

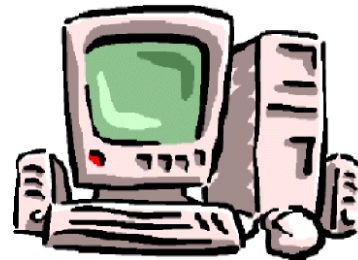
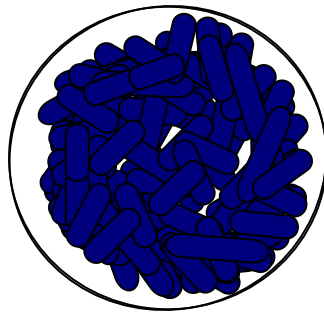


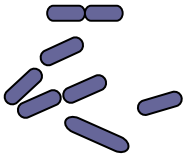
VetAgro Sup



# La microbiologie prévisionnelle ou Modélisation du développement microbien dans un aliment

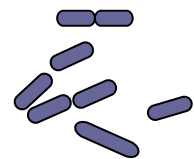
septembre 2011



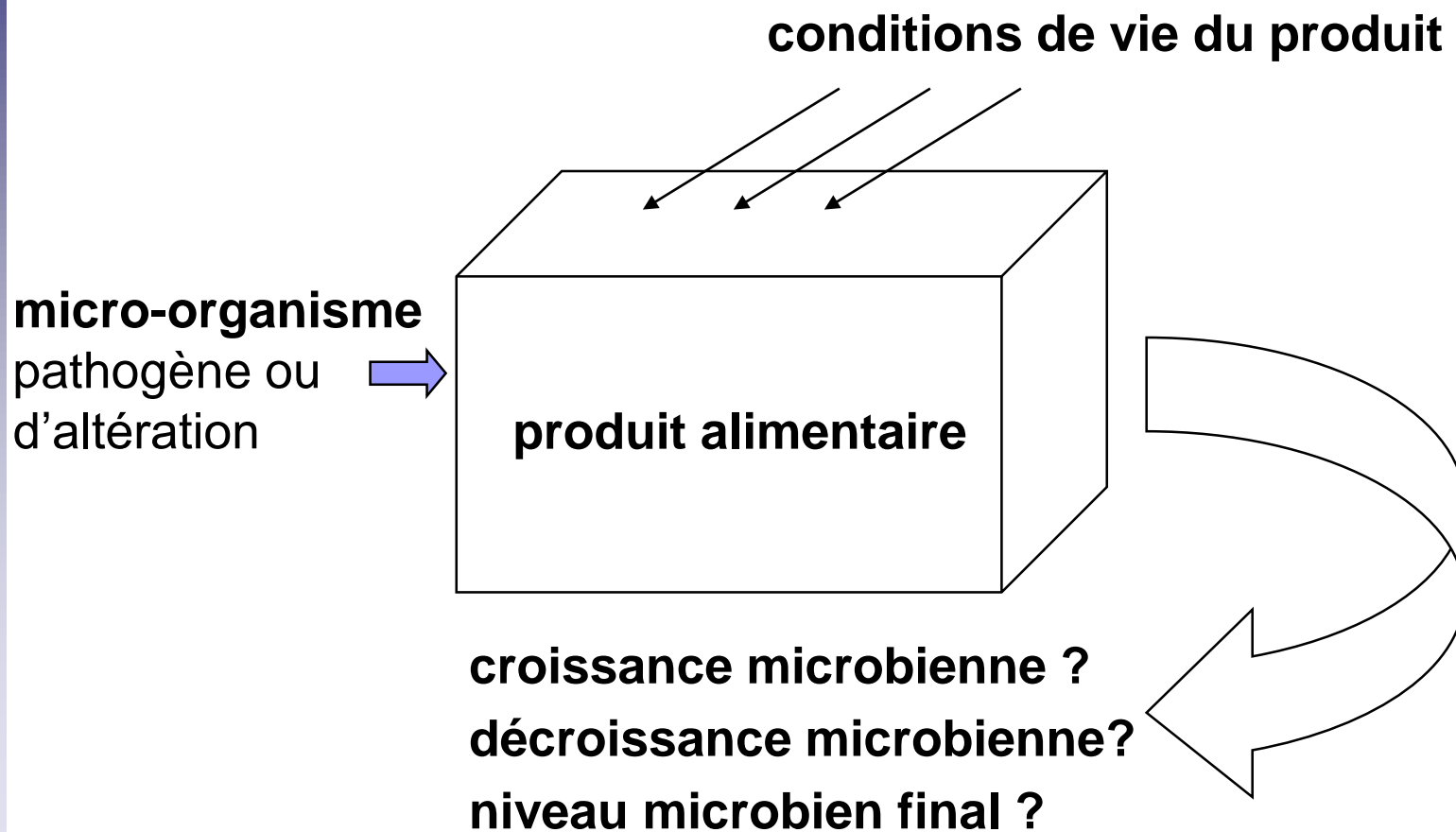


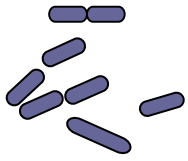
# Contexte historique

- 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



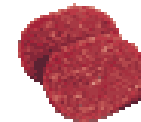


# Aliments

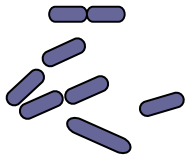
- Produits frais et prêts à consommer  
traitements thermiques réduits  
peu ou pas de conservateur



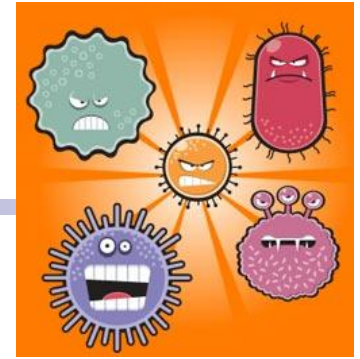
- Produits d'origine animale  
poisson, viande, lait, fromage, ...



- 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

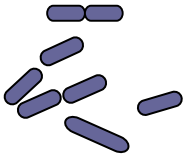


- **Atmosphère gazeuse**

  - 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

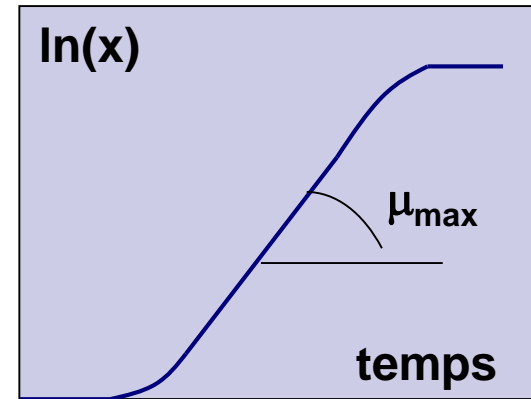


# Niveaux de modélisation

## ■ Niveau primaire

Evolution du nombre de micro-organismes en fonction du temps

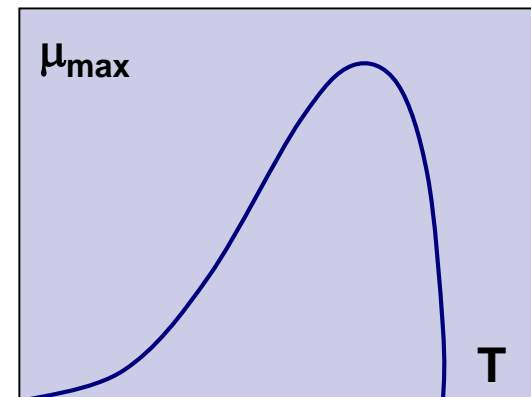
Exemple



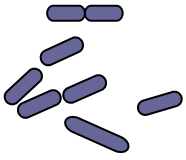
## ■ Niveau secondaire

Effet des facteurs environnementaux sur les paramètres des modèles primaires

Exemple

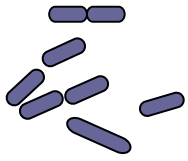






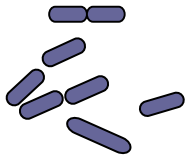
# Objectifs pédagogiques

- **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**



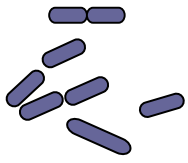
# Plan

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



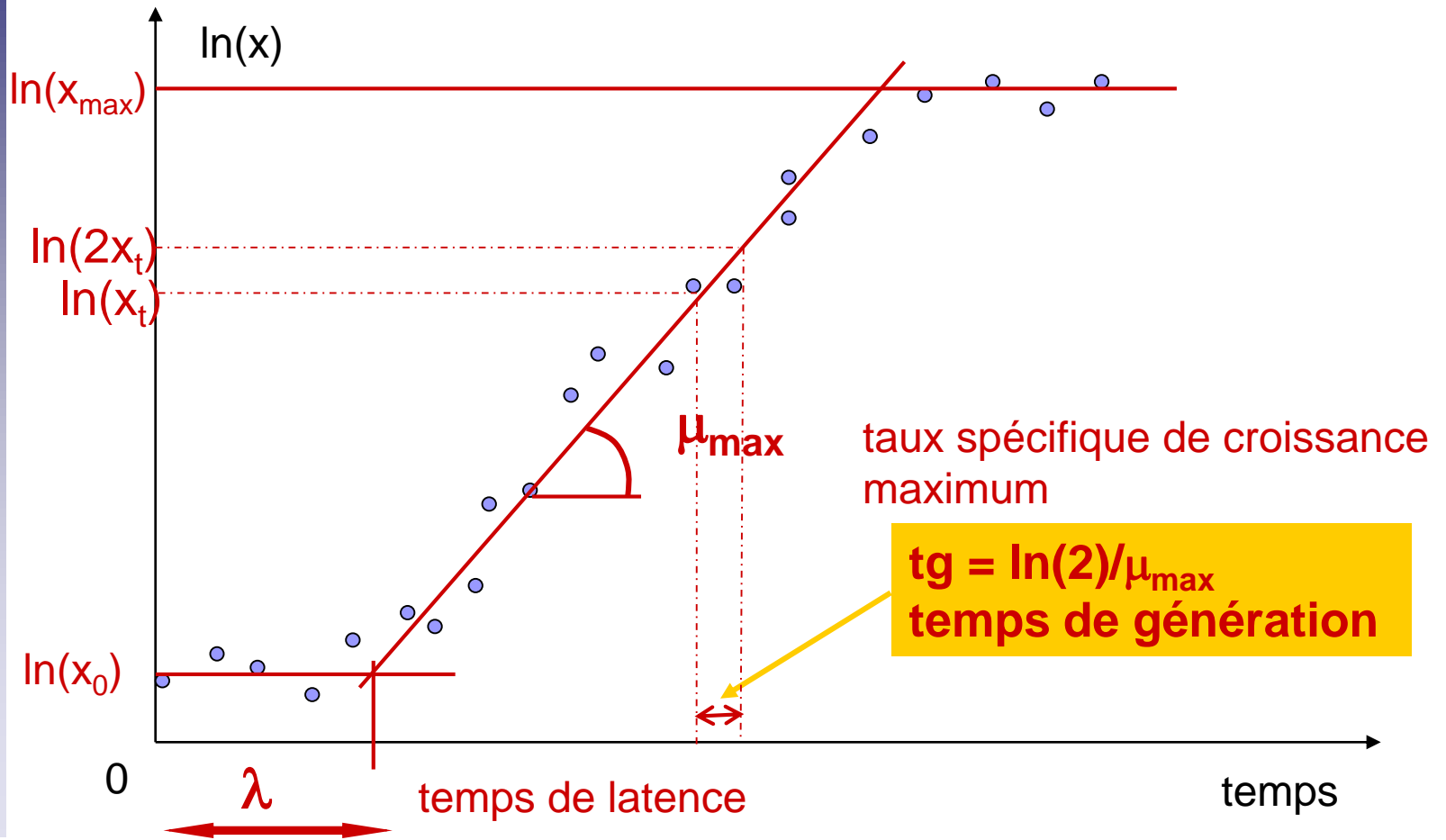
# Plan

- 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

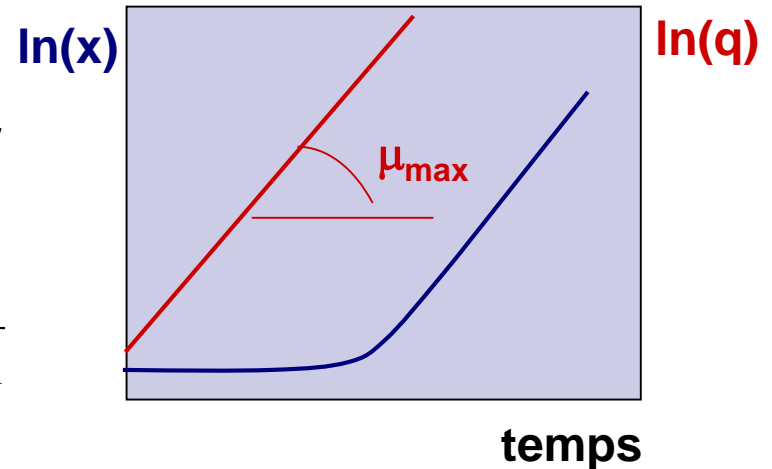
$$\frac{dx}{xdt} = \mu_{\max} \alpha(t) f(x) \quad \text{avec} \quad x(t=0) = x_0$$

adaptation      freinage

## ■ adaptation (latence)

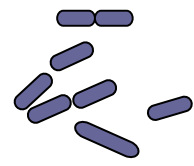
$$\alpha(t) = \frac{q(t)}{1+q(t)} \quad \text{avec} \quad \frac{dq}{dt} = \mu_{\max} q$$

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



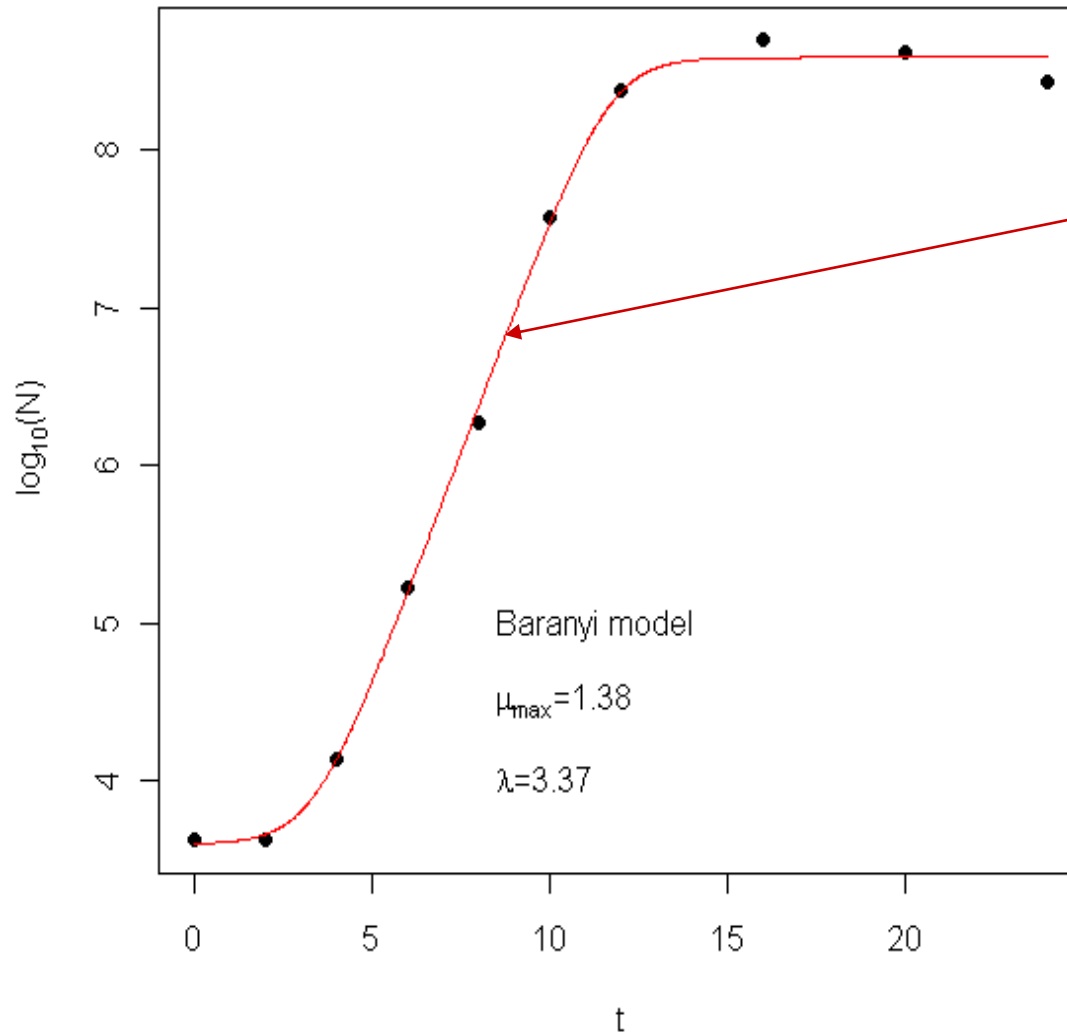
## ■ freinage (saturation)

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

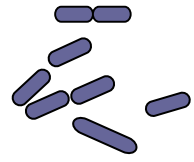


# Ex. d'ajustement sur un jeu de données

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

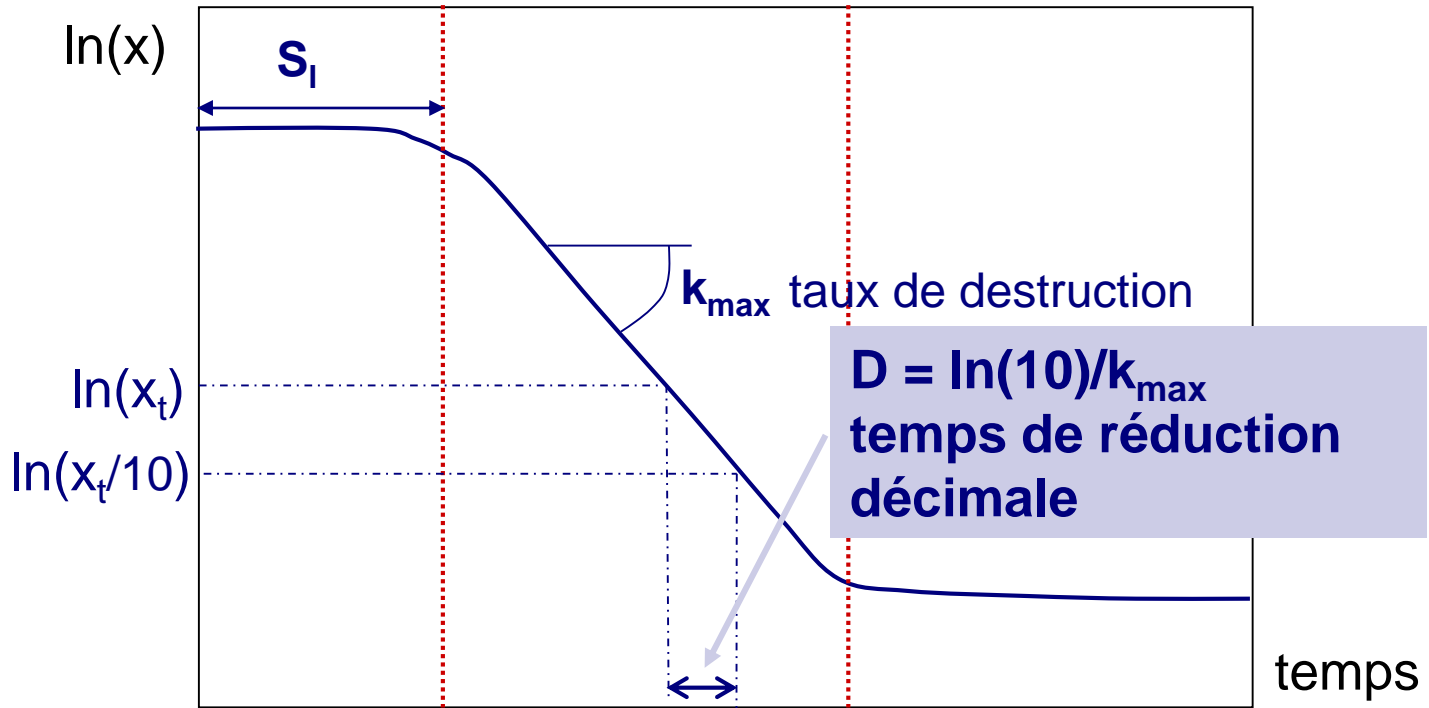


Courbe  
ajustée par  
régression non  
linéaire

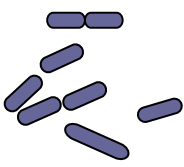


# Modèles de survie

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

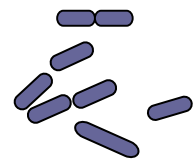
$$\alpha(t) = \frac{1}{1 + C_c(t)} \quad \text{avec} \quad \frac{dC_c}{dt} = -k_{\max} C_c$$

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

- Concentration résiduelle ( $x_{res}$ )

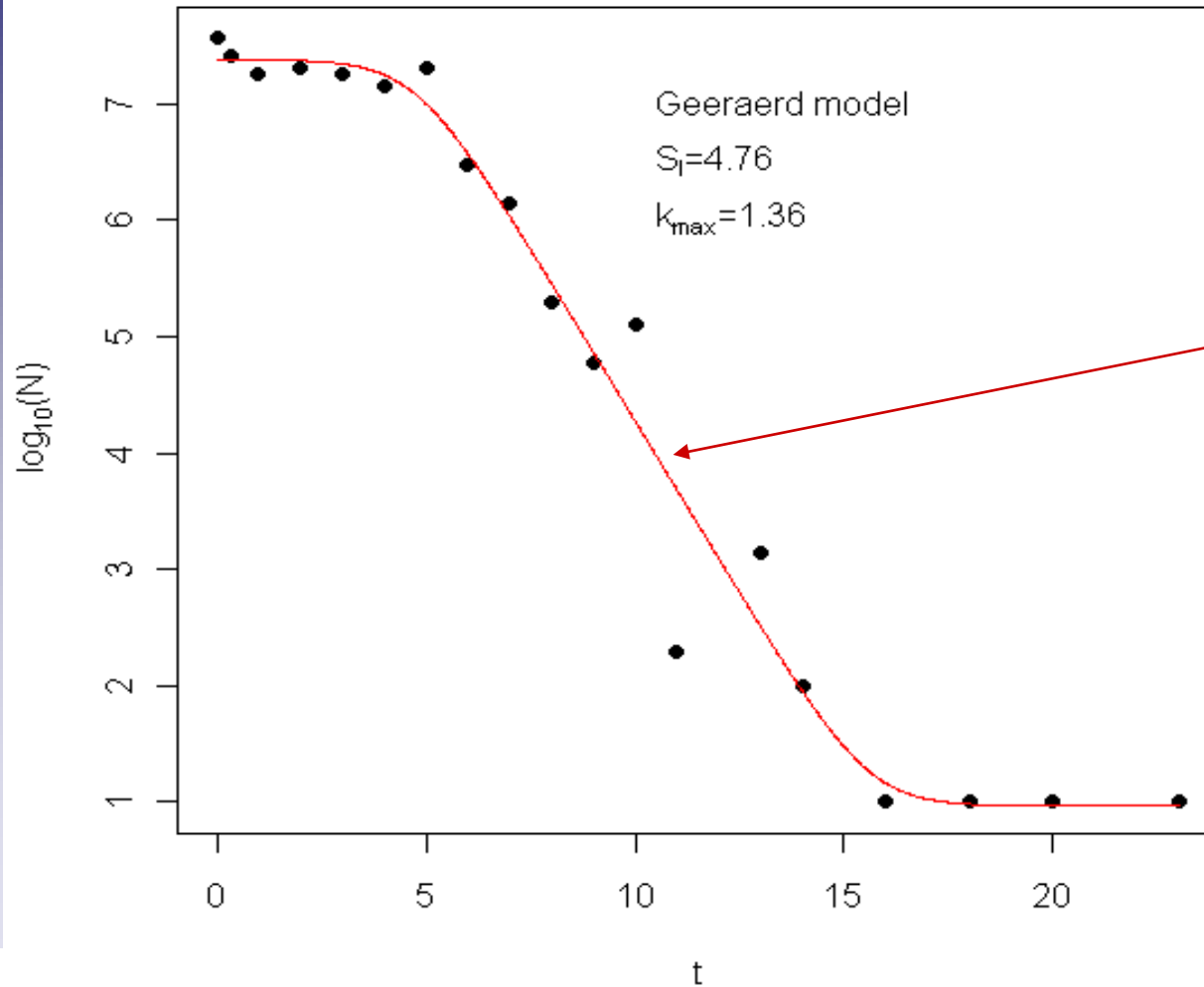
$$f(x) = 1 - \frac{x_{res}}{x}$$





# Ex. d'ajustement sur un jeu de données

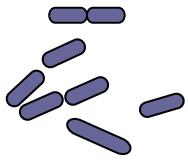
1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications



Courbe  
ajustée par  
régression non  
linéaire

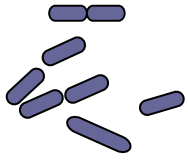
## Modèles primaires

- 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  $\mu_{\max}$
  - temps de latence  $\lambda$
  - 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  $\mu_{\max}$ ,  $\lambda$   
ou de survie **D**

*Exemple de l'effet de la température T*



# Modèle « racine carrée »

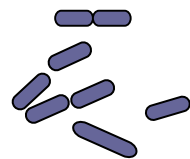
Ratkowsky *et al.*, 1982

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

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

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

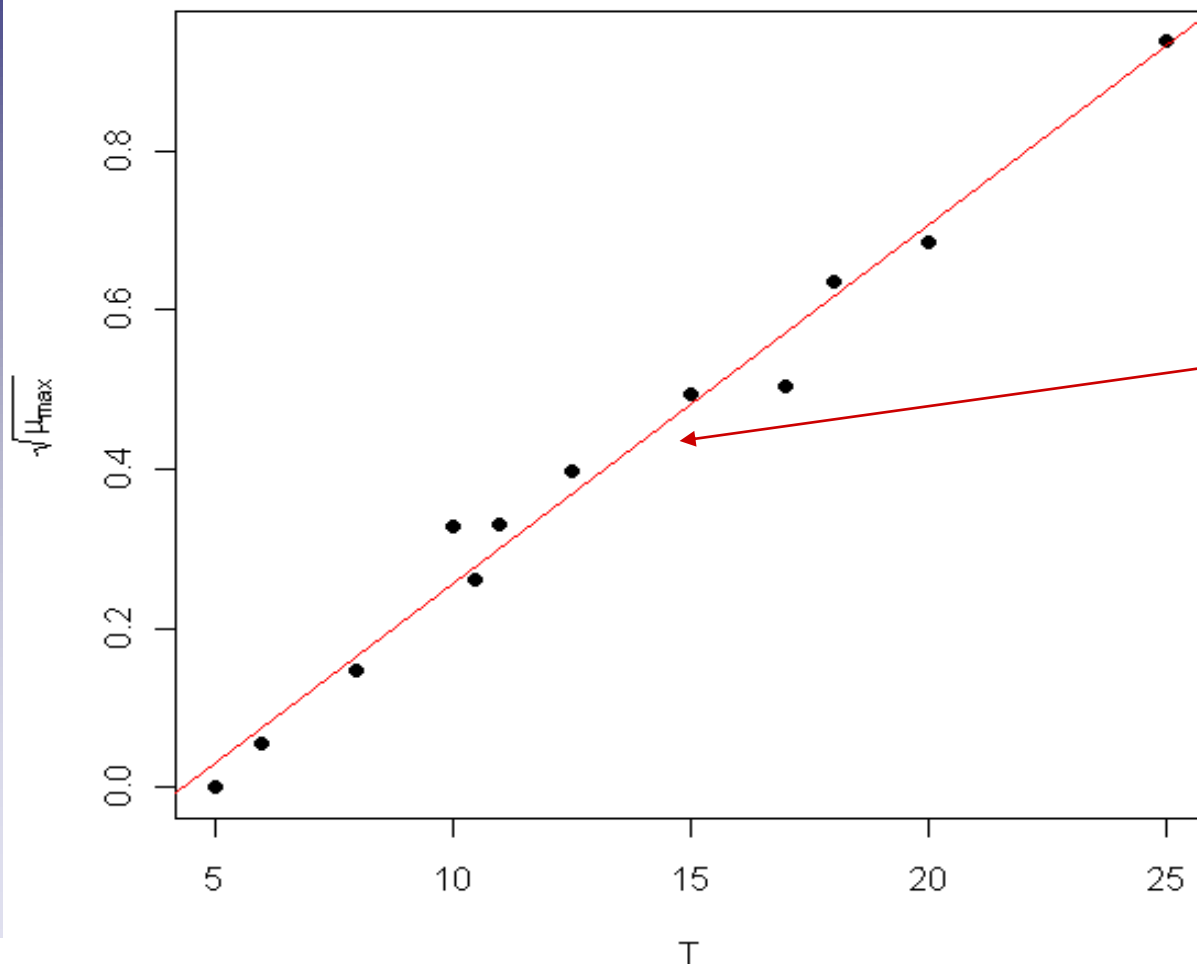
**$T_{\min}$  : température minimale de  
croissance**



# Modèle « racine carrée »

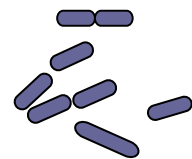
Ratkowsky *et al.*, 1982

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



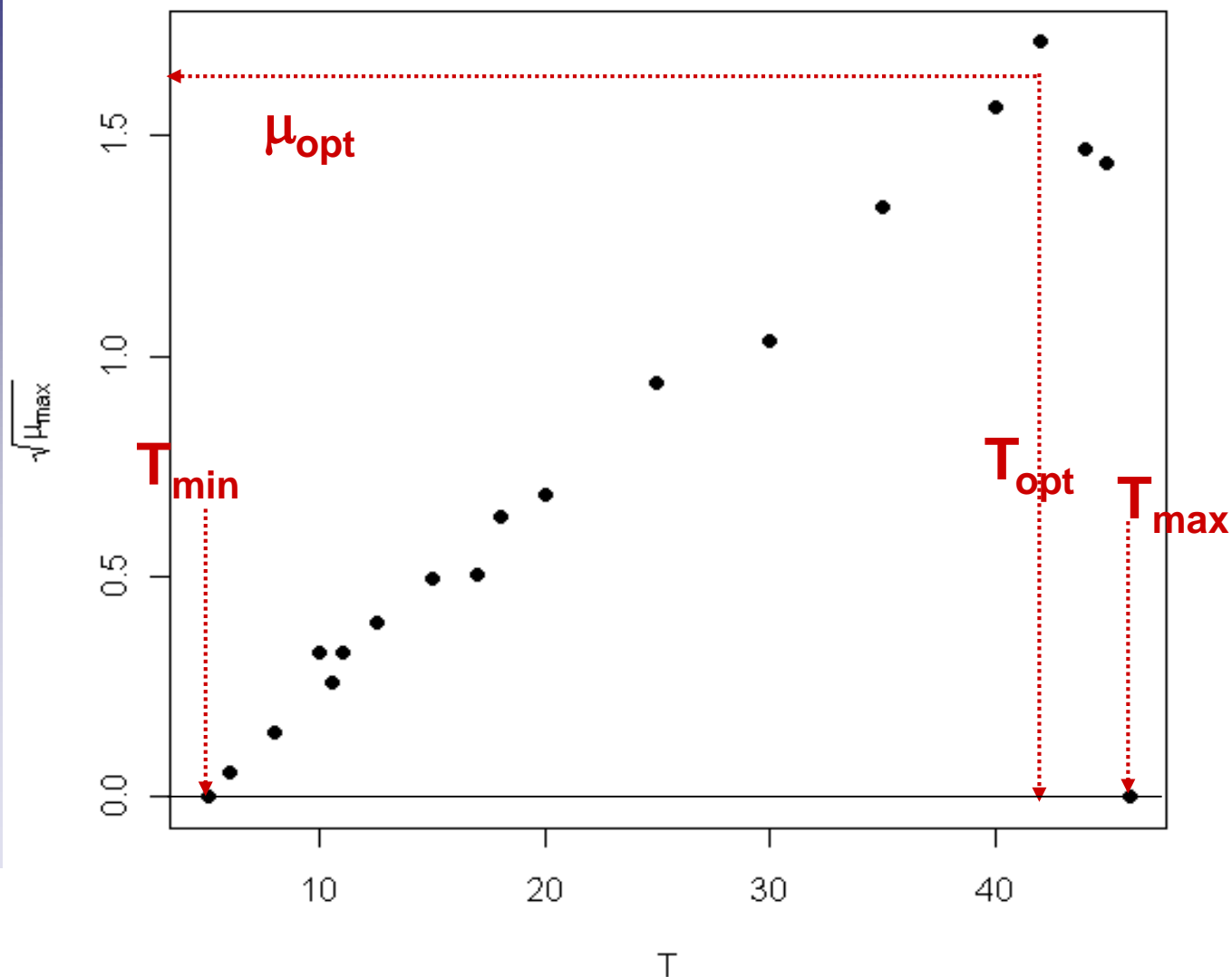
Droite ajustée  
par régression  
linéaire

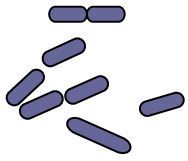
valable aux plus fortes températures ?



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

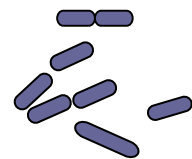
$$\mu_{\max}(T) = \mu_{\text{opt}} \gamma(T)$$

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

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

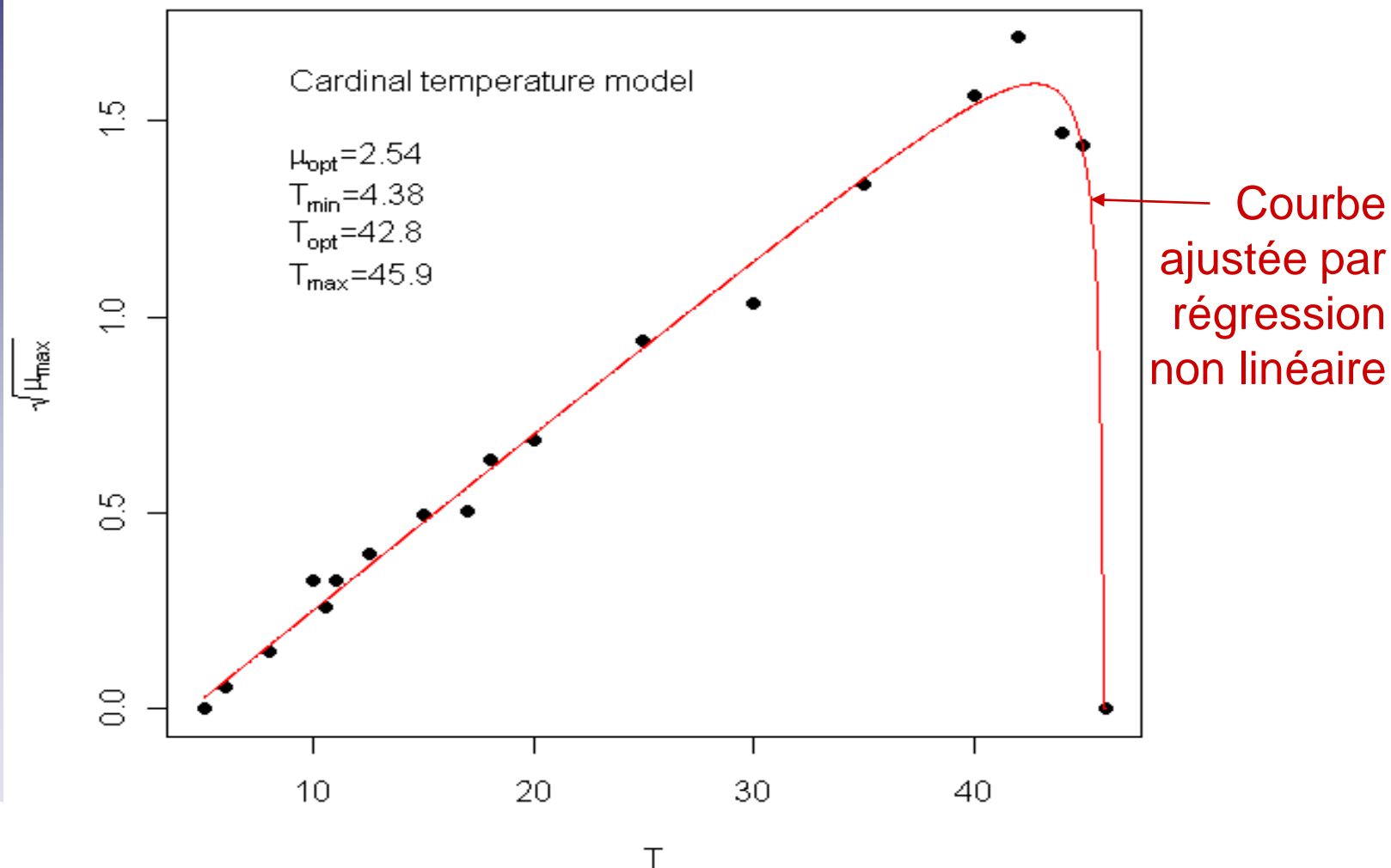
$$\mu_{\max}(T) = 0$$

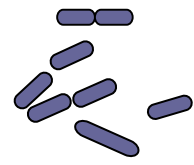




# Ex. d'ajustement sur un jeu de données

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

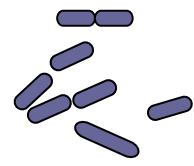
### Effet

- 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

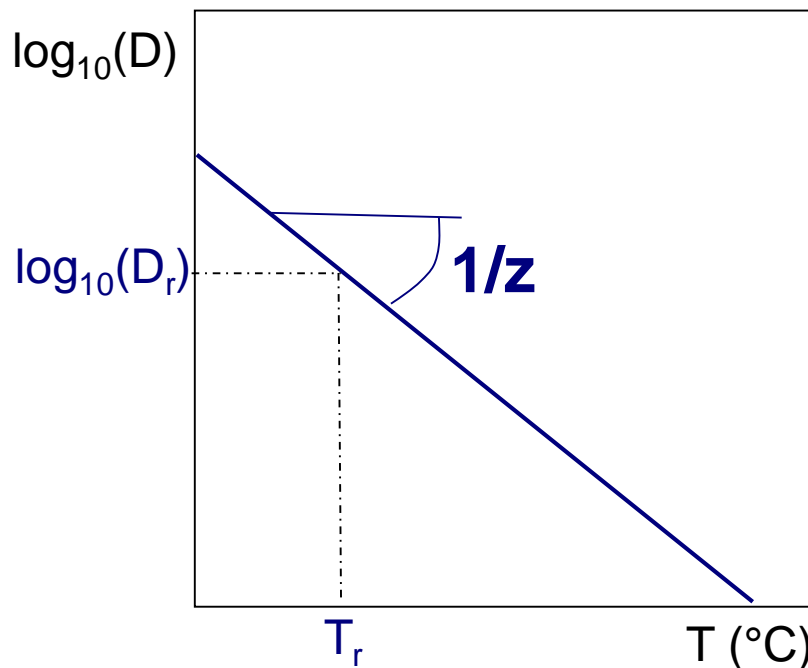


# Modélisation du temps de réduction décimale

1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

## ■ Modélisation de la température

Modèle de Bigelow (1961)



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

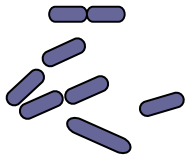
$$D = D_r \times 10^{-(T - T_r) / z}$$

Z : augmentation de température → division de D par 10

## ■ Quelques modèles décrivant l'effet d'autres facteurs

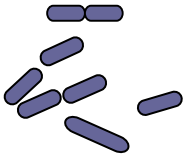
## Modèles secondaires

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



# Plan

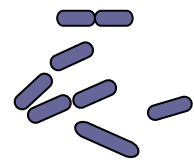
1. Les modèles primaires
2. Les modèles secondaires
3. **Les applications des modèles**



# 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

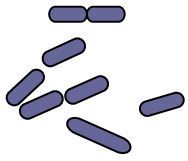
1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

## ■ Logiciels d'accès libre

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

## ■ Logiciel d'accès payant

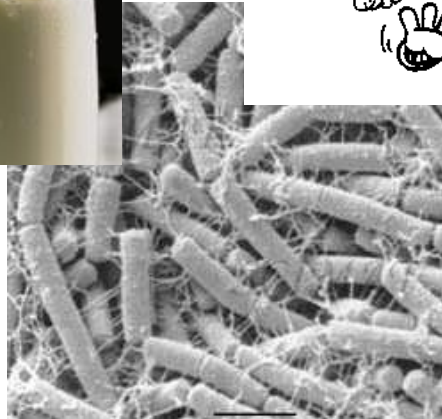
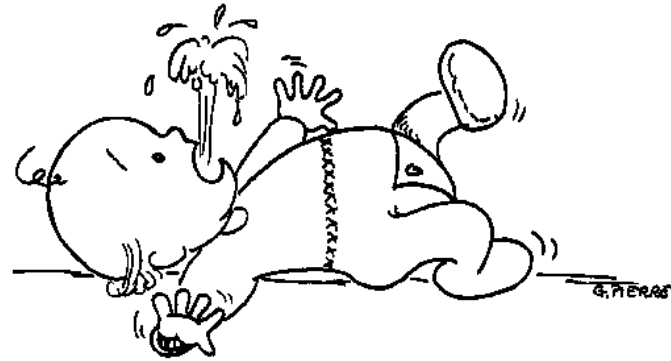
- Sym'Previous (France)



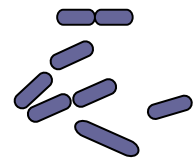
# Exemple 1

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  $30^{\circ}\text{C}$  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)

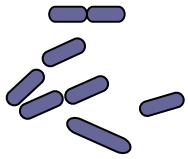
$$\log_{10}x = \log_{10}x_0 + \mu / \ln(10) * d$$

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

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

pour chaque étape caractérisée par d et T

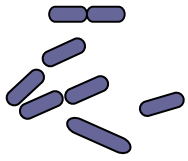
- Contamination initiale ( $x_0$ ): 1 UFC/ml (pire cas)



# Une simulation

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

Phase	T°C	durée (jours)	durée (heures)	$\log_{10}X$
usine	<b>4</b>	<b>2</b>		
distributeur	<b>7</b>	<b>2</b>		
consommateur	<b>8</b>	<b>5</b>		

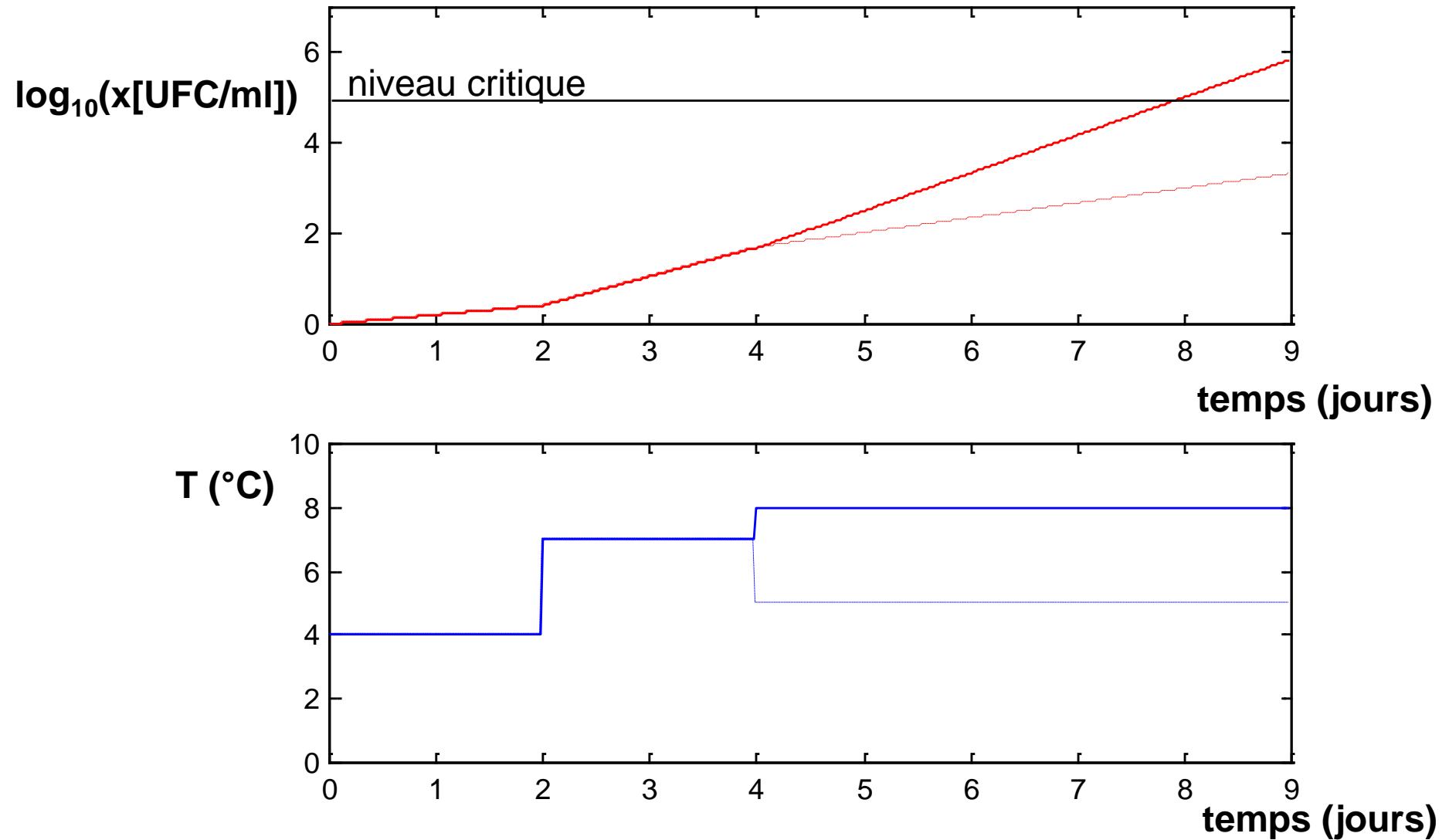


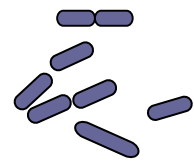
# Une simulation

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

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

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





# Effet de la température de conservation sur la DLC

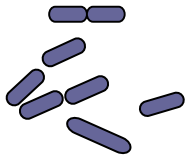
1. Modèles primaires
2. Modèles secondaires
3. Applications

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

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

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

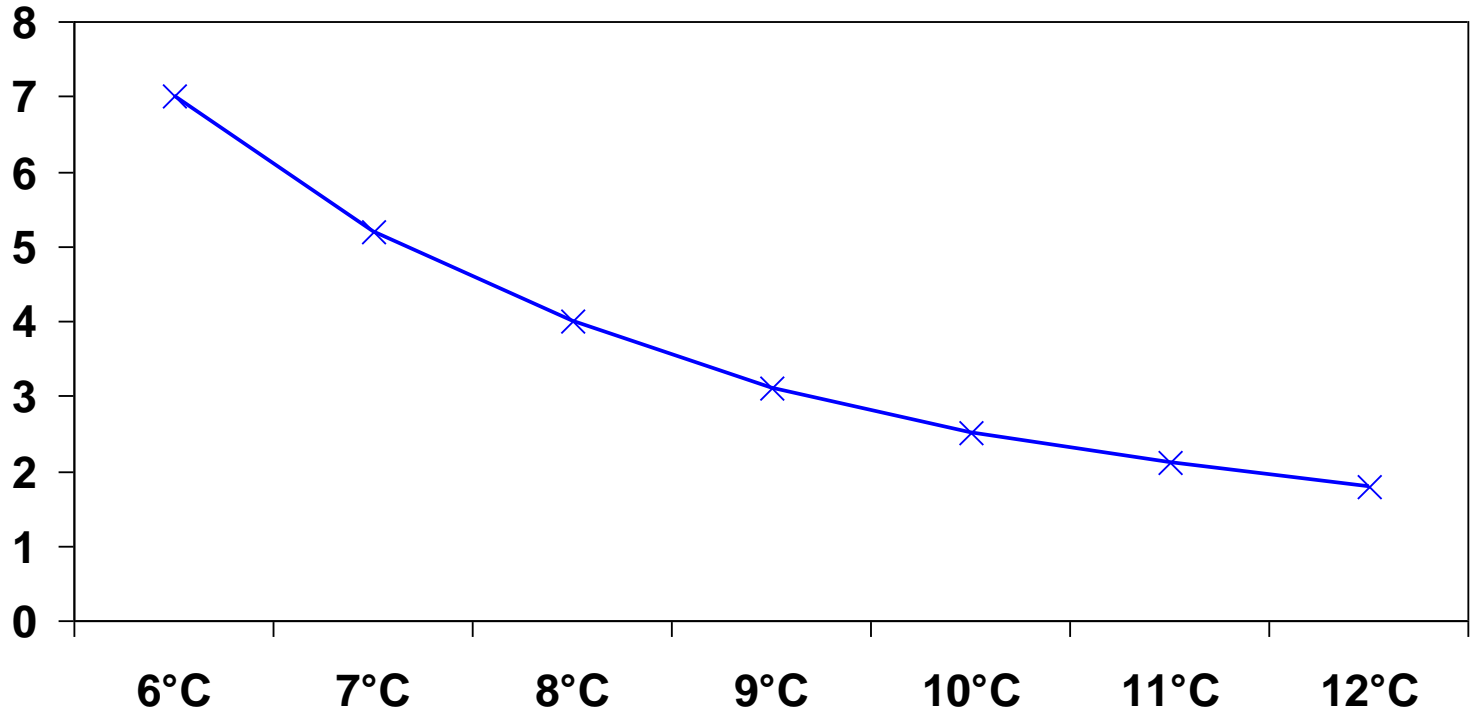
$$= 6050 / T_{\text{frigo}}^2 \text{ (en heures)}$$



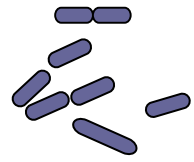
# Effet de la température de conservation sur la DLC

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

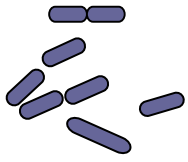
Risque lié à *listeria monocytogenes* :  
durée raisonnable de conservation de  
rillettes en fonction de leur température  
de stockage



© 2008 Quiitecult.fr Estelle Simonet



**Ce sera à vous  
de jouer !**

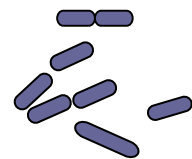


# Indicateurs temps température (ITT)

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

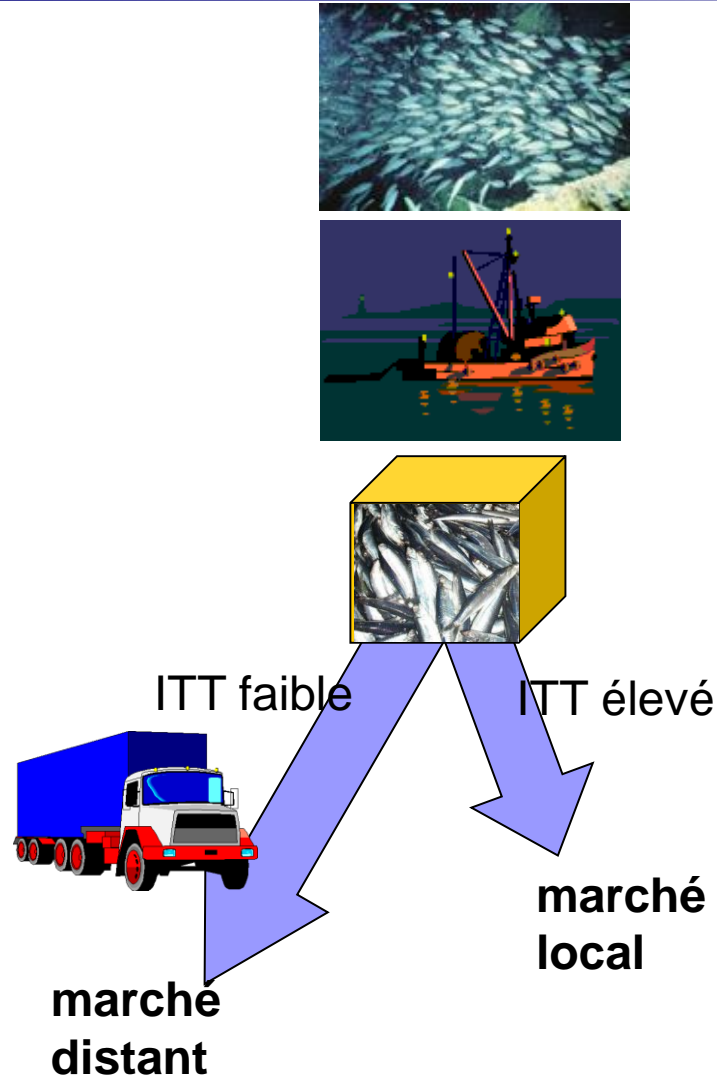


**Si bonne conservation**  
TRACEO® est transparent,  
le produit est frais,  
le code-barres passe en caisse.

**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

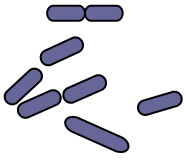
### ■ Applications logicielles

- 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
  - ...