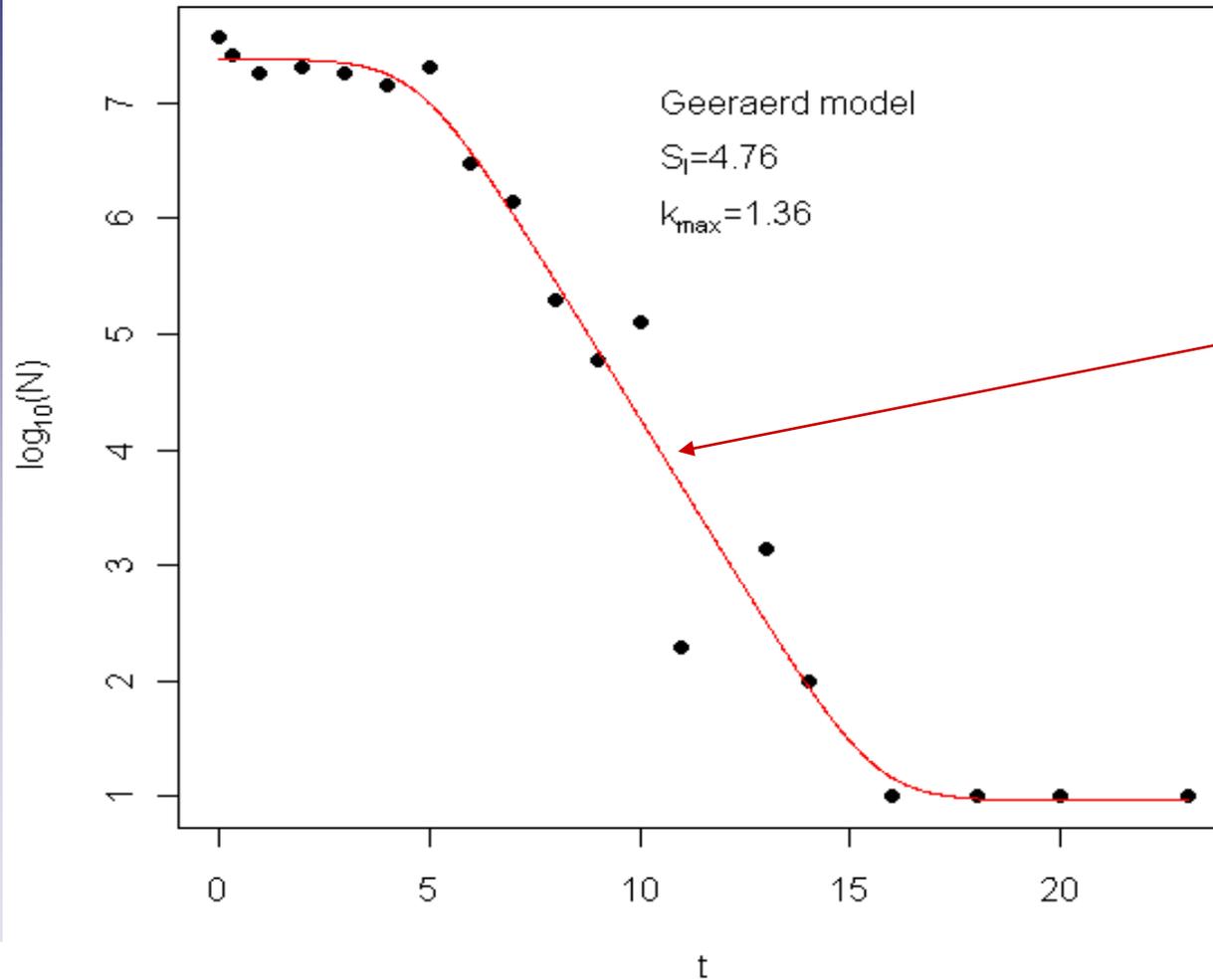
- Concentration résiduelle (x_{res})

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



Ex. d'ajustement sur un jeu de données

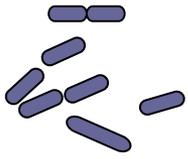
1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications



Courbe
ajustée par
régression non
linéaire

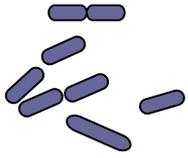
Modèles primaires

- 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



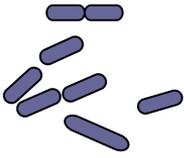
Modèle secondaire

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 »

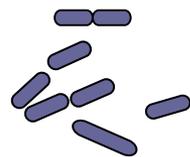
Ratkowsky *et al.*, 1982

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

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

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

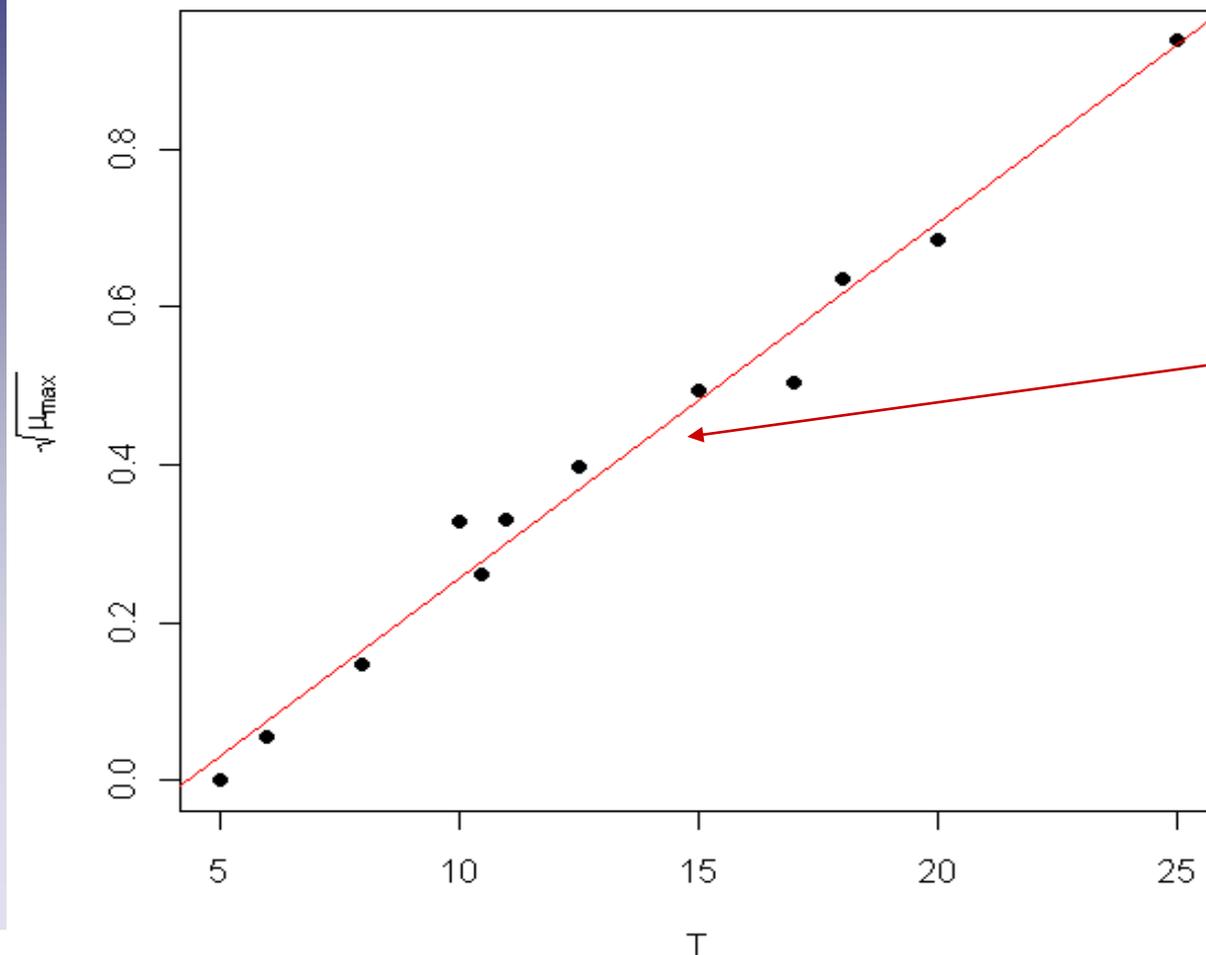
**T_{\min} : température minimale de
croissance**



Modèle « racine carrée »

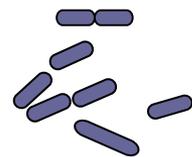
Ratkowsky *et al.*, 1982

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



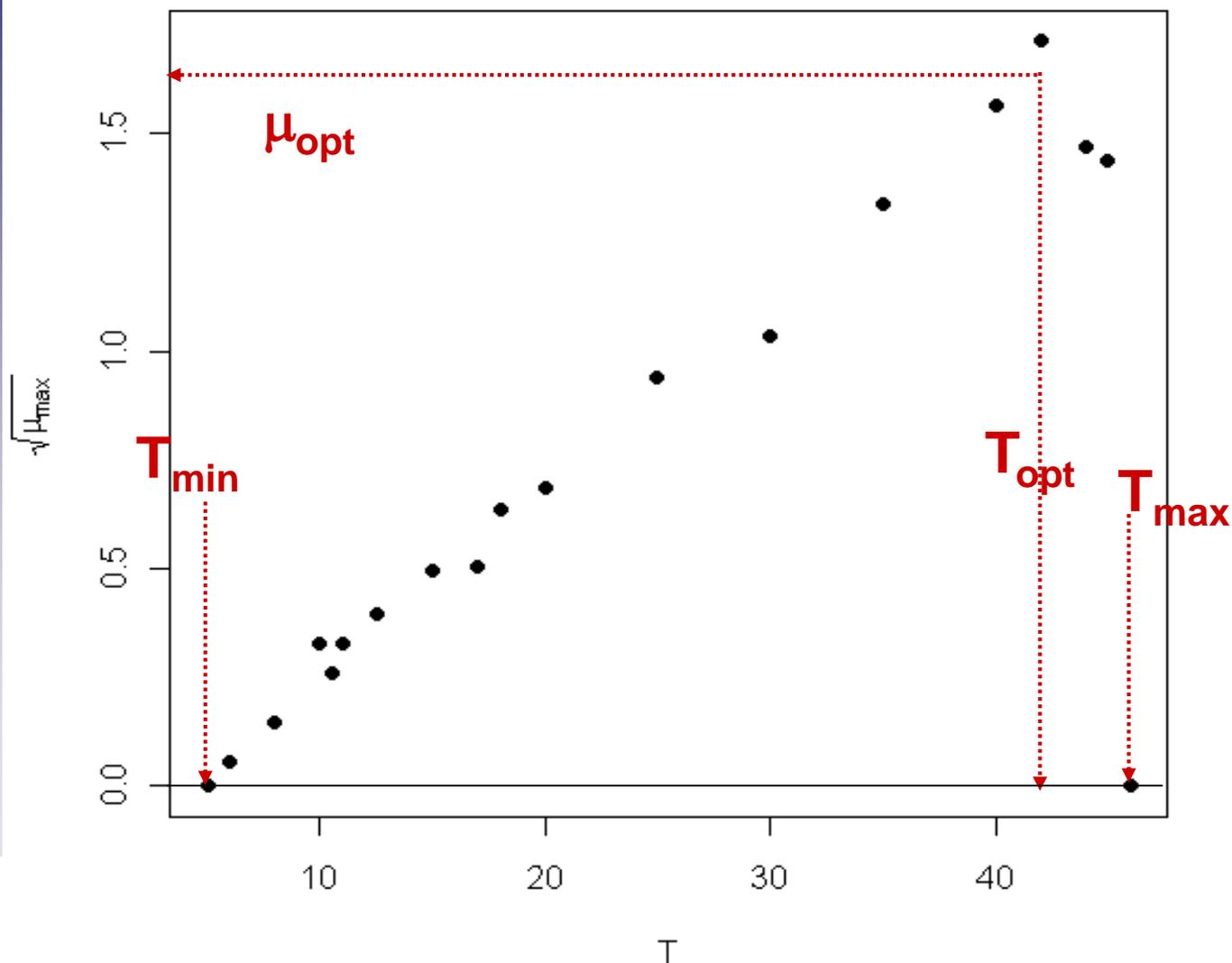
Droite ajustée
par régression
linéaire

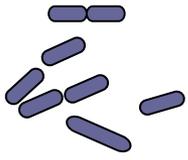
valable aux plus fortes températures ?



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

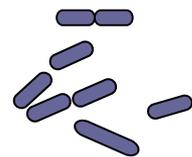
pour $T_{\min} < T < T_{\max}$,

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

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

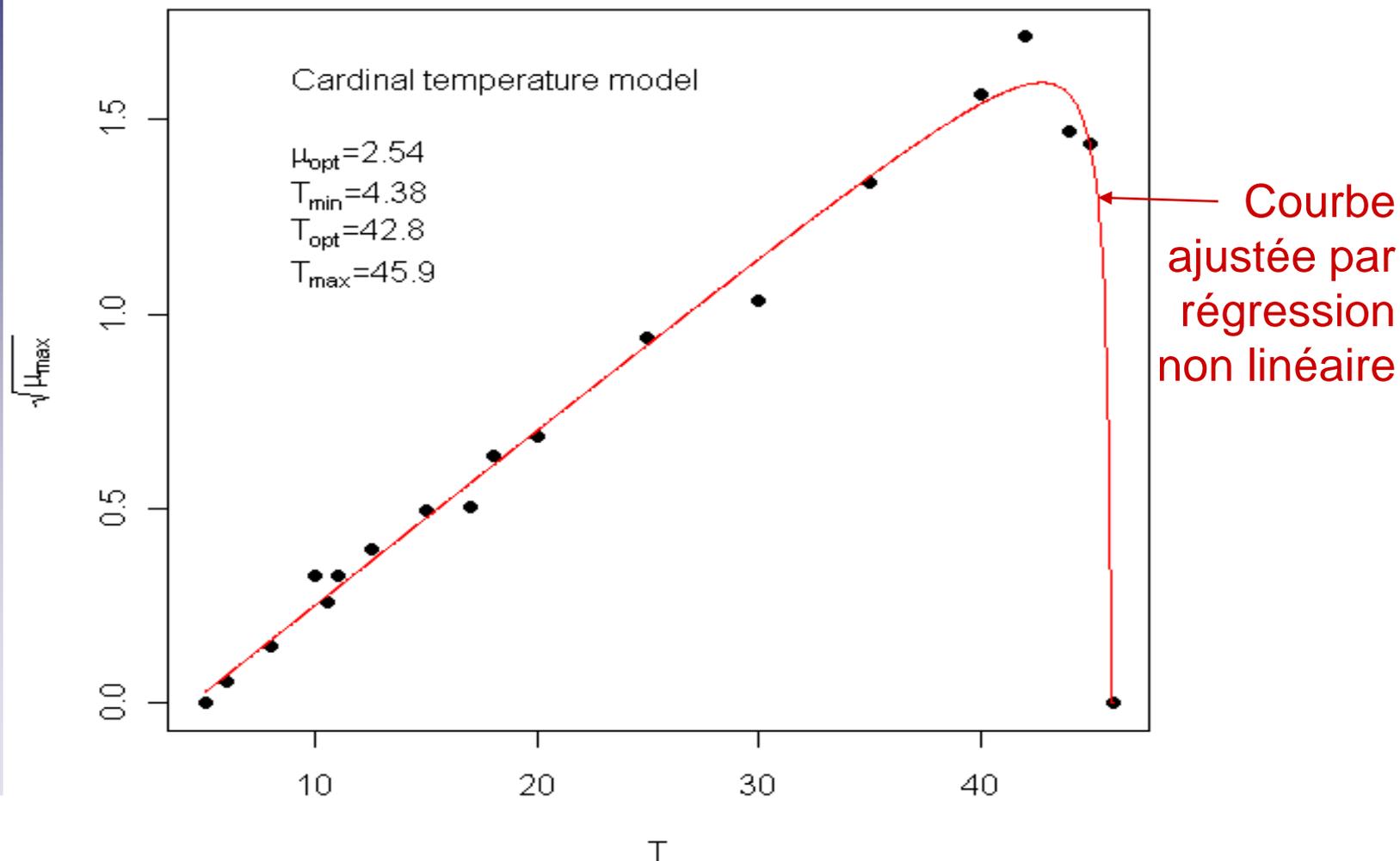
pour $T < T_{\min}$ ou $T > T_{\max}$,

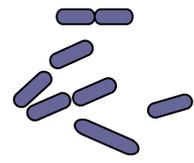
$$\mu_{\max}(T) = 0$$



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

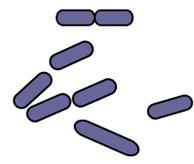
Effet

- 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

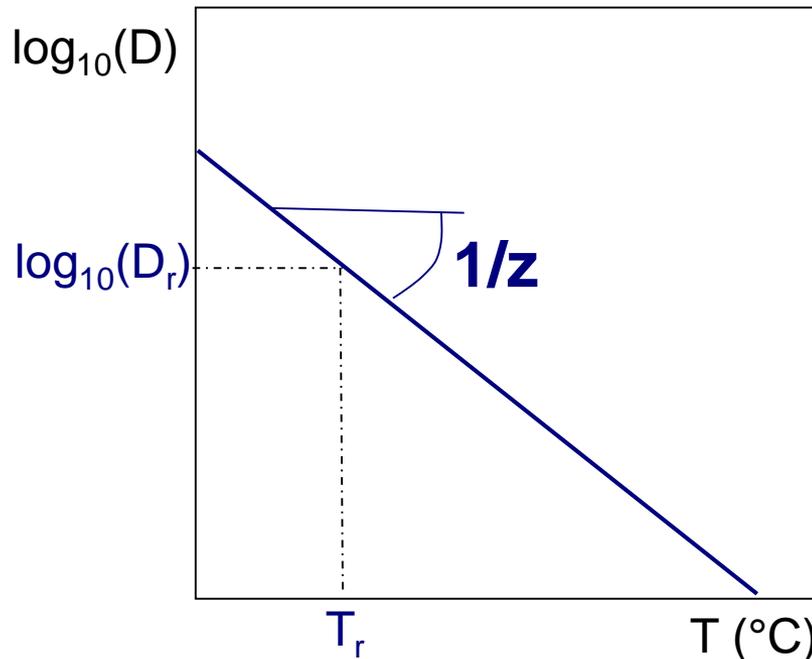


Modélisation du temps de réduction décimale

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

■ Modélisation de la température

Modèle de Bigelow (1961)



$$\log_{10}(D) = \log_{10}(D_r) - (T - T_r) / z$$

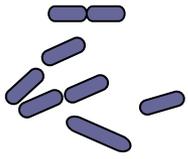
$$D = D_r \times 10^{- (T - T_r) / z}$$

Z : augmentation de température → division de D par 10

■ Quelques modèles décrivant l'effet d'autres facteurs

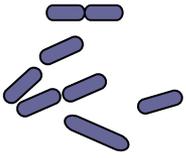
Modèles secondaires

- 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

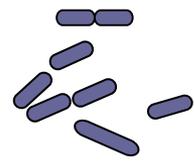
1. Les modèles primaires
2. Les modèles secondaires
3. **Les applications des modèles**



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



Logiciels de simulation disponibles

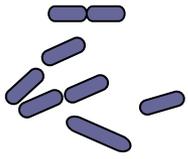
1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

■ Logiciels d'accès libre

- Pathogen Modeling Program (US)
- ComBase Predictor (UK)
- ...

■ Logiciel d'accès payant

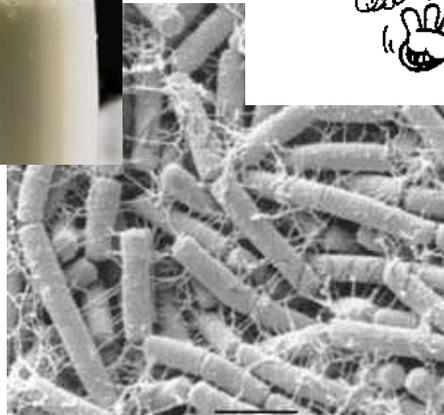
- Sym'Previus (France)

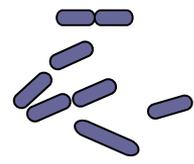


Exemple 1

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 $b = \sqrt{\mu_{30^{\circ}\text{C}} / 30} = 0.0354$

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

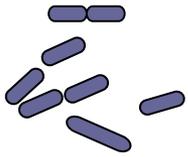
$$\log_{10}x = \log_{10}x_0 + \mu/\ln(10) * d$$

$$= \log_{10}x_0 + b^2 * T^2 / \ln(10) * d$$

$$\Delta\log_{10}x = 0.000545 * T^2 * d$$

pour chaque étape caractérisée par d et T

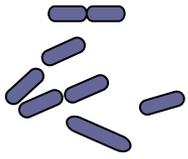
- Contamination initiale (x_0): 1 UFC/ml (pire cas)



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		

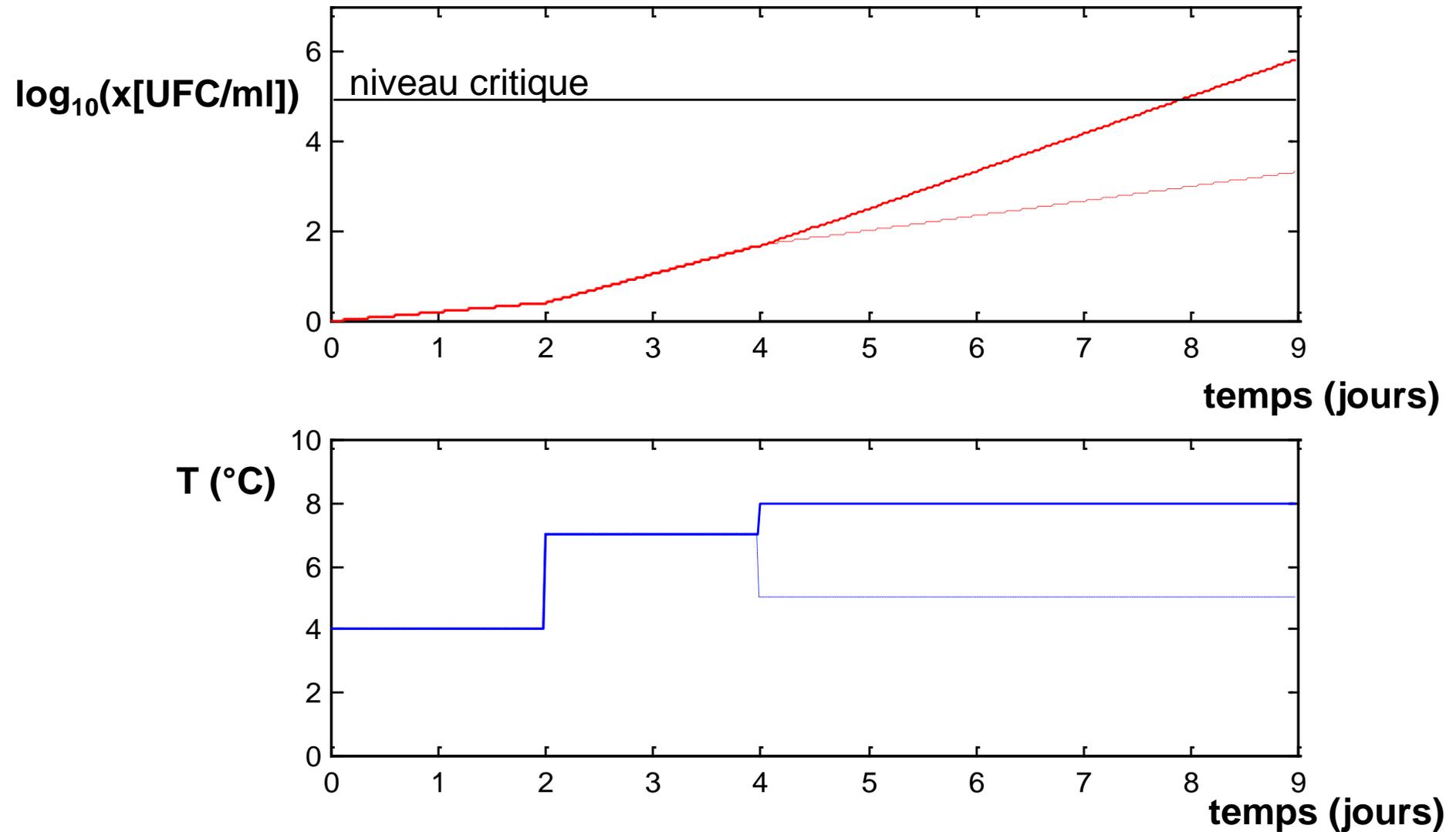


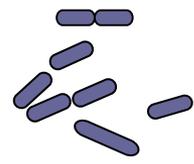
Une simulation

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

Phase	T°C	durée (jours)	durée (heures)	$\log_{10}X$
usine	4	2	48	0.42
distributeur	7	2	48	1.70
consommateur	8	5	120	5.89

2 simulations “pire cas” à différentes T° de conservation





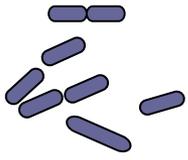
Effet de la température de conservation sur la DLC

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

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

$$\log_{10}x_{crit} - \log_{10}x_{dist} = 0.000545 * T_{frigo}^2 * d_{crit}$$

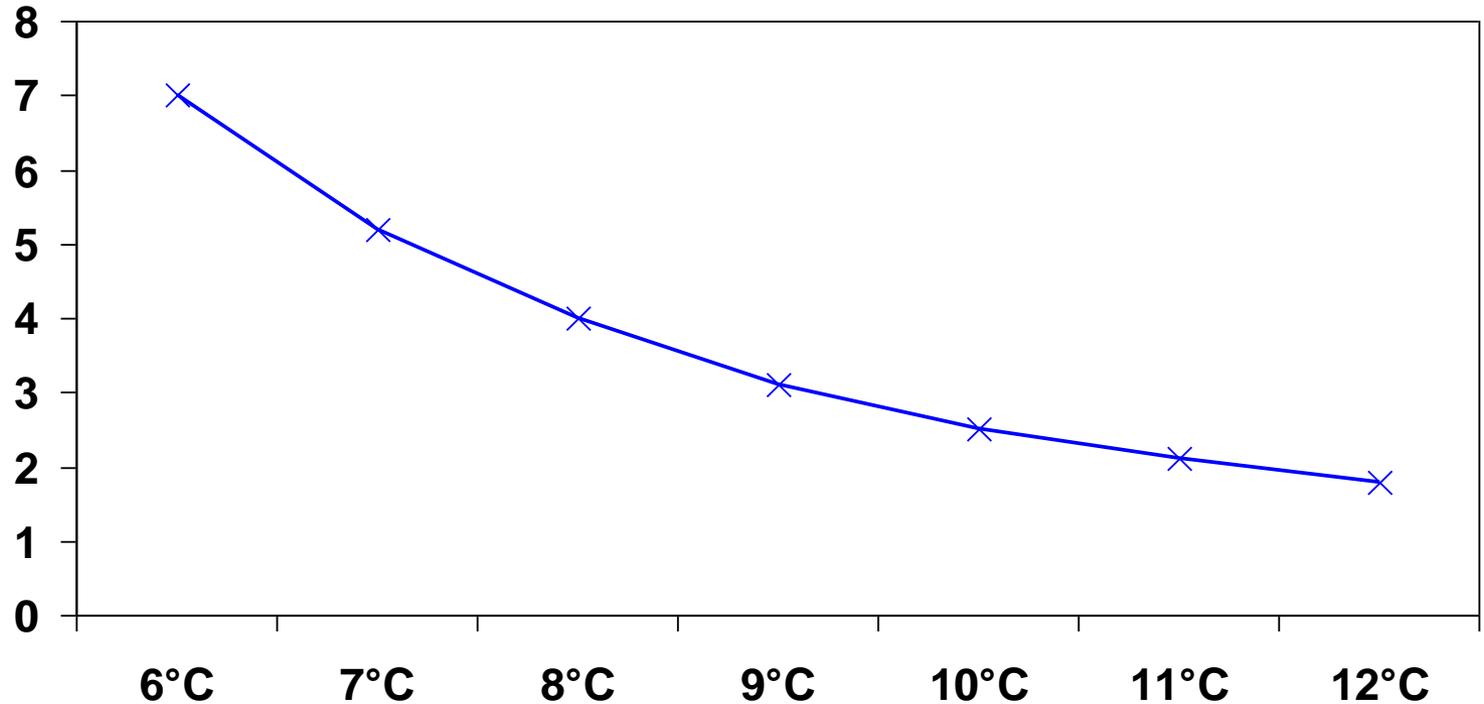
$$d_{crit} = (5 - 1.70) / (0.000545 * T_{frigo}^2)$$
$$= 6050 / T_{frigo}^2 \text{ (en heures)}$$



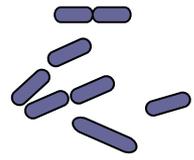
Effet de la température de conservation sur la DLC

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

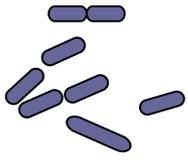
Risque lié à *listeria monocytogenes* :
durée raisonnable de conservation de
rillettes en fonction de leur température
de stockage



© 2008 Quiitecult.fr Estelle Simonet



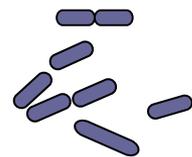
**Ce sera à vous
de jouer !**



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

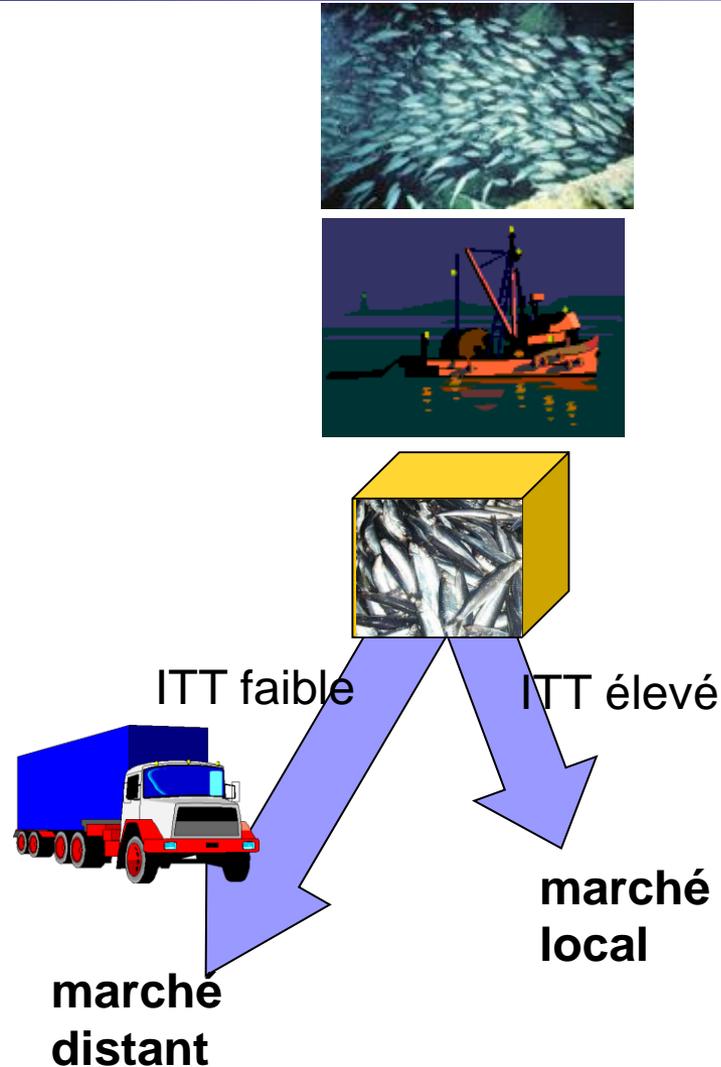


Si bonne conservation
TRACEO® est transparent,
le produit est frais,
le code-barres passe en caisse.

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

Applications

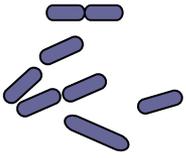
■ Applications logicielles

- 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
 - ...