

RECHERCHES Une expertise française en microbiologie prévisionnelle : le projet PREVIUS

Research programmes A forward-looking French experiment in microbiology: the PREVIUS project

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 5, 424-6, Septembre - Octobre 2000, Dossier : Sécurité sanitaire des aliments et industrie

Auteur(s) : Jean-Pierre GUYONNET, Directeur adjoint Arilait Recherches, 42, rue de Châteaudun, 75009 Paris.

Résumé : Le projet PREVIUS (une dénomination non encore définitive) vise la construction d'une expertise française en microbiologie prévisionnelle (ou « microbiologie quantitative ») dans le domaine agro-alimentaire. Mis en chantier depuis un an, cet outil élaboré avec le soutien des pouvoirs publics à l'intention des professionnels et de leurs partenaires (organismes publics, fournisseurs, clients, laboratoires, centres techniques) devrait être opérationnel fin 2002.

Summary : The objectives of the previus project is to implement an expertise in food microbiology, in order to create an interactive tool, intended to be used by the food industry and its partners, to answer concrete questions on the evolution of micro-organisms in foodstuffs. The Previus tools will be composed of a databes (on foodstuffs, processes, pathogens and spoilage micro-organisms), mathematical predictive models (for growth, survival and decrease of micro-organisms), and a user friendly software implementing an access via Internet. The builders of the system are gathered in a Scientific group including laboratories, food companies and governmental organizations (Ministry of Agriculture, and of Research). It is expected that Previus will be launched in 2002, as a bilingual system (French-English), and will be operational and available to the food industry from the beginning of 2003.

Keywords : predictive-microbiology, predictive modelling, pathogens, food microbiology, spoilage.

ARTICLE

Microbiologie prévisionnelle

Afin de répondre à l'attente croissante des consommateurs en matières de qualité et de sécurité sanitaire, les filières agro-alimentaires, encouragées par les pouvoirs publics et avec l'aide de la recherche et de leurs qualitiens, ont développé depuis des années des méthodes et des moyens d'analyse, de contrôle, de garantie et d'assurance qualité, codifiés par les différents « Guides de bonnes pratiques d'hygiène », la certification ISO 9000, la méthode *Hazard Analysis and Critical Control Point* (HACCP) [1].

Le développement de flores microbiennes pathogènes - en cas de contamination à un stade ou un autre de la fabrication ou de la vie du produit - demeure cependant un problème majeur à traiter, dont la maîtrise conditionne le temps durant lequel un produit demeure consommable sans danger.

L'estimation de cette durée, en relation avec ce danger microbien, passe aujourd'hui par la mise en place de tests en laboratoire avec contaminations artificielles (appelés « tests d'épreuve » ou « challenge tests ») situant le produit dans les conditions supposées de son environnement après sortie de fabrication. Les résultats de ces tests, associés aux taux limites de populations microbiennes considérés comme admissibles, et après application d'un coefficient de sécurité, permettent ainsi la fixation des date limite de consommation (DLC) et date limite d'utilisation optimale (DLUO) du produit. Quoique donnant de bons résultats, cette méthode empirique, lourde et coûteuse, interdit de multiplier à l'infini les expérimentations et de varier les paramètres afin d'accéder à l'ensemble des états possibles de l'environnement d'un produit, contraintes qui en limitent grandement la portée.

La microbiologie prévisionnelle apporte à ce problème de la détermination du développement des flores microbiennes pathogènes une solution moderne extrêmement positive, puisqu'elle permet une exploitation optimisée et élargie des données obtenues au cours des tests d'épreuve. Par la médiation de modèles mathématiques, la microbiologie prévisionnelle, comme son nom l'indique, évalue l'évolution et le comportement - croissance, survie ou mort - des populations microbiennes. Les modèles développés à ce jour en laboratoire déterminent les taux de destruction, de croissance ou de survie, en prenant en compte principalement trois paramètres : la température, le pH et l'activité de l'eau (aw). À terme, ils devraient également prendre en compte des caractéristiques comme les inhibiteurs (chimiques, organiques...), les interactions, l'état des micro-organismes (stress), la compétition entre les différentes flores, les effets « matrice » liés à la nature propre des aliments, etc. Discipline relativement nouvelle, la microbiologie prévisionnelle progresse ainsi au travers d'un travail interdisciplinaire réunissant chercheurs en biologie et mathématiciens, et ce qui était il y a quinze ans une curiosité de laboratoire est aujourd'hui en passe de devenir un outil utilisable sur le terrain.

Au-delà de cet apport prioritaire concernant la prévision de la durée de vie des aliments, la microbiologie prévisionnelle pourra également se révéler très précieuse dans le cadre du processus d'analyse des points critiques en HACCP et être mise à contribution dans le cadre des démarches de l'analyse quantitative des risques (AQR). Elle devrait aussi jouer un rôle important dans la formulation et la mise au point de nouveaux produits.

Telles sont les perspectives qui, pour l'essentiel, ont motivé le lancement du projet PREVIUS.

Construction de l'outil

La volonté des pouvoirs publics de partir des compétences existantes a été relayée par l'ACTIA et la Direction générale de l'Alimentation (DGAL) dont les travaux de préparation ont abouti en juin 1998 à la rédaction d'un document APS. Après avis favorable des ministères de l'Agriculture et de la Recherche, le démarrage proprement dit du projet a eu lieu fin 1999, l'association UNIR ayant dans un premier temps reçu mandat de la coordonner (*encadré 1*).

Grandes lignes du projet

L'outil comprendra essentiellement trois groupes d'éléments :

- une base de données ;
- des modèles mathématiques ;
- un logiciel interactif d'accès.

La base de données, élément central du système, réunira l'ensemble des informations concernant non seulement les micro-organismes (les flores pathogènes en premier lieu, puis les flores d'altération des produits), mais également les procédés de fabrication, les conditions de conservation de transport des produits et les produits eux-mêmes. C'est cet ensemble de données « microflore-procédé-produit » qui constituera « la base » de tous les calculs prévisionnels.

Les outils mathématiques retenus pour PREVIUS seront des modèles de croissance du type cardinal (*encadré 2*), de survie et de destruction microbiennes.

Le logiciel d'accès, *via* Internet, permettra la consultation en ligne de la base et la réalisation de simulations à partir des données issues de la base ou directement entrées par l'utilisateur. À ce jour, plusieurs outils étaient à la disposition des professionnels de l'agro-alimentaire :

- le logiciel *Food Micromodel*, mis au point au Royaume-Uni et largement commercialisé mais fondé sur un type de modélisation considéré aujourd'hui comme dépassé ;
- le *Pathogen Modelling Programme* (PMP), diffusé par la FDA, de même type que le précédent mais fournissant des intervalles de confiance des prévisions ;
- enfin le système Dyn@card, développé par Danone, et fondé sur le modèle « cardinal » de prévision.

C'est ce système, étudié par Laurent Rosso et considéré par les spécialistes comme le meilleur existant, qui a été retenu. Conçu pour être utilisé au sein d'une entreprise pour le suivi des procédés de fabrication, il préfigurait, à une échelle réduite, ce à quoi est destiné PREVIUS : fournir des réponses concrètes aux questions des professionnels sur le développement des germes dans les aliments, sur la base de la connaissance des germes, des procédés et des produits. Conçu pour suivre un nombre relativement réduit de produits, le système devait subir une évolution afin de pouvoir traiter les besoins les plus larges possibles, en termes de famille d'utilisateurs comme de produits.

Déroulement du projet

La phase 1 du projet, démarrée fin 1999, comprend principalement les opérations de constitution de la base (à partir des données bibliographiques) et de conception de l'outil d'interrogation.

Pour la base, cinq germes pathogènes ont été retenus : *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*. Parallèlement à cette saisie des données microbiologiques, est effectuée l'intégration des données concernant les procédés et les produits.

Cette première phase comprend également la construction de l'outil logiciel.

Les phases ultérieures du projet seront dédiées au perfectionnement de tout ce qui aura été démarré en phase 1 :

- renseignement de la base de données ;
- choix et perfectionnement éventuel des modèles de prévision ;
- développement du logiciel.

L'objectif est de mettre le système à disposition des utilisateurs à la fin 2002.

Perspectives d'utilisation

Priorité à la confidentialité

L'efficacité et la qualité des résultats du système dépendront également de la confidentialité qu'il permettra d'assurer aux industriels utilisateurs, qui entreront leurs données sur leurs produits et leurs procédés pour obtenir, en retour, une prévision ou un diagnostic.

Cette question de la confidentialité a été considérée comme primordiale et a été intégrée en tant que telle au cahier des charges des équipes de conception.

Implications internationales

Les implications internationales d'un tel projet pourraient naturellement se révéler importantes, ne serait-ce qu'au niveau européen où le besoin d'un système d'expertise faisant l'objet d'un large consensus et concernant la qualité microbiologique des aliments se fait aujourd'hui largement ressentir.

L'adoption d'un tel système éviterait les désaccords concernant par exemple les DLC (dates limites de consommation), lors des passages de frontière des produits.

Les équipes du projet s'efforceront d'agir dans ce sens, en mettant en place, pour commencer, un échange d'informations avec les équipes européennes travaillant sur ces sujets.

Un outil évolutif

Une fois en service, PREVIUS deviendrait rapidement obsolète s'il demeurait un système figé.

La base de données sera régulièrement enrichie des données en provenance de ses utilisateurs ou résultant de programmes de recherches complémentaires, afin de permettre des prévisions de mieux en mieux « documentées ».

Simultanément une réflexion visera l'amélioration continue des modèles de prévision et la prise en compte, s'il y a lieu, de paramètres supplémentaires. Des travaux de recherche associés au projet, orientés vers des questions spécifiques comme par exemple la compréhension de phénomènes de compétition et de stress bactériens, contribueront à enrichir et affiner le système.

Conçu pour évoluer, ce n'est qu'à cette condition que PREVIUS pouvait et pourra demeurer un outil tourné vers ses utilisateurs.

Encadré 1

Participants actuels et organisation

Participent actuellement au projet des centres techniques de l'agro-alimentaire (ADRIA, AERIAL, ARILAIT, CTSCCV) : l'ACTIA, des écoles ou instituts de recherche publics ou privés (ENVA, INRA, INA-PG, IPL), des entreprises (Bongrain, Danone, Pernod-Ricard, BEL), l'association UNIR ainsi que le ministère chargé de la Recherche (MESR) et le ministère de l'Agriculture.

Un conseil prend toutes les grandes décisions et un comité technique assure le suivi des travaux en collaboration avec le laboratoire principal nommé « cellule opérationnelle ».

Des groupes de travail, constitués de membres du comité technique, réfléchissent sur les points importants et préparent le travail des laboratoires.

À ce jour, cinq groupes de travail ont été constitués :

- collection de souches de référence ;
- méthodologies ;
- cahier des charges ;
- évaluation des apports ;
- communication.

Encadré 2

Modèles « cardinaux » de croissance

Les spécialistes en microbiologie prévisionnelle distinguent deux grandes familles de modèles : les modèles *primaires* et les modèles *secondaires*.

Les modèles *primaires* décrivent l'évolution des micro-organismes en fonction du temps (dans un environnement déterminé).

Les modèles *secondaires* décrivent la dépendance des *paramètres* des modèles primaires (c'est-à-dire principalement le temps de latence, le taux de croissance maximal et la concentration cellulaire maximale) par rapport aux conditions de l'environnement, décrites par la température, le pH, l'activité de l'eau, etc.

On distingue plusieurs types de modèles *secondaires*, parmi lesquels les modèles *polynomiaux* et les modèles *cardinaux*.

Les premiers sont utilisés pour décrire une croissance liée à plus de deux facteurs, sous la forme d'une expression de type polynomial de la forme : « Croissance = $ax + by + cz + dx^2 + ey^2 + \dots + nz^n$ ». Ces modèles fournissent des prévisions jugées acceptables, leur défaut principal étant de ne pas permettre de donner une interprétation biologique de leurs paramètres (a, b, c... n).

Les modèles *cardinaux* sont fondés, quant à eux, sur les températures cardinales (Tmin, Topt, Tmax) et les pH cardinaux (pHmin, pHopt, pHmax), c'est-à-dire sur les valeurs de ces deux paramètres respectivement aux conditions minimales, optimales et maximales de croissance.

Au travers de leurs outils mathématiques, ces modèles *cardinaux*, étudiés en particulier en France par Laurent Rosso, restent proches de la dimension biologique des phénomènes et offrent de larges possibilités d'application, avec une bonne précision d'ajustement.

C'est pourquoi ce modèle, développé par le groupe Danone dans le cadre de son système Dyn@card et modulant les évolutions nécessaires, a été adopté par les concepteurs du projet PREVIUS.

REFERENCES

1. JOUVE JL (1995). Qualité microbiologique et système HACCP. *OCL*, 2 : 290-6.