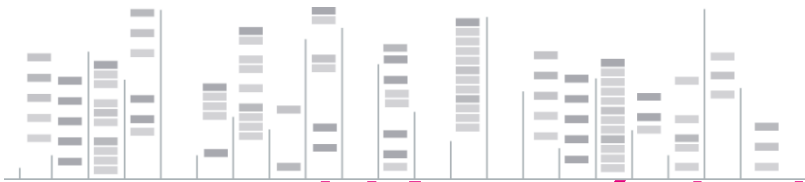


Comment identifier les étapes sensibles pour la maîtrise des dangers ?

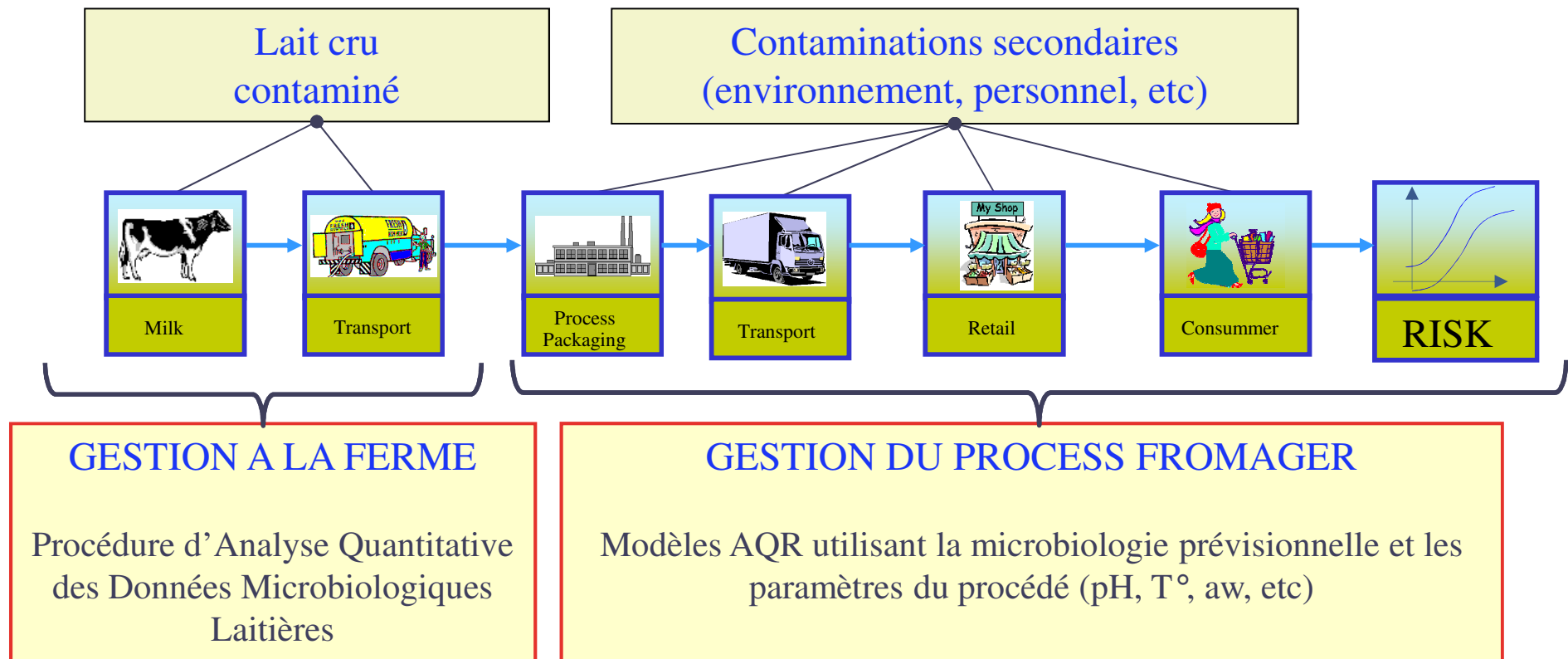
Le cas de *Listeria monocytogenes* dans les fromages à pâte molle et croûte lavée au lait pasteurisé

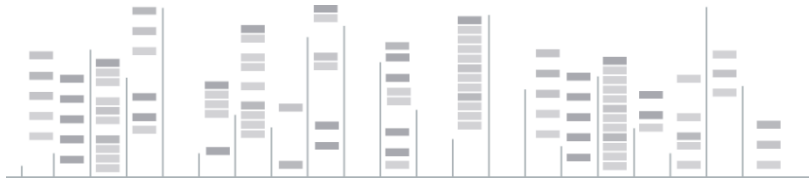
Fanny TENENHAUS-AZIZA

Colloque Quant'HACCP – 24 novembre 2011



L'Appréciation quantitative des Risques dans la filière laitière

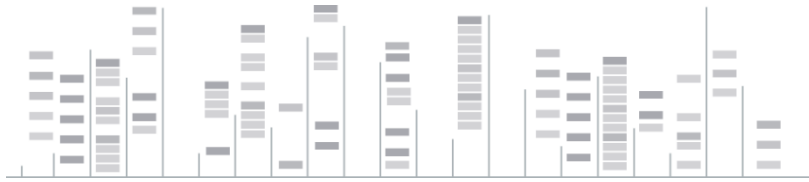




Contexte

- | Plan HACCP: Identifier les étapes, paramètres physiques et chimiques du process pouvant avoir un impact sur le comportement bactérien et établir des mesures de maîtrise
 - Rendre l'HACCP quantitatif

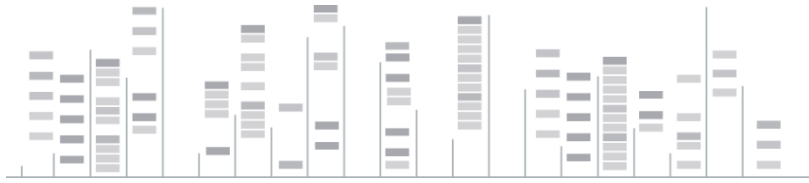
- | Développement d'une méthodologie qui permet 1/ d'identifier ces paramètres et 2/ d'établir un lien quantitatif entre les paramètres et un Objectif de Sécurité Alimentaire (OSA)
 - Application au cas de *Listeria monocytogenes* dans les fromages à pâte molle au lait pasteurisé



Plan

- | Description des caractéristiques du modèle AQR associé de la fourche à la fourchette

- | Présentation des résultats préliminaires de la méthodologie développée pour identifier les paramètres du modèle permettant le respect d'un OSA
 - Analyse de sensibilité
 - Méthode d'acceptation/rejet

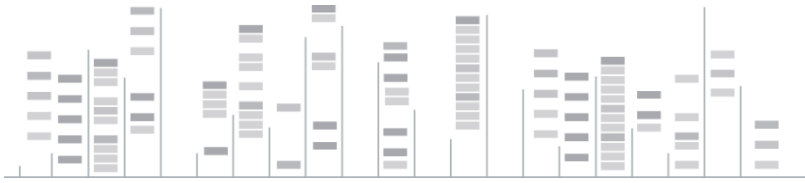


Description du modèle AQR

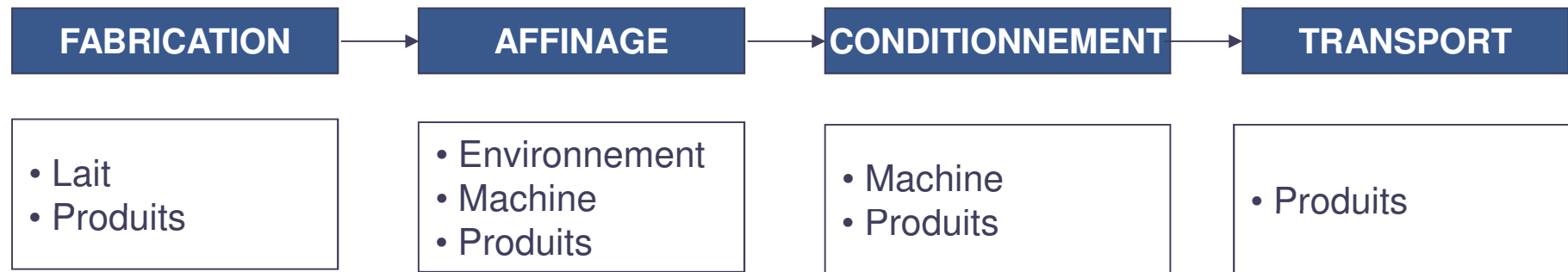
 *AQR Listeria monocytogenes* dans les fromages à pâte molle au lait pasteurisé

- | Question des contaminations secondaires
- | Impact de l'environnement sur la contamination des fromages en cours de process
- | Quelle efficacité des mesures de maîtrise ?
- | Respect d'un OSA ?





Approche modulaire / compartimentale



Calcul du niveau de contamination du compartiment C à l' instant t

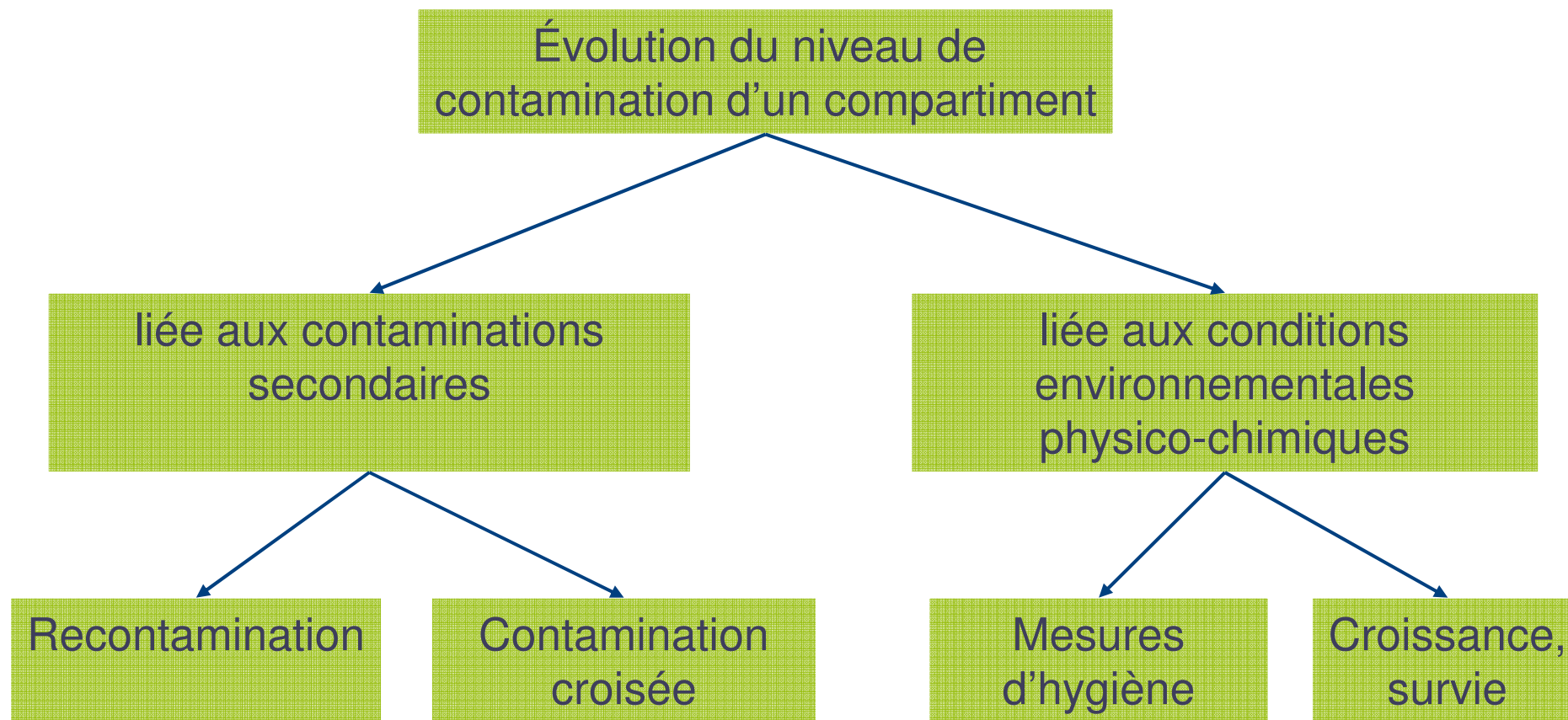
$$C(t) = (a_i, b_i), i = 1 \text{ à } n, \text{ où } n, \text{ nombre de colonies}$$

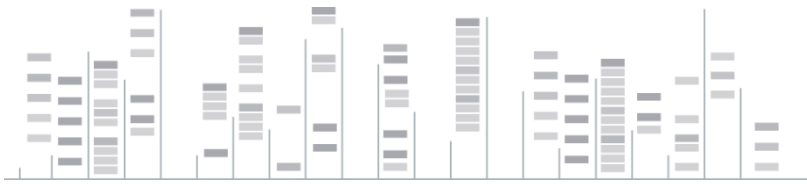
a_i = Taille de la colonie i (cellules)

b_i = Latence de la colonie i (heures)



Évolution du niveau de contamination

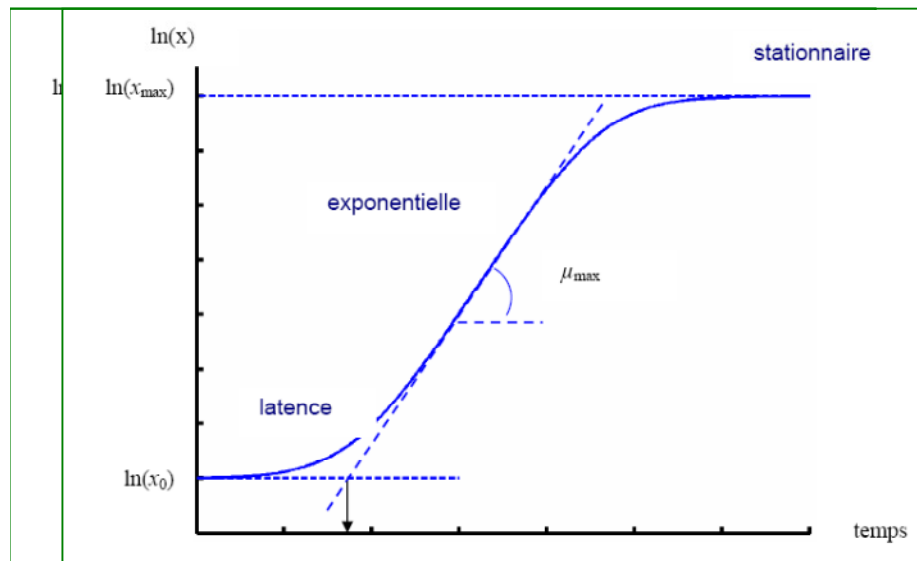




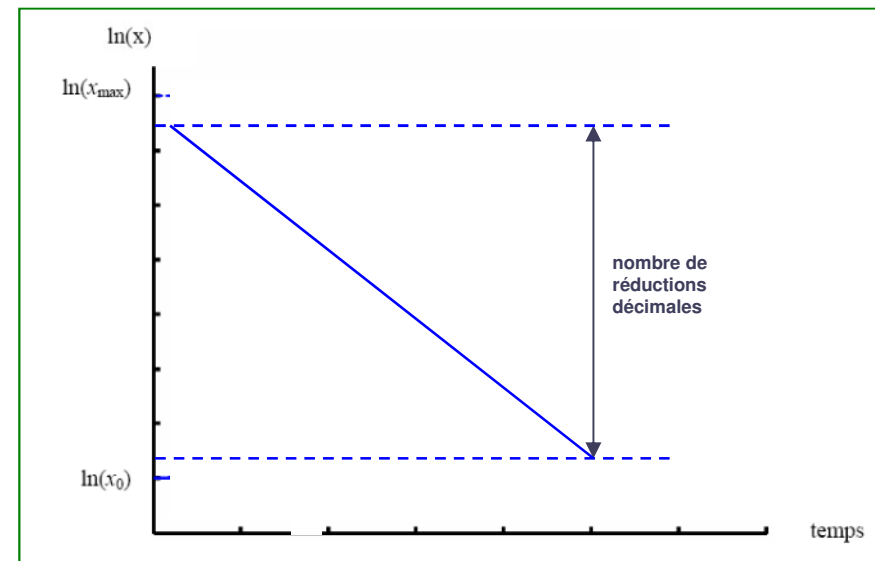
Evolution des charges microbiennes

Croissance, survie, destruction

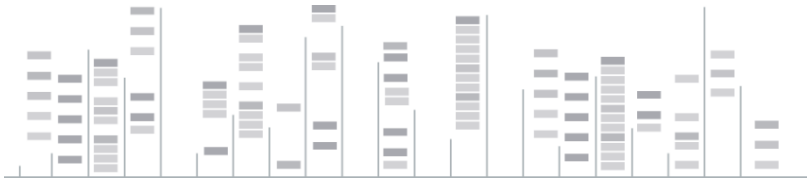
- Historique des conditions physiologiques des bactéries (ie. stress)
- Conditions environnementales dynamiques



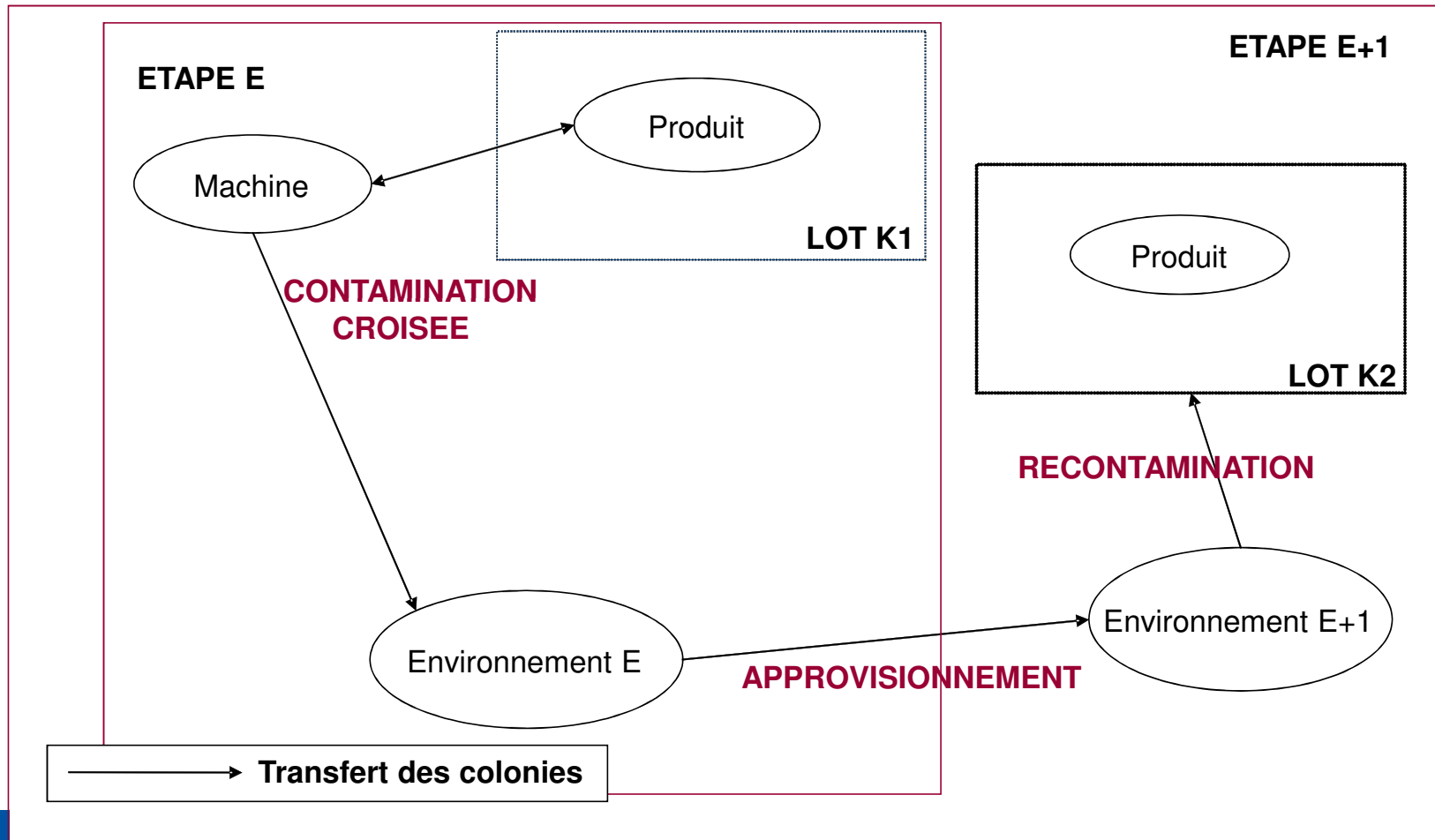
Croissance



Destruction

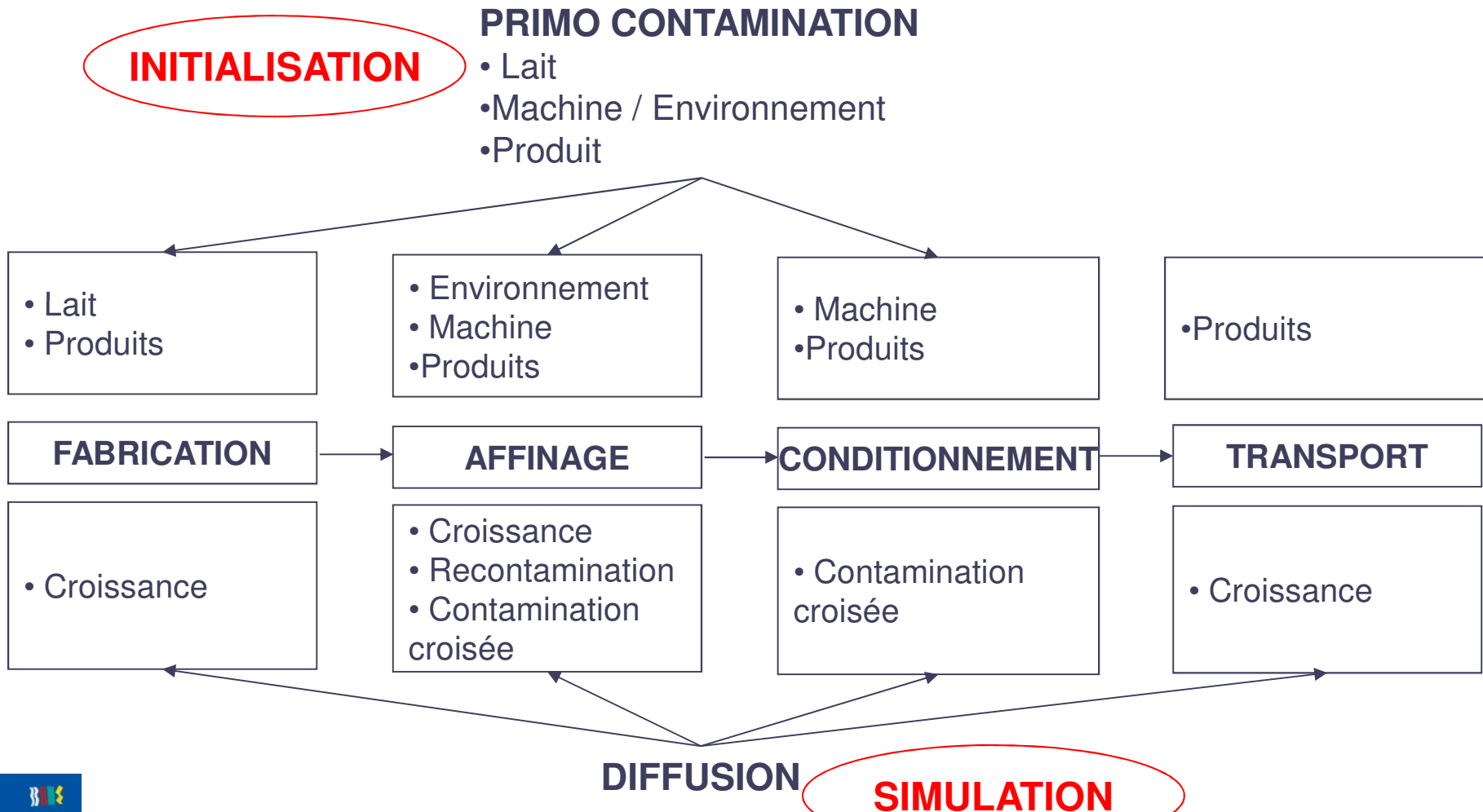


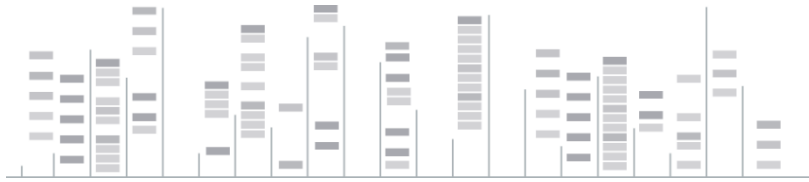
Contaminations secondaires





Application à un procédé





Mesures de gestion

↳ Mesures d'hygiène

- ! Fréquence (produits⁻¹, jours⁻¹)
- ! Intensité (Nombre de réductions décimales)

↳ Mesures de gestion

- ! Nombre / Fréquence des autocontrôles de l'environnement
- ! Nombre de produits analysés par lot
- ! Sensibilité des tests

↳ Deux types de régimes

- ! Régime standard
- ! Régime renforcé

Implémentation du modèle

def5

Untitled 1

Etapas fabrication	Durée	Température	Recontamination	Concentration	Vecteur des bassines ou produit contaminés
Pré- emprésurage	1	35	0	0	0
Post- emprésurage	1.36	35	0	0	0
Egouttage	23	35	0	0	0
Haloir acidification	0	34	0	0	0
Refroidissement	0	20	0	0	0
Saumurage ou salage à sec	1.75	12	0	0	0
Ressuyage	24	12.5	0	0	0
Séchage	0	0	0	0	0
Levuration	72	0	0	0	0

Paramètres pH

Croute	Coeur
a = 6e-013	a = 7.0924e-013
b = -2.7425e-009	b = -3.8477e-009
c = 3.0537e-006	c = 6.9656e-006
d = 0.0013878	d = -0.0031901
e = 5.4011	e = 5.4094

Paramètres aw

Croute	Coeur
a = 2.6104e-014	a = 1.5113e-014
b = -9.6076e-011	b = -5.0835e-011
c = 5.4784e-006	c = 5.4784e-006
d = -4.8159e-005	d = -4.8159e-005
e = 0.9630	e = 0.9630

Jour d'application du scénario de primo-contamination en phase de fabrication: []

def4

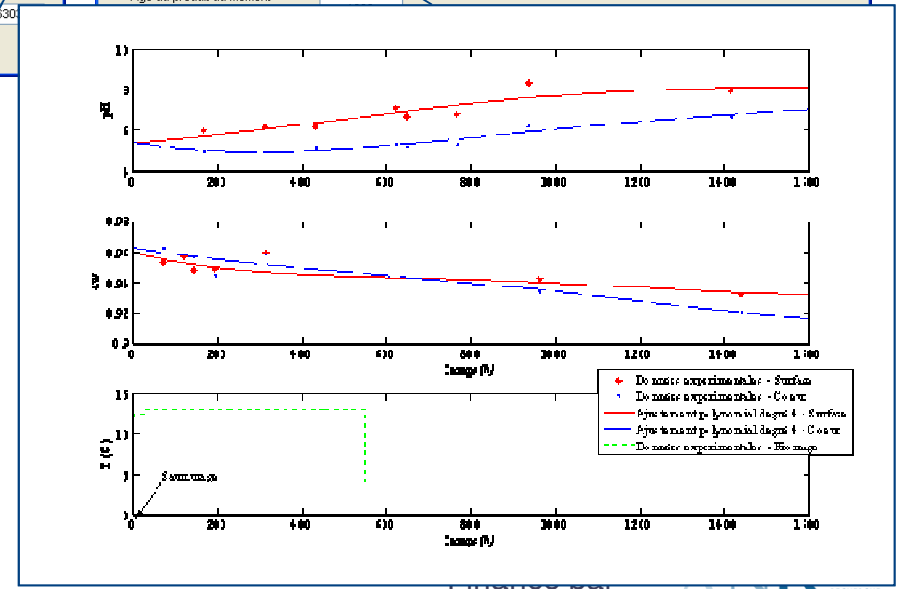
Degré d'efficacité du lavage Environnement *	2	Primo-contamination du milieu de l'environnement d'affinage (nb de cellules)	2000	Nombre d'itérations	20
Degré d'efficacité du lavage Machines *	3	Primo contamination de la machine d'emballage (nb de cellules)	0	Répertoire de sauvegarde	results
Nombre de réductions décimales supplémentaires en régime renforcé	1	Primo contamination de la machine de soin (nb de cellules)	0		
Fréquence des opérations d'hygiène dans le milieu de l'environnement d'affinage	50				
Nombre de fromages traités entre deux lavages machine de soins *	8750				
Durée de passage dans les haloirs (h) *	132				
Nombre de cycles haloir/soins *	4				
Température des haloirs d'affinage *	13	Taille maximale des colonies	10 ⁺⁵		
Nombre de sous-lots par lot (au sens du régime standard)	3	Probabilité (Transfert colonie Environnement / Produit) *	0.000001		
Nombre de haloirs d'affinage	4	Probabilité (transfert colonie Salle Soins / Haloir) *	0.05		
Nombre de jours	200	Pourcentage de colonies de l'environnement qui croissent *	0.7		
Age du produit au moment		temps de génération dans les haloirs (h) *	24		

Sauvegarder et lancer la simulation

analyses

ENVIRONNEMENT	FROMAGES		
Nombre d'analyses par semaine *	25	Nombre de fromages analysés par lot	5
Sensibilité du test	0.98	Nombre d'analyses supplémentaires en plan renforcé	3
Spécificité du test	1		
Surface totale de la zone d'affinage	2000		
Surface moyenne d'un frottis	0.003		
Type de plan de controle	1		
Nombres d'analyses supplémentaires si analyse positive	5		

Sauvegarder





Comparaison du risque moyen de listériose en fonction du scénario

Enceinte
200 jours
N = 100 consommations
q = 25 grammes
Produit (c_{200j} , p_{200j})



$$r_{200j} = 1 - e^{-rX} \text{ avec } X = p_{200j} \times c_{200j} \times q \times N.$$



Scénario	Valeur initiale / Valeur modifiée	Concentration Moyenne	Prévalence moyenne (%)	Risque
<i>Référence</i>	-	$10^{2,48}$	$0,0355$	$2,73 \cdot 10^{-10}$



Comparaison du risque moyen de listériose en fonction du scénario

Enceinte
200 jours
N = 100 consommations
q = 25 grammes
Produit (c_{200j} , p_{200j})



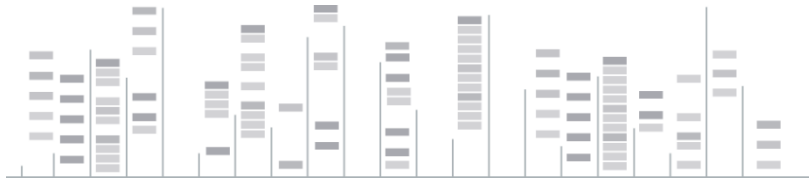
$$r_{200j} = 1 - e^{-rX} \text{ avec } X = p_{200j} \times c_{200j} \times q \times N.$$



Maintien des sols d'affinage au sec

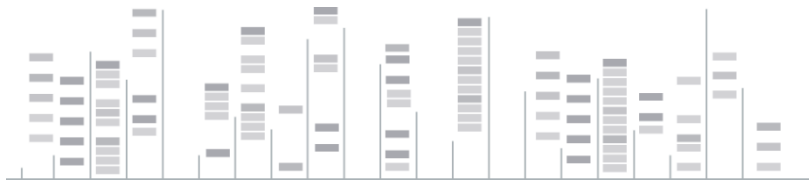
Installation des produits en hauteur

Scénario	Valeur initiale / Valeur modifiée	Concentration Moyenne	Prévalence moyenne (%)	Risque moyen
<i>Référence</i>	-	$10^{2,48}$	0,0355	$2,73 \cdot 10^{-10}$
<i>Temps génération milieu hâloir</i>	24h / 48h	$10^{0,67}$	0,0044	$5 \cdot 10^{-13}$
<i>Primo-contamination</i>	2000 cellules / 500 cellules	$10^{2,5}$	0,0092	$7,34 \cdot 10^{-11}$
<i>Efficacité opération hygiène machine</i>	3 RD / 2 RD	$10^{2,49}$	0,035	$2,79 \cdot 10^{-10}$
<i>Transfert Environnement / Produit</i>	10^{-6} / 10^{-5}	$10^{2,45}$	0,4014	$2,89 \cdot 10^{-9}$
<i>Xmax</i>	10^5 / 10^7	$10^{4,46}$	0,0364	$2,64 \cdot 10^{-8}$



Tache 5.1 du projet Quant'HACCP

- | Etablir un lien entre un Objectif de Sécurité Alimentaire et les paramètres du modèle
 - Modèles complexe avec un grand nombre de paramètres, d'échelles de temps
 - Paramètres pris en compte: procédé, croissance, transfert, etc.

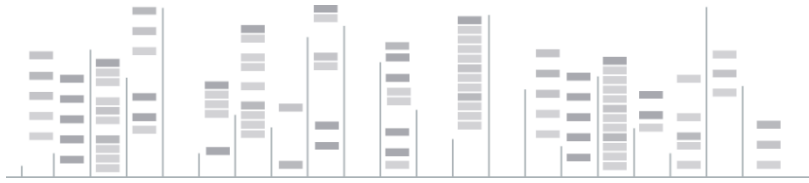


Plan de l'étude

- ↳ Définir des critères pour résumer les nombreuses sorties du modèle
 - | Prévalence par lot
 - | Moyenne de la concentration des fromages
 - | 90^{ème} percentile de la concentration

- ↳ Analyse de sensibilité permettant d'extraire les paramètres ayant le plus d'impact
 - | Tenir compte de la complexité du modèle: 103 paramètres initialement
 - | Tenir compte de la dynamique du modèle: technique d'AS spécifique

- ↳ Établir un lien quantitatif entre les PC et le FSO à l'aide d'algorithme d'acceptation/rejet
 - | A partir de simulations n'utilisant que les paramètres extraits par l'AS (les autres étant fixés)
 - | Algorithme d'acceptation/rejet adapté



1. Analyse de sensibilité multivariée

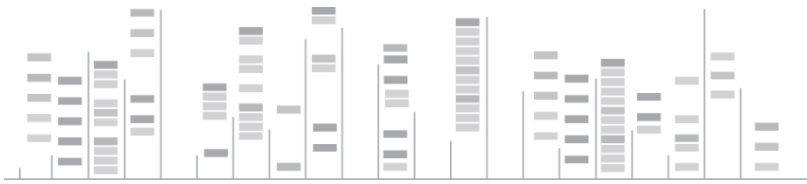
Simulations du modèle pour l'AS

- En utilisant 17 paramètres et 5 scénarios de primo-contamination
- 5 niveaux par paramètres
- 10 itérations par scénario
- plan factoriel fractionnaire (RIII) de taille 125
- 10 jours de simulations



Intervalle d'incertitude des paramètres

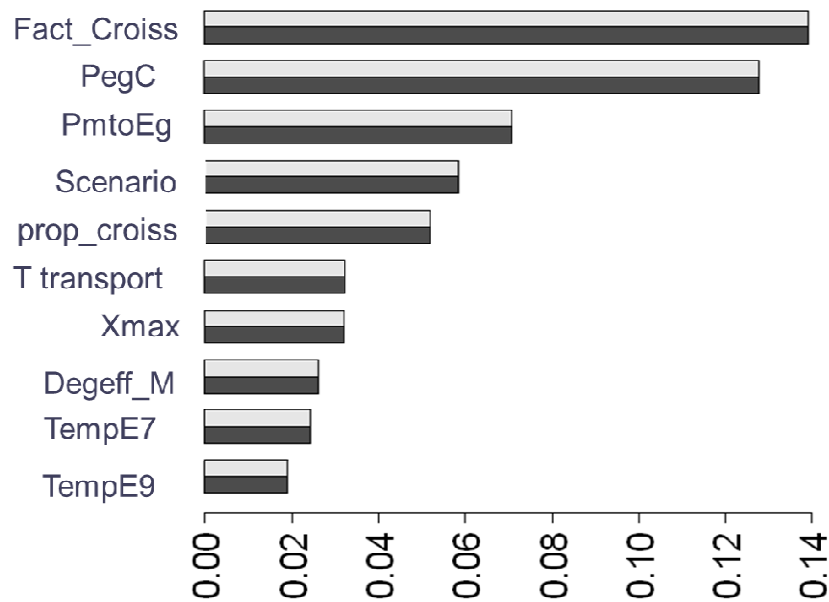
Parameter	Shorter name	Description	Nominal Value	Uncertainty interval
T°E3	Te3	Moulding step	35	32,- 37
T°E7	Te7	Salting step	12.5	10-14
T°E9	Te9	Drying step	14.5	13-16
PEgC	PegC	Probability of transfer of a colony from the ripening room environment to a cheese	10^{-6}	$10^{-7} - 10^{-4}$
T°ripH	TeH	Temperature of the cheese during ripening	13	11-15
Scenario	ScE	Primo-contamination scenario	1	1-5
DegeffE	DfE	Efficiency of hygienic operation in the environment	505	10-1000
DegeffM	DfM	Efficiency of hygienic operation on a machine	1000	100- 10000
Perilava	Per	Duration between two hygienic operation in the ripening room (days)	50	25-75
Xmax	Xmax	Maximum size of a colony	10^5	$10^5 - 10^7$
NbfromLM	NbLm	Number of cheeses treated in the smearing machine between two hygienic operations on the machine	7500	6000-9000
P_{me2}	PME	Probability of transfer of a colony from the smearing machine to the environment of the smearing machine	0.1550	0.01- 0.3
Fact_croiss	FacC	Generation time of the bacteria in the environment of the ripening room (hours)	24	12-48
Prop_croiss	ProC	Proportion of colonies growing in the environment	0.6	0.3-0.9
Anaplus	AnP	Number of supplementary environmental sampling after the detection of a contaminated sample	5	2-7
NbanaE	NbaE	Number of environmental samples par week	25	20- 40
T°trans	TeTp	Temperature of transport	4	4-7
Se	Se	Sensitivity of the detection test for <i>L. monocytogenes</i>	0.58	0.95-0.99



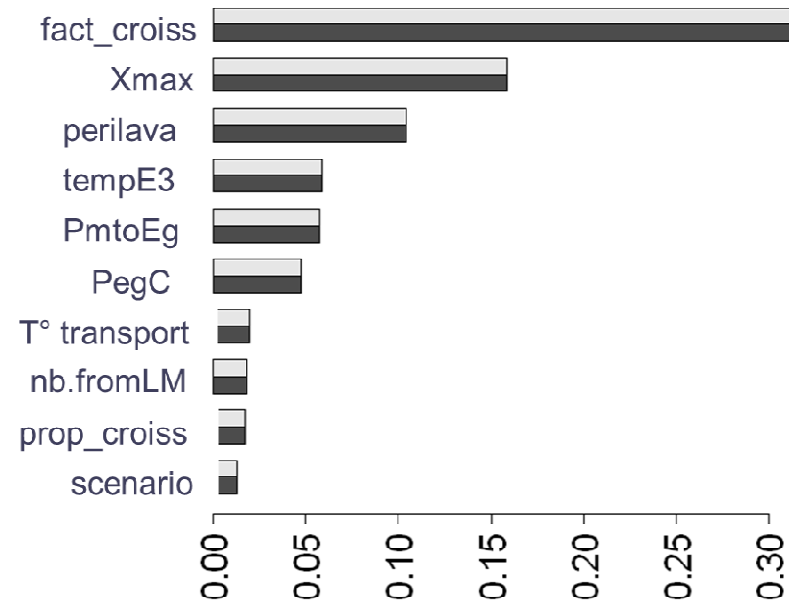
1. Analyse de sensibilité mutivariée

Résultats

Indice de sensibilité sur la prévalence



Indice de sensibilité sur la concentration moyenne





1. Analyse de sensibilité multivariée

Résultats

Indice de sensibilité sur la prévalence

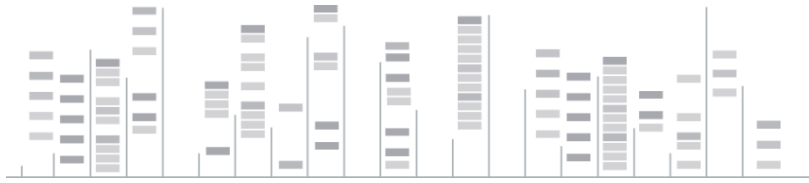
Indice de sensibilité sur la concentration moyenne

Fact Croiss



Paramètres communs aux deux indicateurs en termes d'impact sur la prévalence et sur la concentration moyenne dans un lot

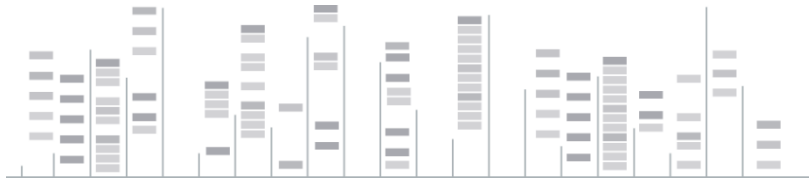
- *Fact_croiss*: Temps de génération de L. monocytogenes dans l'environnement du haloir d'affinage
- *PmtoEg*: Probabilité de transfert d'une colonie de la machine de soins vers le haloir
- *PEgC*: Probabilité de transfert d'une colonie de l'environnement vers un fromage en cours d'affinage



2. Lien quantitatif entre OSA et paramètres

Objectifs

- ! Déterminer le poids d'une combinaison de paramètres dans sa contribution au respect de l'OSA
 - OSA = 100 cfu /g dans 25g de fromage au moment de la consommation
- ! Estimer la contribution individuelle d'un paramètre du modèle au respect de l'OSA
 - Exemple: $P(\text{Température_affinage}=t / [C]_{90\text{ème}} < 100 \text{ cfu/g})$



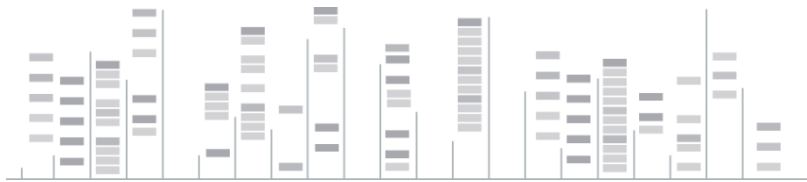
2. Lien quantitatif entre OSA et paramètres

Simulations

- | Simulations en utilisant 8 paramètres et 5 scénarios de primo-contamination
- | Latin-hypercube sampling de taille 1500
- | 10 itérations par scénario

Méthode d'acceptation/rejet

- | Generalized Likelihood Uncertainty Estimation

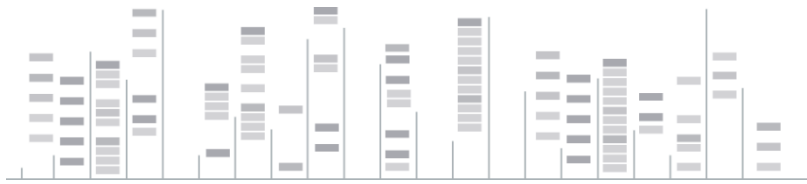


2. Lien quantitatif entre FSO et paramètres

↳ Résultats

- Top 10 des combinaisons de valeurs de paramètres permettant le respect de l'OSA

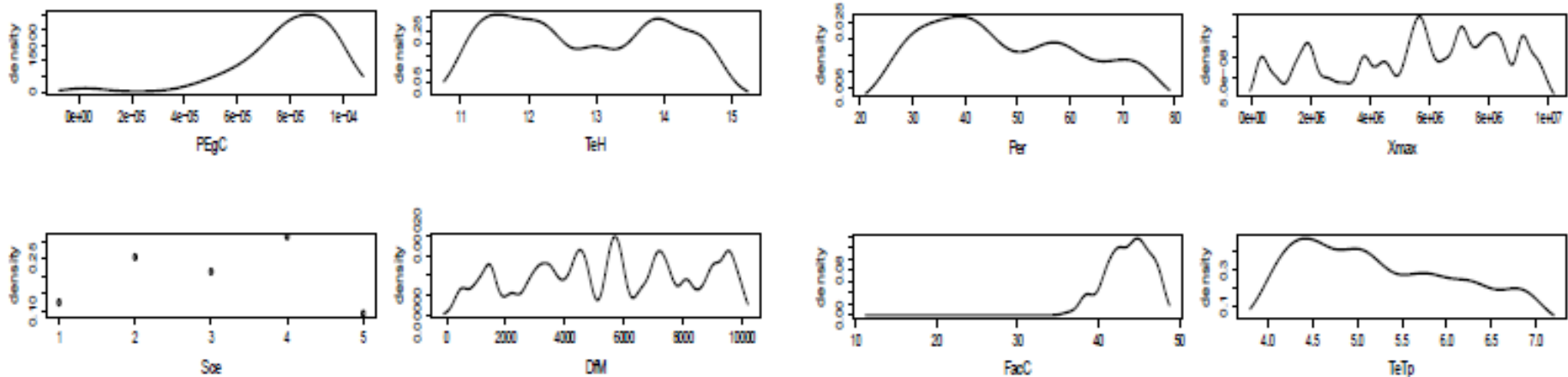
PEgC	TeH	Scce	DfM	Per	Xmax	FacC	TeTp	likelihood
7.7678e-05	11.83	4	8425.02	59.82	7067669.1	46.57	4.27	0.01129
8.1171e-05	11.18	4	2201.70	28.90	3765116.9	44.99	5.793	0.01128
7.3942e-05	11.52	4	5997.47	35.37	4605785.7	43.90	4.19	0.01127
8.9536e-05	13.72	4	8892.08	31.40	5717528.4	47.60	5.00	0.01122
9.3336e-05	13.83	4	4487.14	54.61	8219268.3	42.38	4.42	0.01121
8.3760e-05	11.82	4	1422.71	32.72	9876591.6	46.11	5.58	0.01120
6.7581e-05	12.20	4	2634.89	72.61	8592461.1	45.12	5.01	0.01119
9.3977e-05	13.00	5	4736.98	43.17	2001871.8	44.40	4.49	0.01117
9.7788e-05	14.52	4	4371.51	73.80	9623460.6	47.00	4.716	0.01117
5.3137e-05	11.74	4	4495.07	45.20	4448026.4	46.98	4.71	0.01117

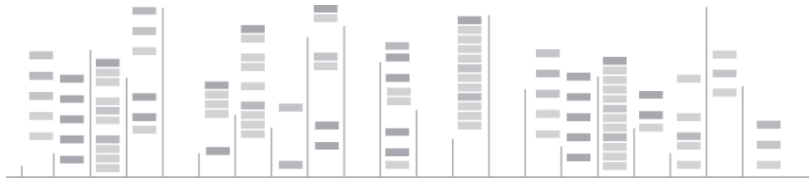


2. Lien quantitatif entre OSA et paramètres

🔗 Résultats

- ▮ Distribution marginale des paramètres sous la contrainte de respect de l'OSA





Conclusion

- Méthodologie pour l'exploitation des sorties de simulations des modèles AQR
 - ▮ Faire le lien entre un Objectif de Sécurité Alimentaire et les paramètres d'un modèle AQR, y compris Critères de Procédé

- Résultats préliminaires à consolider!

- Intégration des méthodes aux outils de modélisation actuellement disponibles au niveau de la filière laitière



MERCI POUR VOTRE
ATTENTION



Références

- 🔗 Tenenhaus-Aziza, F. Risk-based approach for microbial food safety in dairy industry. Application to *L. monocytogenes* in soft cheese made from pasteurized milk. PhD thesis, AgroParisTech, 2007.
- 🔗 Lamboni, M., Monod, H., and Makowski, D. Multivariate sensitivity analysis to measure global contribution of input factors in dynamic models. *Reliability Engineering and System Safety* 96 (2011), 450-459.
- 🔗 Beven, K., and Freer, J. Equifinality, data assimilation, and uncertainty estimation in mechanistic modelling of complex environmental systems using the glue methodology. *Journal of Hydrology* 249 (2001), 11-29.