

Modèles en Sciences de la Vie
Chapitre 1
Modèles
Microbiologie Prévisionnelle

V. Garlatti
virginie.garlatti@univ-tln.fr
Bureau U 025

2023

Définition

Définition : Un modèle est la **représentation d'un phénomène** rendant compte **au mieux** de ses propriétés **connues**. Un modèle peut être mathématique, physique analogique [*Foucault*].

Comment fonctionne un modèle ?

- ◇ Utilisation de paramètres d'entrée (données)
- ◇ Utilisation d'une représentation mathématique, physique, analogique
- ◇ Donne des paramètres de sortie inconnus auparavant

Définition

Les limites d'un modèle

- ◇ référentiel dans lequel la représentation choisie est valable. Par exemple :
 - ◇ la phase de la réaction (phase stationnaire - équilibre de la réaction)
 - ◇ la phase de croissance (latence - maximale)

Introduction : Des modèles que vous avez déjà vu

En géologie

- ◇ le modèle PREM en géologie
- ◇ la température d'équilibre de la Terre
- ◇ les modèles climatiques

En biochimie

- ◇ Modèle de Mickaëlis et Menten
- ◇ Modèle de croissance exponentielle des cellules

Introduction : pourquoi modéliser la (dé)croissance des micro-organismes ? (exemples)

Sécurité des aliments : des modèles pour définir la réglementation

- ◇ Les plans HACCP : Analyse des Dangers - Points Critiques pour leur Maitrise
- ◇ Appréciation Quantitative de Risque : Prévion de l'évolution d'une population de micro-organismes risque pathogène.
- ◇ la détermination de la durée de vie d'un aliment
- ◇ le développement d'un nouveau produit ou d'un nouveau procédé
- ◇ mise au point d'une nouvelle formulation d'un produit sur l'évolution des micro-organismes
- ◇ la planification d'expériences (définition des intervalles entre chaque échantillonnage et nombre d'échantillons à prélever)
- ◇ Mise au point des conditions de stérilisation

Introduction : pourquoi modéliser la (dé)croissance des micro-organismes ? (exemples)

Modéliser la (dé)croissance d'un pathogène en santé

- ◇ Multiplication dans l'hôte peut accessible mais modélisable
- ◇ Estimation de l'effet des antibiotiques

(LAURENT DELHALLE et al., 2012)

Principes des modèles de microbiologie prévisionnelle : hypothèses de construction des modèles

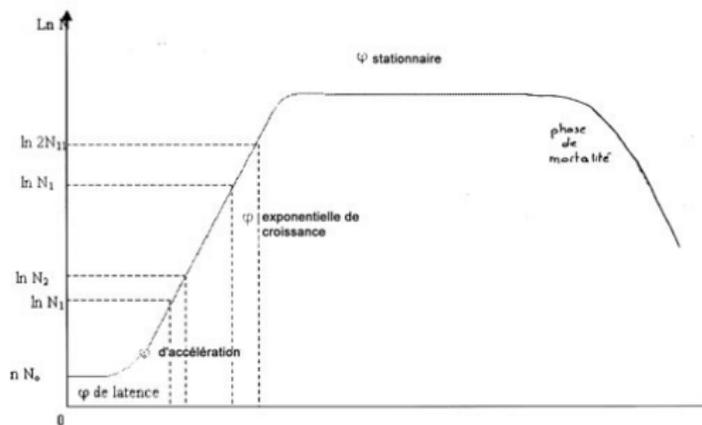
Hypothèse 1 : les populations de micro-organismes répondent de façon reproductible à des conditions environnementales identiques.

⇒ L'évolution des populations est donc prédictible (remplace un suivi expérimental lourd)

(LAURENT DELHALLE et al., 2012)

Principes des modèles de microbiologie prévisionnelle : hypothèses de construction des modèles

Hypothèse 2 : le profil de croissance suit toujours la même courbe.



⇒ Définition des phases de croissance : latence, accélération, exponentielle, décélération, stationnaire

Principes des modèles de microbiologie prévisionnelle : Approches en modélisation

Modèles empiriques : objectif : ajuster au mieux les modèles mathématique aux données observées. Aucune explication du phénomène, pas forcément de sens biologique aux équations utilisées.

Modèles mécanistes : s'appuient sur des théories ou des hypothèses et permettent d'expliquer la réponse.

⇒ **Les modèles en microbiologie prévisionnelle sont souvent semi-mécanistes** car tous les mécanismes à la base de la croissance ne sont pas encore compris : l'équation peut être empirique mais les paramètres ont un sens biologique.

(LAURENT DELHALLE et al., 2012)

Principes des modèles de microbiologie prévisionnelle : trois types de modèles

Modèle primaire : reproduire l'évolution dans le temps de la population microbienne.

Modèle secondaire : modéliser l'influence des facteurs environnementaux sur les paramètres du modèle primaire (taux de croissance par exemple)

Modèle tertiaire : Établi des relations entre modèles primaires et secondaires.

⇒ **Exemple d'application** : Au cours de la croissance microbienne dans un yaourt, le pH change du fait de l'activité des micro-organismes. Cette variation du pH influence à son tour le taux de croissance. De plus, la température peut changer (transport des yaourts). La définition de la DLC (Date Limite de Consommation) est basée sur un modèle tertiaire.

Le cycle cellulaire

Définition : le terme croissance pour les micro-organismes ou pour des cellules isolées désigne ici uniquement l'augmentation de la population et non une croissance en taille de chaque cellule qui est pourtant une étape de leur cycle cellulaire.

Les milieux : les besoins des micro-organismes

Macroéléments : nécessaires en larges quantités à tous les micro-organismes : C, O, H, N, S et P + cations K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} et $Fe^{2+/3+}$. La forme sous laquelle ces éléments seront apporté va dépendre du type trophique de l'organisme

Microéléments ou éléments traces 6 nécessaires à la majorité des cellules (Mn, Zn, Cu, Co, Mb, Ni) rarement limitants pour la croissance .

Besoins spécifiques silicates pour les diatomées , forte concentrations en sodium pour les halophiles extrêmes, facteurs de croissance : acides aminés, bases azotées ou vitamines

(WILLEY et al., 2008)

Les milieux : Les types de milieux

Table 5.4		
Types of Media		
Physical Nature	Chemical Composition	Functional Type
Liquid	Defined (synthetic)	Supportive (general purpose)
Semisolid	Complex	Enriched
Solid		Selective
		Differential

Figure – Les types de milieux (2)

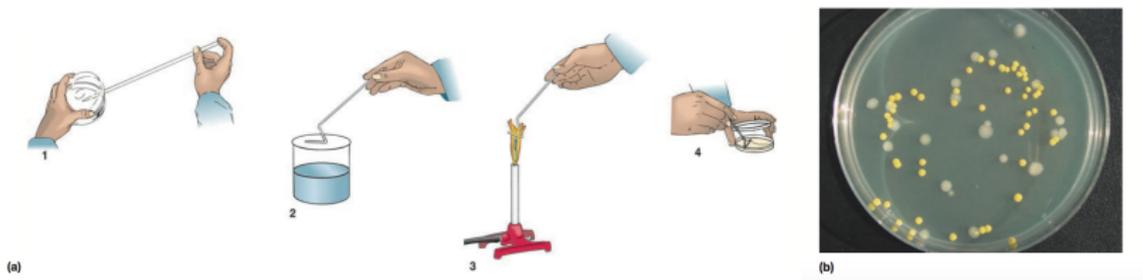
(WILLEY et al., 2008)

Les milieux : Les types de milieux

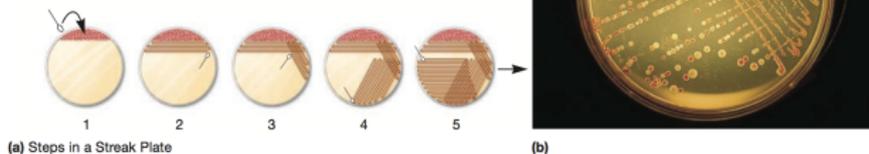
Table 5.6 Some Common Complex Media	
Nutrient Broth	Amount (g/liter)
Peptone (gelatin hydrolysate)	5
Beef extract	3
Tryptic Soy Broth	
Tryptone (pancreatic digest of casein)	17
Peptone (soybean digest)	3
Glucose	2.5
Sodium chloride	5
Dipotassium phosphate	2.5
MacConkey Agar	
Pancreatic digest of gelatin	17.0
Pancreatic digest of casein	1.5
Peptic digest of animal tissue	1.5
Lactose	10.0
Bile salts	1.5
Sodium chloride	5.0
Neutral red	0.03
Crystal violet	0.001
Agar	13.5

Table 5.5 Examples of Defined Media	
BG-11 Medium for Cyanobacteria	Amount (g/liter)
NaNO ₃	1.5
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	0.04
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.075

Les techniques d'isolement

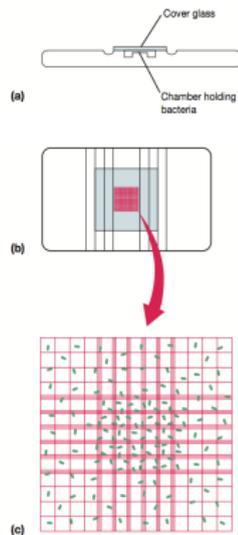
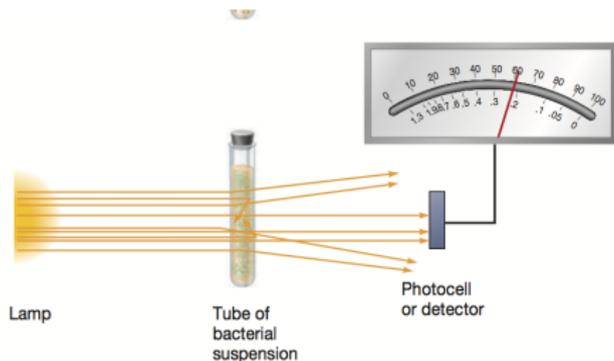


Note: This method only works if the spreading tool (usually an inoculating loop) is resterilized after each of steps 1–4.



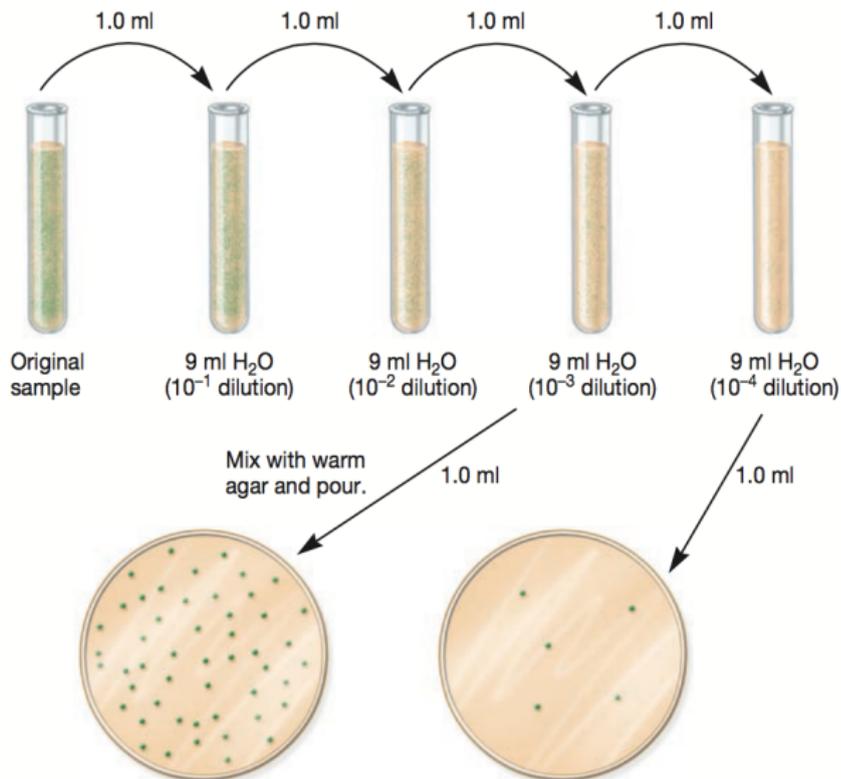
(WILLEY et al., 2008)

Suivi et quantification de la croissance

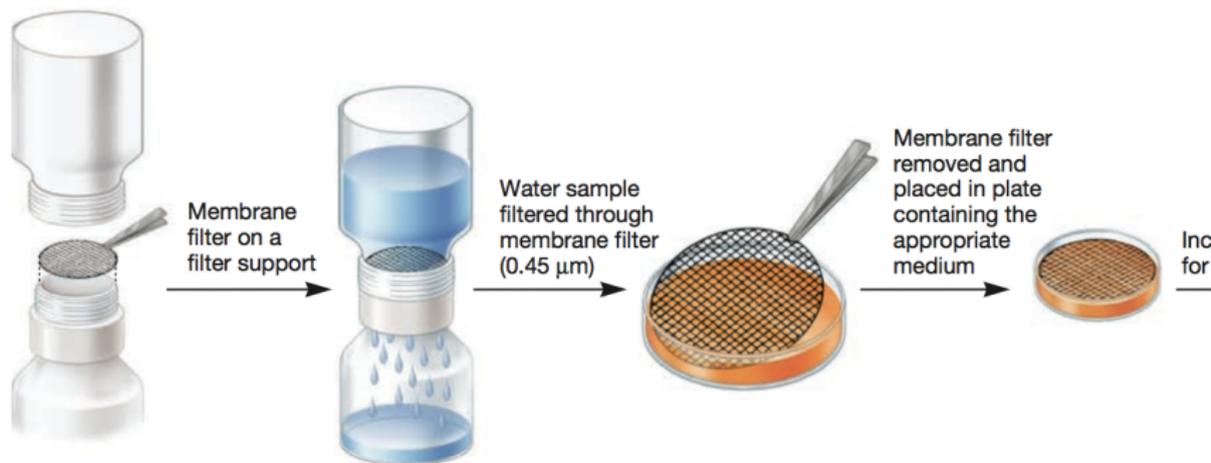


(WILLEY et al., 2008)

Suivi et quantification de la croissance



Suivi et quantification de la croissance



(WILLEY et al., 2008)

Suivi et quantification de la croissance

Exercice 1 : Étude de l'eau d'une rivière

Pour chacune de ces dilutions (1 à 5), on prélève 0,1 mL qu'on étale sur un milieu de culture solide en boîte de pétri. Au bout de 24h, on compte le nombre de colonies sur chaque boîte

n_j de dilution	1	2	3	4	5
Volume eau physiologique	90	9	9	9	0,9
Volume de a dilution n-1	10	1	1	1	0,1
nombre de colonies	ND	350	79	25	3

Table – Comptage des bactéries viables dans une eau de rivière

Faites un schéma du protocole et déterminez le nombre de CFUs dans les 100mL d'échantillon d'eau de rivière en tenant compte de toutes les mesures

Quantification de la croissance : bilan

Schéma bilan 1 : Mesure de la quantité de micro-organismes

Préparez un schéma bilan sur les différents types de mesure de la quantité de micro-organismes en indiquant si c'est une méthode directe ou indirecte, si elle permet de différencier les morts de vivants et le type de milieux possible pour ce type de mesures.

Culture en batch ou culture discontinue : courbe

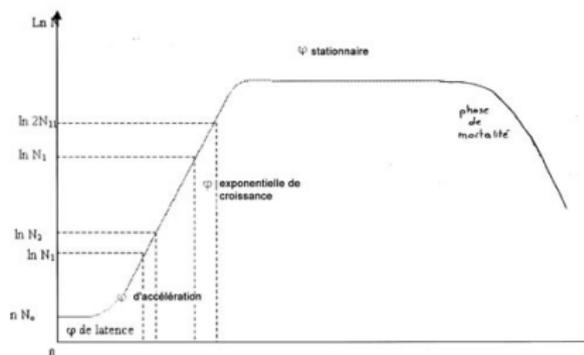
la phase de latence

textbfla phase exponentielle de croissance

la phase stationnaire vers 10^9 cellules/mL

la phase de mortalité :

logarithmique : une proportion constante de cellules meurent par heure. différentes formes de cellules "mortes" (incapables de se diviser en culture)



Culture en batch ou culture discontinue : phase de déclin

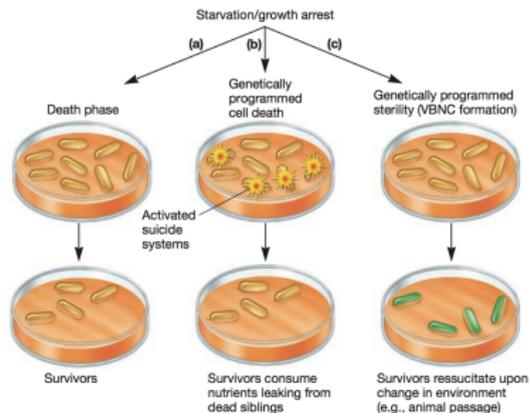


Figure 6.8 Loss of Viability. (a) It has long been assumed that as cells leave stationary phase due to starvation or toxic waste accumulation, the exponential decline in culturability is due to cellular death. (b) Some believe that a fraction of a microbial population dies due to activation of programmed cell death genes. The nutrients that are released by dying cells supports the growth of other cells. (c) The viable but nonculturable (VBNC) hypothesis posits that when cells are starved, they become temporarily nonculturable under laboratory conditions. When exposed to appropriate conditions, some cells will regain the capacity to reproduce.

Culture en batch ou culture discontinue : phase de déclin

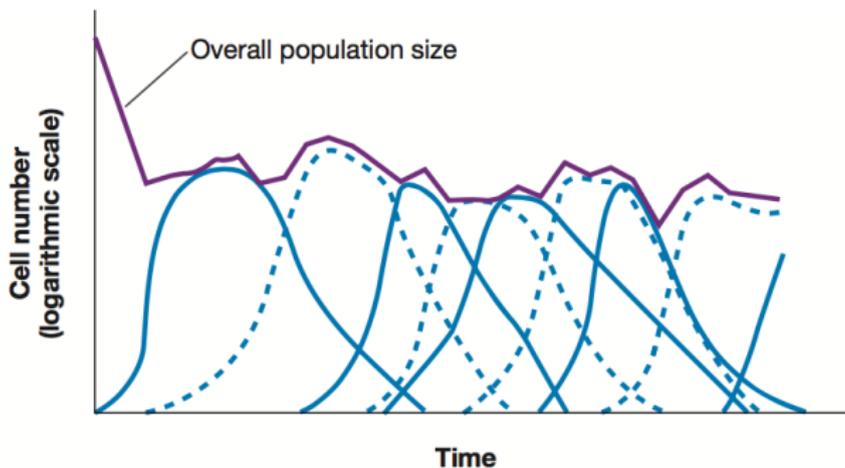
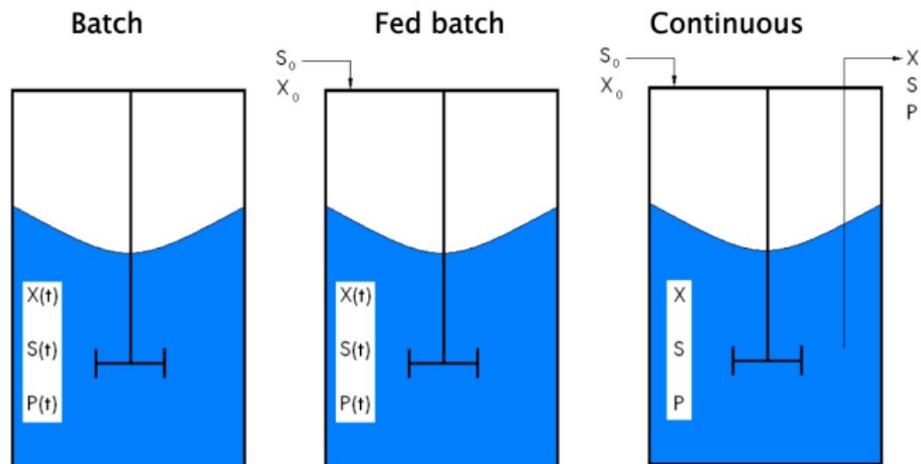
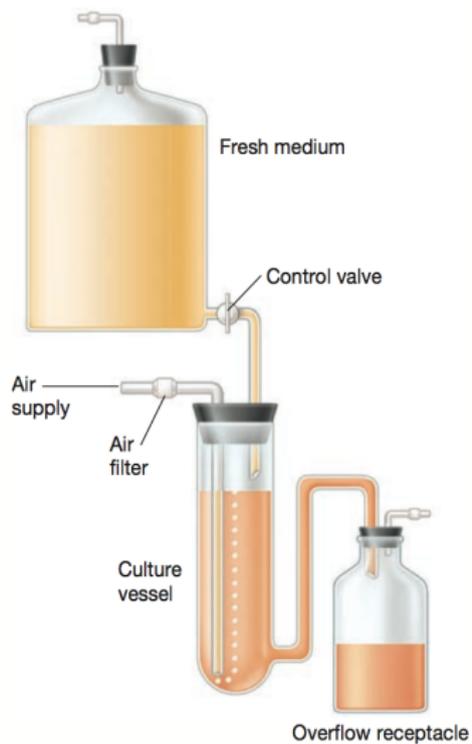


Figure 6.9 Prolonged Decline in Growth. Instead of a distinct death phase, successive waves of genetically distinct subpopulations of microbes better able to use the released nutrients and accumulated toxins survive. Each successive solid or dashed curve represents the growth of a new subpopulation.

les autres techniques de culture



les autres techniques de culture



Les modèles primaires de croissance

Modèles déterministe : Évolution du nombre de cellules peut être décrite par un ensemble de paramètres : description au niveau de la population.

Modèles stochastiques ou probabilistes : les paramètres sont des variables à distribution aléatoire représentant l'ensemble de la population bactérienne : les différences au sein de la population sont prises en compte.

(Delhalle et al., 2011)

Le modèle exponentiel (Buchanan, 1918)

Référentiel du modèle :

- ◇ En phase exponentielle
- ◇ Hypothèse : toutes les cellules se multiplient à vitesse maximale.

$$N_t = N_0 * \exp(\mu * t) \text{ avec } \mu = \frac{\ln(2)}{G}$$

Limites : surestimation du nombre de cellules

(Delhalle et al., 2011)

Mathématique de la croissance en représentation logarithmique

TOUT VA SE PASSER AU TABLEAU

ATTENTION ATTENTION

CELA NE SIGNIFIE PAS QUE CE N'EST PAS IMPORTANT

Le modèle linéaire en trois phases (Buchanan et al. 1997)

Référentiel du modèle :

- ◇ pas de possibilité de croissance en latence/ stationnaire
- ◇ Démarrage et freinage brusque de la croissance
- ◇ Hypothèse : toutes les cellules se multiplient à vitesse maximale en phase exponentielle.

$$\ln(N_t) = \ln(N_0) \text{ si } t \leq \lambda$$

$$\ln(N_t) = \ln(N_0) + \mu(t - \lambda) \text{ si } t > \lambda \text{ et } N(t) < N_{max} \text{ avec } \mu = \frac{\ln(2)}{G}$$

$$\ln(N_t) = \ln(N_{max}) \text{ si } N(t) \geq N_{max}$$

Limites : mauvais ajustement des données expérimentales

(Delhalle et al., 2011)

Le modèle non linéaire : modèle logistique (Rosso et al., 1995)

Référentiel du modèle :

- ◇ pas de possibilité de croissance en latence
- ◇ pas de transition entre latence et exponentielle
- ◇ Hypothèse : toutes les cellules se multiplient à vitesse maximale en phase exponentielle.

$$\ln[N(t)] = \ln(N_0) \text{ si } t \leq \lambda$$

$$\ln[N(t)] = \ln(N_{max}) - \ln\left(1 + \left(\frac{N_{max}}{N_0} - 1\right)e^{-\mu(t-\lambda)}\right) \text{ si } t > \lambda$$

Limites : mauvais ajustement des données expérimentales entre latence et exponentielle

Le modèle non linéaire Baranyi et al. (1993)

Référentiel du modèle :

- ◇ équation différentielle en phase exponentielle
- ◇ une fonction d'ajustement pour la transition latence exponentiel avec un paramètre entre 0 et 1 de l'état physiologique des bactéries
- ◇ une fonction d'ajustement pour décrire la phase d'inhibition basée sur la diminution des nutriments.

$$\ln[N(t)] = \ln(N_0) + \mu A(t) - \ln\left[1 + \frac{e^{\mu A(t)} - 1}{e^{N_{max} - N_0}}\right]$$

$$\text{avec } A(t) = t + \frac{\ln(e^{-\mu t} + e^{-\mu lag} - e^{-\mu t - \mu lag})}{\mu}$$

Limites : bon ajustement des données expérimentales entre latence et exponentielle

⇒ Logiciel Gratuit d'justement DMFit : [disponible ici](#)

Le modèle non linéaire Baranyi et al. (1993)

Résultats obtenus : *Listeria monocytogenes* dans de la viande hachée de porc irradiée et conditionnée sous film étirable à une température de 10 °C (Delhalle et al., 2009)

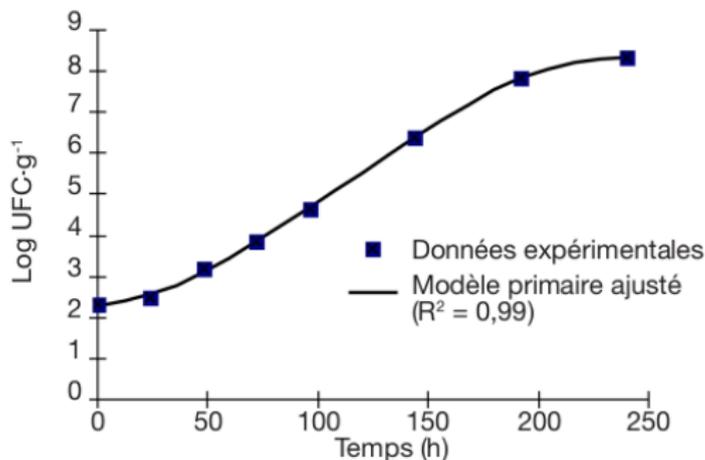


Figure 2. Ajustement d'un modèle primaire aux données obtenues lors d'un test de croissance — *Fitting of a primary model with data obtained during a challenge test.*

Modèle de croissance : exercice

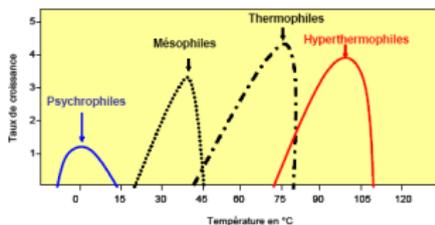
Exercice 2 : Croissance d'une souche d'*Acetobacter*Table – Croissance d'une souche d'*Acetobacter*

t (heures)	N	t (h)	N	t (h)	N	t (h)	N
0	10^5	5	$2,51 \cdot 10^5$	10	$1,51 \cdot 10^7$	15	$5,01 \cdot 10^7$
1	10^5	6	$5,75 \cdot 10^5$	11	$2,51 \cdot 10^7$	16	$5,25 \cdot 10^7$
2	10^5	7	$1,32 \cdot 10^6$	12	$3,63 \cdot 10^7$	17	$5,25 \cdot 10^7$
3	10^5	8	$3,02 \cdot 10^6$	13	$4,17 \cdot 10^7$		
4	$1,38 \cdot 10^5$	9	$6,92 \cdot 10^6$	14	$4,57 \cdot 10^7$		

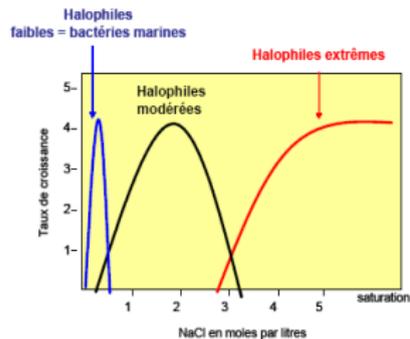
Tracez la courbe de croissance en échelle logarithmique, déterminez le taux de croissance népérien ainsi que le temps de génération.

Paramètres physico-chimiques de la croissance

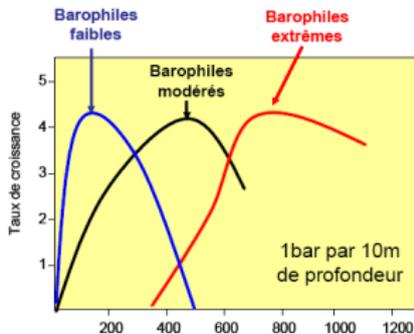
La température



La salinité



La pression



Les modèles secondaires principe

Les modèles secondaires permettent de décrire l'effet des conditions environnementales sur les paramètres du modèle primaire (Whiting et al., 1993)

- ◇ facteurs extrinsèques : **température** (suivi température pendant toutes les étape de l'aliment), gaz
- ◇ facteurs intrinsèques : pH, activité de l'eau, la présence naturelles de certains acides et les interaction entre les micro-organismes.

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles secondaires : principe

conditions d'un bon modèles secondaire (Ross et al., 2000)

- ◇ collecte des données réalisable
- ◇ paramètre environnemental doit avoir du sens
- ◇ les propriétés des fonctions mathématiques doivent refléter les phénomènes biologiques
- ◇ le modèle doit permettre des extensions
- ◇ le modèle de doit pas contenir plus de paramètres que nécessaire
- ◇ la gamme d'utilisation du modèle doit être suffisante

Les modèles secondaires pour la vitesse de croissance

Le gamma concept :

- ◇ Tous les facteurs sont indépendants et multiplicatifs :

$$\mu = f(temp) * f(a_w) * \dots$$

- ◇ l'effet de chaque facteur est une fraction du taux de croissance max

$$\gamma = \frac{\mu}{\mu_{max}} \text{ entre 0 et 1}$$

Modèles de type racine carrée

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles secondaires pour la vitesse de croissance

Le gamma concept

Modèles de type racine carrée :

- ◇ Purement empiriques basé sur l'effet de la température :

$\sqrt{\mu} = b(T - T_{min})$ b paramètre du modèle obtenu par régression.

- ◇ extensions :

$$\mu = b(T - T_{min})(a_w - a_{wmin})(pH - pH_{min})(pH - pH_{max})$$

- ◇ utilisation possible de ce modèle dans le gamma concept :

$$\gamma(a_w) = \frac{a_w - a_{wmin}}{1 - a_{wmin}}$$

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles secondaires pour la vitesse de croissance

Le gamma concept

Modèles de type racine carrée

Modèle cardinal :

- ◇ Empiriques mais paramètres a une signification biologique

$\mu = \mu_{opt} CM_n(X)$ CM pour Cardinal Model, X un facteur environnemental.

- ◇ le modèle cardinal peut tenir d'un phénomène biphasique dans la modélisation.

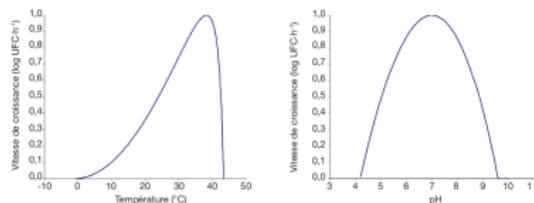


Figure 3. Simulation de la vitesse de croissance en fonction de la température et du pH par le modèle cardinal établi pour *Listeria monocytogenes* – Simulation of the growth rate in function of temperature and pH by the cardinal model established for *Listeria monocytogenes*.

Les modèles secondaires pour la vitesse de croissance

Le gamma concept

Modèles de type racine carrée

Modèle cardinal :

Modèle polynomial ou modèle bulldozers :

$$\mu = ax + by + cz + dx + \dots\dots fz^n$$

⇒ Très bon ajustement au jeu de données.

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles secondaires pour la phase de latence

Définition : On peut définir le temps de latence de cellules individuelles comme étant le temps entre l'inoculation d'une cellule et le moment de sa division (Pirt, 1975)

Définition : Au niveau d'une population, le temps de latence apparent est défini comme le temps nécessaire pour la multiplication par deux de la population (Buchanan et al., 1972).

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles secondaires pour la phase de latence

Définition : La définition communément admise est le temps correspondant à l'intersection entre la tangente au point d'inflexion de la phase exponentielle de la courbe de croissance et l'horizontale passant par l'ordonnée à l'origine de la courbe de croissance (Brul et al., 2007)

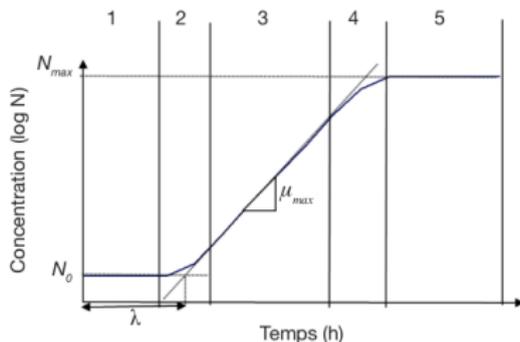


Figure 1. Courbe de croissance d'une culture bactérienne avec ses différentes phases — *Growth curve of bacterial culture with its different phases.*

Les modèles secondaires pour la phase de latence

La latence dépend des conditions avant et après le temps de latence. Le développement de modèles est complexe

- ◇ **Approche 1** temps de latence et vitesse de croissance modélisées séparément
- ◇ **Approche 2** : temps de latence proportionnel au temps de génération.

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles secondaires pour la phase de latence

Conditions de pré-incubations identiques :

$\lambda * \mu_{max} = k$ où k est une constante pour des conditions de préincubations données.

Lorsque les conditions sont optimales alors de temps de latence est minimal :

$$min * \mu_{opt} = k$$

$$\text{donc } min * \mu_{opt} = \lambda * \mu_{max}$$

Le temps de latence est très variable tandis que la constante k est assez stable.

(Delhalle et al., 2011)

Les modèles tertiaires

Définition : Les modèles utilisant des systèmes experts et des bases de données pour faire le lien entre les modèles primaires et secondaires sont appelés modèles tertiaires.

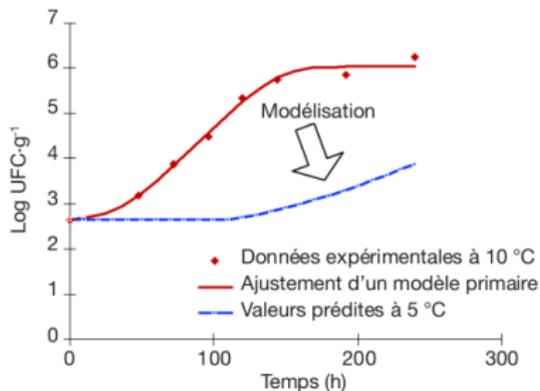


Figure 4. Évolution de la concentration en *Listeria monocytogenes* dans une viande hachée de porc conditionnée sous film étirable mesurée à 10 °C et prédite à 5 °C par un modèle tertiaire de croissance — Evolution of *Listeria monocytogenes* concentration in ground pork meat packaged in stretch wrap measured at 10°C and predicted at 5°C by a tertiary growth model.

Les modèles tertiaires : logiciels

[ComBase](#) : Contient trois logiciels de prédiction : ComBase Predictor, Perfringens predictor et DMFit.

[Foodrisk.org](#) : Analyse de risque

[Pathogen Modeling Program](#)

(Delhalle et al., 2011)

Exercice, modèles de croissance

Exercice 3 : Calcul de la DLC d'une compote de fruit

Contamination compote : *B. cereus* à 1 spore/g

DMI : 10^5 spores/g

Modèle primaire : $X_t = X_0 \times \exp(\mu \times (t))$

Modèle secondaire : $\sqrt{\mu} = 0,03 \times T$ (T en deg C et μ en h^{-1})

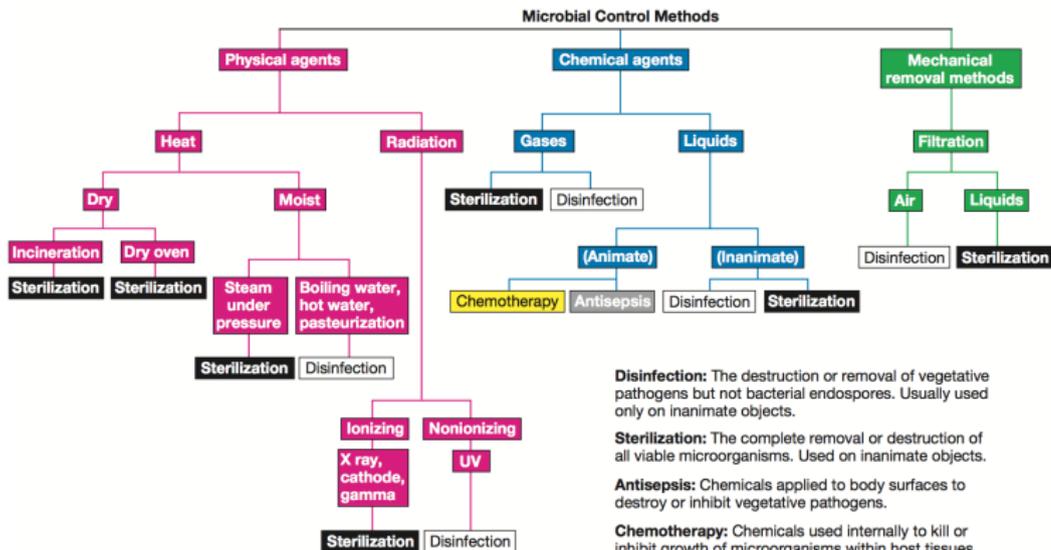
Étape	Température (°C)	μ	Durée (j)	X_0	X
Usine	3		2		
Détaillant	4		2		
Consommateur	7				DMI

Schéma, modèles de croissance

Schéma bilan 2 : Modèles de croissance

Faites un schéma/organigramme bilan de façon à présenter l'ensemble des modèles de croissance ainsi que les liens entre eux, les hypothèses et les limites de chaque modèle. Vous ferez le détail du modèle de croissance de Buchanan avec les étapes de la croissance en Bactch et les mathématiques associées.

Contrôle de la croissance



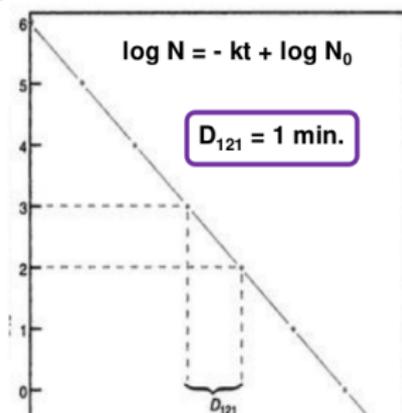
Modèle exponentiel de décroissance

Définition : Temps de Réduction Décimal, D : soit le temps d'exposition nécessaire pour réduire d'un facteur 10 la population de micro-organisme.

Le modèle est aussi un modèle exponentiel qui est souvent traité en logarithme décimal.

$$\log(N) = \log(N_0) - kt$$

$\text{Log}_{10} N$ (Nombre de survivants)



Si $(\log N_2 - \log N_1) = -1$

alors, $(t_2 - t_1) = D_T$

Modèles secondaires exemple

Définition : valeur d'inactivation thermique, z : soit l'augmentation de température à réaliser pour diminuer par 10 la valeur de D_T

Exercice de modélisation de la décroissance

Exercice 4 : Effet de la température sur une culture de levures

Culture de levure en phase stationnaire (500 μ L par tube).

Tube plongé dans la glace

Dilution à demi dans le bleu de funk

Comptage cellule Mallassez (4 rectangles - 40 μ L)

Table – Résultat du comptage des levures en cellule de Mallassez

durée de chauffage (min)	2	4	6	8	10	12
Levures vivantes comptée	110	89	61	48	32	20

Références

-  LAURENT DELHALLE et al. (2012). “Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments (synthèse bibliographique)”. In : *Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Modele-SV* 16.3, p. 369-381.
-  WILLEY, Joanne M. et al. (2008). *Prescott, Harley, and Klein's microbiology*. 7th ed. OCLC : ocm71044581. New York : McGraw-Hill Higher Education. ISBN : 978-0-07-299291-5 978-0-07-330208-9.