

VARIABILITÉ DE CROISSANCE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* DANS LE SAUMON FUMÉ ARTIFICIELLEMENT CONTAMINÉ

H. Bergis, A. Beaufort, M. Cornu, S. Rudelle
Afssa - Lrqpq 23, Avenue du Général De Gaulle 94706 Maisons-Alfort Cedex
Téléphone 01. 49. 77. 13. 00. Fax : 01. 49. 77. 26. 40. Courriel: h.bergis@afssa.fr

Contexte : Dans le cadre d'une appréciation de l'exposition au danger *Listeria monocytogenes* dans le saumon fumé, une étude concernant la variabilité de croissance inter-souches de *L. monocytogenes* a été réalisée. Les données expérimentales obtenues sur l'hétérogénéité de croissance de *L. monocytogenes* serviront alors de base à la validation de modèles de microbiologie prévisionnelle.

Méthodologie : Deux méthodes permettant d'apprécier la variabilité de croissance inter-souches ont été utilisées. La première par spectrophotométrie en milieu liquide et la seconde par challenge-tests dans le saumon fumé.

L'étude de la variabilité de croissance en milieu liquide a porté sur 25 souches de *L. monocytogenes* issues de saumon fumé. La croissance de ces souches a été suivie à 12°C par mesure de DO à 600 nm en bouillon TSB (Tryptone Soya Broth) à l'aide d'un spectrophotomètre le Bioscreen C.

Les challenge-tests ont été effectués avec 5 souches de *L. monocytogenes* sélectionnées parmi les 25 souches étudiées en milieu liquide. Ces 5 souches ont été choisies en fonction de leurs caractéristiques de croissance en bouillon. Les challenges-tests ont été réalisés aux températures de 4°C et 8°C dans une matrice saumon fumé de caractéristique physico-chimique connue.

Résultats : La méthode par spectrophotométrie a permis de classer les 25 souches de *L. monocytogenes* en fonction de leur vitesse de croissance en milieu liquide en faisant apparaître des différences significatives entre ces souches. A 12°C, 23 souches ont un comportement identique et 2 souches se différencient de ce groupe : une souche lente avec un μ_{max} de 0,15 h⁻¹ et une souche rapide avec un μ_{max} de 0,18 h⁻¹.

L'ajustement d'un modèle primaire aux courbes de croissance obtenues par challenge-tests a permis d'estimer les taux de croissance de *L. monocytogenes* aux 2 températures étudiées. A 8°C, les taux de croissance estimés varient entre 0,58 h⁻¹ et 1,17 h⁻¹. A 4°C, le taux de croissance le plus élevé est de 0,46 h⁻¹ et le plus faible de l'ordre de 0,27 h⁻¹. Les différences de vitesse de croissance observées à 8°C semblent de plus grande amplitude qu'à 4°C.

Conclusion : Ces résultats mettent en évidence une variabilité de comportement des souches au sein de l'espèce *L. monocytogenes* et montrent qu'il est important de prendre en compte cet effet souche dans la modélisation de la croissance. Il ressort de cette étude que la classification des souches établie en fonction de leur vitesse de croissance est différente en bouillon TSB et en saumon fumé. Ceci montre l'intérêt d'élaborer un milieu liquide ayant des caractéristiques proches de la matrice alimentaire étudiée pour obtenir une bonne adéquation entre les 2 méthodes.

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

INTERNATIONAL JOURNAL OF
Food Microbiology

International Journal of Food Microbiology 106 (2006) 195–208

www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro

Use of Bayesian modelling in risk assessment: Application to growth of *Listeria monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon

M.L. Delignette-Muller^{a,*}, M. Cornu^b, R. Pouillot^c, J.-B. Denis^d^a Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Unité de Microbiologie Prévisionnelle et Alimentaire, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France^b Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 27-31 avenue du Général Leclerc, BP19, 94701 Maisons-Alfort cedex, France^c AFSSA (Current address: Centre Pasteur du Cameroun, BP 1274, Yaoundé, Cameroon)^d Institut National de la Recherche Agronomique, Unité de Mathématiques et Informatique Appliquées, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas, France

Received 22 February 2005; received in revised form 10 June 2005; accepted 30 June 2005

Abstract

An attempt to use a Bayesian approach to model variability and uncertainty separately in microbial growth in a risk assessment is presented. It was conducted within the framework of a French project aiming at assessing the exposure to *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. The chosen model describes the effect of time and temperature on bacterial growth. A Bayesian approach close to the one proposed by Pouillot et al. [Int. J. Food Microbiol. 81 (2003) 87] is used to estimate the variability and uncertainty of growth parameters from both literature data and data experimentally acquired during the project. Variability between strains and between products is taken into account. The growth of the food flora of cold-smoked salmon is also modelled by the same method. The results obtained for both models are used to predict the simultaneous growth of *L. monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon with a competitive model, expressing variability and uncertainty through a second-order Monte Carlo simulation.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Bayesian modelling; Quantitative microbiological risk assessment; *Listeria monocytogenes*; Cold-smoked salmon; Jameson effect

1. Introduction

Quantitative microbiological risk assessment (QMRA) has known a rapid development during the last decade. Many studies were published in particular concerning *Listeria monocytogenes* (Peeler and Bunning, 1994; Miller et al., 1997; Bemrah et al., 1998; Lindqvist and Westöö, 2000; FDA/FSIS, 2003; FAO/WHO, 2004; Sanaa et al., 2004). In the most recent studies, predictive models are used to describe the evolution of the pathogenic bacterial population in the product until consumption. Various models are available to describe bacterial growth within a microbial risk exposure (van Gerwen and Zwietering, 1998; Ross and McMeekin, 2003).

The separation of uncertainty and variability of model parameters is now recommended in risk assessment (Frey and Burmaster, 1999; Codex Alimentarius Commission, 1999, 2003; Nauta, 2000; Vose, 2000; European commission, 2002; FAO/WHO, 2002). Uncertainty refers to lack of knowledge

about the values of the model parameters inducing some variation in the estimation of key criteria; uncertainty can be reduced by acquiring more pertinent data. Variability is associated with the inherent variation of the physical, chemical and biological system under study; often it is in itself an interesting parameter to assess. Variability cannot be reduced by more data. To give an example, the minimal growth temperature of *L. monocytogenes* is not precisely determined because it depends on the strain (genetic variation) but also due to the fact we do not investigate all strains (sampling uncertainty) and have only imprecise knowledge about the studied strains (technical uncertainty). Bacterial growth in food is known to be affected by many sources of variability and uncertainty such as between strains variability, variability and uncertainty in food composition, or uncertainty of microbial measurements. Such sources of variability and uncertainty may have a strong impact on the result of an exposure assessment (Delignette-Muller and Rosso, 2000).

Models developed in predictive microbiology generally do not take into account these sources of variability and uncertainty. Thus, Nauta (2002) raised the question of their applicability to

* Corresponding author. Tel.: +33 4 78 87 27 40; fax: +33 4 78 87 25 54.
E-mail address: ml.delignette@vet-lyon.fr (M.L. Delignette-Muller).

QMRA and especially of their ability to describe variability and uncertainty in growth. He then suggested that a new type of predictive model needed to be developed.

Pouillot et al. (2003) suggested the use of a Bayesian approach for the estimation of uncertainty and variability in microbial growth. They applied this method to the growth of *L. monocytogenes* in milk. Growth curves of various strains of *L. monocytogenes* in milk were collected from the literature. To describe this data set, a model of the effect of time and temperature on the bacterial growth was developed. The variability of each model parameter was described by a parametric distribution characterized by hyperparameters. Each hyperparameter was assumed constant but only known with uncertainty. Uninformative prior distributions, whenever possible, were first specified for each hyperparameter. If necessary, more informative distributions were specified from the state of available knowledge before analyzing the data set. Posterior distributions were then computed by a Markov Chain Monte Carlo (MCMC) method, combining prior distributions and observed data. The posterior distributions of hyperparameters reflect the updated uncertainty on the variability distribution of the model parameters. Such a model is directly usable in a second-order Monte Carlo simulation for risk assessment. The use of MCMC methods to estimate the uncertainty on model parameters is now recommended by the Codex Alimentarius Commission (2003).

This study takes place in a collaborative project for the description of the factors affecting exposure to *L. monocytogenes* in chilled products. One aim of this project is to assess the exposure to *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon consumed in France. For this purpose, it is necessary to model the growth of *L. monocytogenes* in this product taking into account the main sources of variability and uncertainty. The method described by Pouillot et al. (2003) was adapted. As cold-smoked salmon is more affected by the variability and uncertainty of the food composition than milk, the factor “product” is incorporated in the model. Moreover, we know that the growth of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon is affected by the competition with the simultaneous growth of the food flora. This effect known as the ‘Jameson effect’ implies that the growth of each of the two competitive flora is stopped as soon as one has reached its maximum level in the product (Dalgaard and Jorgensen, 1998; Ross et al., 2000). The growth of the food flora of cold-smoked salmon is then also modelled similarly and independently of the *L. monocytogenes* growth. The aim is to be able to predict the simultaneous growth of *L. monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon in a competitive model such as the one proposed by Giménez and Dalgaard (2004).

2. Materials and methods

2.1. Data

2.1.1. Growth curves of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon

Ninety-six growth curves of *L. monocytogenes* in artificially contaminated cold-smoked salmon were considered: 61 of

them were specifically obtained for this study, whereas the 35 others were taken from 10 publications (Guyer and Jemmi, 1991; Rorvik et al., 1991; Hudson and Mott, 1993; Rosso et al., 1996; Nilsson et al., 1997; Niedziela et al., 1998; Szabo and Cahill, 1999; Duffes et al., 1999; Giménez and Dalgaard, 2004; Lakshmanan and Dalgaard, 2004). These challenge tests were performed under a very wide range of experimental conditions, detailed in Table 1. In all cases, *L. monocytogenes* was inoculated in or on products which were then incubated under vacuum atmosphere at a fixed temperature (4 to 25 °C). Strains or cocktails were different from one study to another, except one cocktail which was used by Giménez and Dalgaard (2004) and Lakshmanan and Dalgaard (2004). All the inoculated products were either commercial smoked-salmon batches or experimental products, with physico-chemical properties close to those of commercial products and without any intentionally added preservative.

The full data set consists in the times [unit: days] and the log counts [units: $\log_{10}(\text{cfu g}^{-1})$ in most cases, otherwise $\log_{10}(\text{mpn g}^{-1})$, $\log_{10}(\text{cfu ml}^{-1})$ or $\log_{10}(\text{cfu cm}^{-2})$, see Table 1]. In the case of publications, counts at each time were directly taken from the published tables when available, otherwise, graphs were scanned and individual points digitalised.

2.1.2. Growth curves of food flora in cold-smoked salmon

Thirty-three growth curves of the food flora in cold-smoked salmon were considered: 15 of them were obtained specifically for this study, whereas the 18 others were taken from 7 publications (Paludan-Müller et al., 1998; Truelstrup Hansen et al., 1998; Leroi et al., 1998, 2000, 2001; Giménez and Dalgaard, 2004; Lakshmanan and Dalgaard, 2004). The food flora was defined as the naturally present (non-inoculated) total population countable on a rich medium (plate count agar, tryptone soya agar, or Long and Hammer medium) at temperatures between 15 °C and 30 °C. The unit for the plate-counts was $\log_{10}(\text{cfu g}^{-1})$ for all curves. Details about the experimental conditions of the storage trials are given in Table 2.

2.2. Growth models

2.2.1. Growth model of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon

In predictive microbiology, bacterial growth models are generally divided into primary and secondary models. Primary models describe the evolution of bacterial population with time. The simple logistic equation with delay used by Pouillot et al. (2003) and also called the Lag-exponential model (Baty and Delignette-Muller, 2004; van Gerwen and Zwietering, 1998) is used here as a primary growth model. It can be described as follows:

$$M_y = \begin{cases} y_0, & t \leq \lambda \\ y_{\max} - \log_{10}(1 + (10^{y_{\max} - y_0} - 1) \times \exp(-\mu_{\max}(t - \lambda))), & t > \lambda \end{cases} \quad (1)$$

where M_y is the decimal logarithm of the modelled bacterial concentration [units: $\log_{10}(\text{cfu g}^{-1})$ in most cases, otherwise

Table 1
Growth data base of *L. monocytogenes* in/on artificially contaminated cold-smoked salmon (challenge tests)

Reference	Number of GC ^a	<i>L. monocytogenes</i> strain(s)	Batches	Pre-inoculation (last) preculture	Inoculation procedure and initial log ₁₀ count (y ₀) with the counting unit	Incubation temperature	Counting procedure
Personal data (see Bergis, 2002; Miconnet et al., 2005; Cornu et al., in press)	61	6 CSS ^b isolates (4 to 31 GC per strain)	7 industrial CSS batches (2 to 22 GC per batch)	58 GC: 4 days in TSB ^c at 10 °C	36 GC: inoculation of 10-g packs of crushed CSS, mixing of packs, vacuum-packing, y ₀ : 1.7 to 4.5 log ₁₀ (cfu g ⁻¹) 17 GC: surface-spot-inoculation of 62 cm ² disks cuts in slices of CSS at levels between 1.8 and 4 log ₁₀ (cfu cm ⁻²), folding of disks, vacuum-packing	23 GC: 4 °C	36 GC: Palcam plate count
		Strains were studied separately (not in cocktail)	One of the 7 batches was tested with 5 of the 6 strains	3 GC: 4 days in TSB at 37 °C	8 GC: same procedure, but inoculated vacuum-packed disks were then stored 1 to 35 days at negative temperatures (-9 to -24 °C) before incubation	37 GC: 8 °C	25 GC: Palcam plate count
Guyer and Jemmi, 1991	6	1 reference strain (4 GC) 1 CSS isolate (2 GC)	3 experimental CSS batches (2 GC per batch)	18 h in TSB ^c at 37 °C (inoculation during the process)	The 800-g filets were laid in the inoculum broth before salting, smoking and vacuum-packing. After the process, y ₀ : 2.3 to 4 log ₁₀ (tripi g ⁻¹).	1 GC: 12 °C	Sampling of 10 g from the filets and 3-tube MPN count
Rorvik et al., 1991	3	1 cocktail	2 smoked salmon batches	21 h in TSB at 22 °C	Surface-drop-inoculation of 50-g slices, spreading, vacuum-packing, y ₀ : 0.9 to 2.9 log ₁₀ (cfu ml ⁻¹)	3 GC: 4 °C	Oxford plate count of 55 ml rinsing water
Hudson and Mott, 1993	2	1 cocktail	1 CSS batch	overnight in BHI ^c at 30 °C	Surface-drop-inoculation of 10-g slices, vacuum-packing, y ₀ : 4.5 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	1 GC: 5 °C	MOX plate count
Rosso et al., 1996	2	1 reference strain	1 CSS batch	Not reported	Not reported, y ₀ : 4 to 4.3 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	1 GC: 10 °C	Plate-count
Nilsson et al., 1997	1	1 cocktail	1 CSS batch	20 h in BHI at 25 °C	Surface-drop-inoculation of 30-g slices, vacuum-packing, y ₀ : 4 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	1 GC: 4 °C	Plate-count
Niedziela et al., 1998	6	2 CSS isolates (3 GC per strain)	2 experimental batches (3 GC per batch)	24 h in TSBYE ^c at 30 °C	Surface-inoculation of salted and smoked filets, spreading, vacuum-packing, y ₀ : 2.5 to 3.2 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	1 GC: 4 °C 1 GC: 8 °C	Sampling from the filets and Palcam plate count
Szabo and Cahill, 1999	2	1 cocktail	1 hot-smoked salmon batch	72 h in TSB at 15 °C and centrifugation	Surface-spot-inoculation of slices, spreading, vacuum-packing of 100-g samples, y ₀ : 2.5 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	1 GC: 4 °C 1 GC: 10 °C	Palcam plate-count
Duffes et al., 1999	6	1 CSS isolate	2 sterile CSS batches, 1 commercial CSS batch	overnight in Elliker broth at 37 °C	Inoculation of 250-g bags, vacuum-packing of 25-g bags y ₀ : 2.7 to 3 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	3 GC: 4 °C 3 GC: 8 °C	Palcam plate-count
Giménez and Dalgaard, 2004	5	1 cocktail	1 industrial CSS batch (all GC), inoculated with a spoilage flora (2 GC)	2–6 days in BHI with 4% NaCl at 5 °C	Inoculation of the CSS, vacuum-packing of 55 to 60-g bags y ₀ : 2 log ₁₀ (cfu g ⁻¹)	2 GC: 5 °C 1 GC: 10 °C 2 GC: 25 °C	Palcam plate-count
Lakshmanan and Dalgaard, 2004	2	Same cocktail as Giménez and Dalgaard, 2004	1 industrial CSS batch	In APT broth ^c at 5 °C	Inoculation of 10- to 13-g bags, mixing, vacuum-packing.	1 GC: 5.5 °C 1 GC: 9.9 °C	Palcam plate-count
Total	96	17 different strains (or cocktails)	23 different batches	85 GC: optimal broth 27 GC: suboptimal temperature		46 GC: 4–5.5 °C 48 GC: 8–12 °C 2 GC: 25 °C	

a: GC=growth curve.

b: CSS=cold-smoked salmon.

c: TSB= trypticase soy broth or tryptone soya broth, TSBYE=TSB + yeast-extract, BHI=brain heart infusion, APT broth: all-purpose tween.

Table 2
Growth data base of the total flora in naturally spoiled cold-smoked salmon (storage trials)

Reference	Number of GC ^a	Batches	Incubation temperature	Plate-counting procedure
Personal data	15	7 industrial CSS ^b batches (1 to 4 GC per batch, 6 different plants), frozen at –24 °C after processing. Thawed at 2 °C for 2 days before incubation	6 GC: 4 °C 9 GC: 8 °C	PCA ^c , 30 °C, 3 days
Paludan-Müller et al., 1998	1	1 industrial CSS batch, transported to the laboratory (temp < 3 °C) after processing and stored frozen at –20 °C. Thawed at 0 °C for 2 days before incubation	5 °C	LH ^d , 15 °C, 5 to 7 days
Truelstrup Hansen et al., 1998	6	6 industrial CSS batches (3 plants, 2 batches per plant) shipped to the laboratory (temp < 3 °C) and immediately incubated	5 °C	TSA ^c , 21 °C, 3 days
Leroi et al., 1998	1	1 industrial CSS batches shipped to the laboratory (in ice, 2 h) and immediately incubated	8 °C	PCA, 20 °C, 3 days
Leroi et al., 2000	4	4 experimental CSS batches, immediately incubated. The whole study included 20 batches but only the ones with realistic NaCl and phenol concentrations were chosen (WPS: 3.4 to 5.5%, phenol: 0.38 to 0.73 mg/100 g)	5 °C	PCA, 20 °C, 3 days
Leroi et al., 2001	3	3 industrial CSS batches, frozen just after processing. Thawed overnight at 5 °C before incubation	5 °C	LH, 15 °C, 5 days
Giménez and Dalgaard, 2004	1	1 industrial CSS batch, frozen in the plant. Thawed overnight at 5 °C before incubation	25 °C	LH, 15 °C, 7 days
Lakshmanan and Dalgaard, 2004	2	1 industrial CSS batch, frozen in the plant at –30 °C, thawed overnight at 5 °C before incubation	1GC: 5.6 °C 1GC: 9.9 °C	LH, 15 °C, 7 days
Total	33	24 batches: 20 industrial and 4 experimental	21GC: 4 to 5.6 °C 11GC: 8 to 9.9 °C 1GC: 25 °C	

a: GC=growth curve.

b: CSS=cold-smoked salmon.

c: PCA: plate count agar; LH : modified Long and Hammer medium (with 1% NaCl); TSA: tryptone soya agar.

d: WPS=water phase salt.

$\log_{10}(\text{mpn g}^{-1})$, $\log_{10}(\text{cfu ml}^{-1})$ or $\log_{10}(\text{cfu cm}^{-2})$] reached at t [unit: day], y_0 is the decimal logarithm of the initial bacterial concentration [same unit as M_y], y_{\max} is the decimal logarithm of the maximum bacterial concentration in the product [same unit as M_y], λ is the lag time [unit: day] and μ_{\max} is the maximum specific growth rate [unit: day^{-1}].

The square root model (Ratkowsky et al., 1982) is used as the secondary growth model, assuming that the cold-smoked salmon is stored at low temperatures:

$$\mu_{\max} = \begin{cases} 0, & T \leq T_{\min} \\ \mu_{\text{ref}} \times \frac{(T - T_{\min})^2}{(T_{\text{ref}} - T_{\min})^2}, & T > T_{\min} \end{cases} \quad (2)$$

where μ_{\max} is the maximum specific growth rate [unit: day^{-1}] of the curve at temperature T , T_{\min} is the minimal growth temperature of the strain and μ_{ref} is the reference specific growth rate of *L. monocytogenes* in the product at the reference temperature T_{ref} . In this study, T_{ref} was fixed at 25 °C, a value markedly above the minimal growth temperature of *L. monocytogenes* and still in the validity domain of the square root model.

Unlike Pouillot et al. (2003), we did not choose to model the effect of the temperature on the lag time λ . Actually the lag time does not only depend on the temperature at which the growth curve is obtained. It is also strongly influenced by the pre-incubation temperature (Walker et al., 1990; Membre et al., 1999; Whiting and Bagi, 2002; Swinnen et al., 2004; Delignette-Muller et al., 2005). In the data collected for this study (see Table 1), the pre-incubation temperature was higher than 20 °C in one third of the experiments, which appears unrealistic, and the pre-incubation environment was an optimal

broth in 90% of the experiments. The lag times observed on these experimental curves could not then be assumed representative of the lag times we could observe on products really consumed. This is why the lag time λ is only described as being dependent of the curve on our data set.

2.2.2. Growth model of food flora in cold-smoked salmon

Our chosen definition for the food flora includes a wide range of micro-organisms: (i) Gram-negative bacteria, which are predominant in the early shelf life, such as *Shewanella putrefaciens*, Enterobacteriaceae (*Pseudomonas*), *Aeromonas*, *Photobacterium*, or marine psychrotrophic *Vibrio*, (ii) Gram-positive bacteria, which overgrow the Gram-negative bacteria, especially *Carnobacterium*, *Lactobacillus* and to a lesser extent *Brochothrix*, (iii) and yeasts (Leroi et al., 1998; Truelstrup Hansen et al., 1998; Rachman et al., 2004). The application of a simple primary model to such a mixture of different species, although questionable, is justified by the fact that the specific growth rate of the whole population tends to the specific growth rate of the fastest sub-population (Pin and Baranyi, 1998).

As for *L. monocytogenes* growth, a model was defined composed with so-called primary and secondary models. The simple logistic equation corresponding to Eq. (1) without any lag phase is used as a primary growth model, as no lag phase was observed in the experimental curves of our data set. It can be described as follows:

$$M_{y, \text{ff}} = y_{\max, \text{ff}} - \log_{10}(1 + (10^{y_{\max, \text{ff}} - y_0, \text{ff}} - 1) \times \exp(-\mu_{\max, \text{ff}} t)) \quad (3)$$

where $M_{y, \text{ff}}$ is the decimal logarithm of the theoretical bacterial concentration [unit: $\log_{10}(\text{cfu g}^{-1})$] reached at t [unit: day], y_0, ff

is the decimal logarithm of the initial bacterial concentration [unit: $\log_{10}(\text{cfu g}^{-1})$], $y_{\text{max ff}}$ is the decimal logarithm of the maximum bacterial concentration in the product [unit: $\log_{10}(\text{cfu g}^{-1})$] and $\mu_{\text{max ff}}$ is the maximum specific growth rate [unit: day^{-1}].

As for *L. monocytogenes*, the effect of the temperature on the maximum specific growth rate is described by the square root model (Eq. (2)).

2.3. Bayesian modeling of variability and uncertainty

2.3.1. General concepts of Bayesian modelling

In a Bayesian approach, each model parameter is considered as a random variable. This randomness encompasses variability and uncertainty. More precisely, the variability is modeled by a parametric distribution characterized by hyperparameters which are supposed uncertain. A hierarchical model is used to describe these two probabilistic components. As an example, T_{min} (minimal growth temperature) variability is modeled by a normal distribution, characterized by two hyperparameters, the expected value $M_{T_{\text{min}}}$ and the standard deviation $S_{T_{\text{min}}}$. In turn, these two hyperparameters are supposed uncertain and are firstly described by a prior distribution from prior knowledge. In a Bayesian approach, a posterior distribution is then computed for each hyperparameter, taking into account on one hand the prior distribution and on the other hand the whole information available in the data set. And the more informative the data set will be, the less will be the impact of the prior distribution on the posterior one.

2.3.2. Bayesian modelling of *L. monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon

In the FDA/FSIS risk assessment (2003), the *L. monocytogenes* minimal growth temperature (T_{min}) was assumed constant and the whole variability was reported on the reference specific growth rate (μ_{ref}). In this study, we chose to take into account two sources of variability on these growth parameters: a between strains variability for T_{min} and between products variability for μ_{ref} . Indeed for simplification, only the impact of the product on μ_{ref} is described, as we assume the impact of the variability among strains on this parameter negligible compared to the impact of the variations of pH, salt content and phenolic content among products. The error of the model associated to Eq. (1) is assumed to have a homogeneous variance (σ_y^2) all over each growth curve and an expected value equal to zero. This variance is assumed independent of the curve. For more details, a complete description of the Bayesian model used for *L. monocytogenes* was reported in Appendix A.

In the food flora model, contrary to what was done in the *L. monocytogenes* model, the variability due to the differences between strains is not separated from that due to the differences between products and the whole is included at the product level. Actually, regarding the growth of food flora, the number of strains present in the product may be high and variable and may be considered as one of the characteristics of this product. As the initial and maximum food flora concentrations are assumed representative of what could be observed on products

really consumed, the parameters $y_{0 \text{ ff}}$ and $y_{\text{max ff}}$ are defined at the level of the product. As for *L. monocytogenes*, the variance error of the model associated to Eq. (2) ($\sigma_{y_{\text{ff}}}^2$) is assumed constant all over the growth curve and independent of the curve. For more details, a complete description of the Bayesian model used for the food flora was reported in Appendix B.

2.3.3. Prior distributions

Prior distributions were defined from expert knowledge or from experimental data that were not included in the data set defined in part 2.1. A complete description of prior distributions was reported for the *L. monocytogenes* model in Appendix C and for the food flora model in Appendix D.

2.4. Computation

A direct calculation of posterior distributions is most often impossible, especially for models including many parameters. Markov-Chain Monte-Carlo (MCMC) techniques are generally used in such cases. Details on MCMC techniques can be found in Gilks et al. (1996). Bayesian estimation of posterior distributions were performed using WinBUGS (©Imperial College and MRC, Spiegelhalter et al., 2003). For each model, after an adaptation phase of 5×10^3 iterations, the convergence of the MCMC algorithm was checked by visually analyzing three independent MCMC chains using three different initial values for the hyperparameters S and σ defined in Appendices A and B. Gelman and Rubin convergence statistics, as modified by Brooks and Gelman (1998), were also calculated and examined. Inferences were made on the pool of 4×10^3 iterations following the adaptation phase for the three chains, i.e. 12×10^3 iterations.

2.5. Assessment of the models

In order to check the adequacy of each model, the average of the simulated values corresponding to each measured value of the bacterial density, respectively, the one of *L. monocytogenes* (Y_m) and the one of the food flora ($Y_{\text{ff}, m}$), were computed for the last 10^3 iterations of the MCMC algorithm and graphically compared to the corresponding observed values (see Carlin and Louis, 2000, p.46).

2.6. Parameterization of the empirical posterior distributions

In order to provide distributions that are easy to use for risk assessment purposes, standard parametric distributions were fitted to empirical posterior distributions for hyperparameters of interest using maximum likelihood estimates. The choice of the most adapted distribution was made from the calculation of the Anderson and Darling statistics (Vose, 2000).

3. Results and discussion

Empirical posterior and prior distributions of hyperparameters of interest were represented in Fig. 1 for the *L. monocytogenes* model and in Fig. 2 for the food flora model.

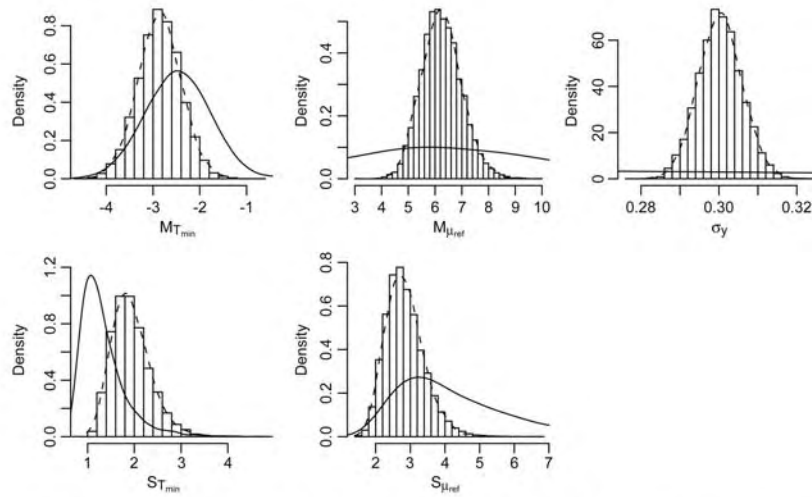


Fig. 1. Empirical posterior distributions of hyperparameters of interest of the *L. monocytogenes* model (histograms) with corresponding adjusted distributions (dashed lines) and corresponding prior distributions (solid lines).

The hyperparameters characterizing the *L. monocytogenes* lag times distribution were not retained since they are not considered usable in the context of our project as explained beforehand.

The posterior distribution of each hyperparameter M such as $M_{T_{min}}$ represents the updated uncertainty on the expected value of the corresponding parameter and the posterior distribution of

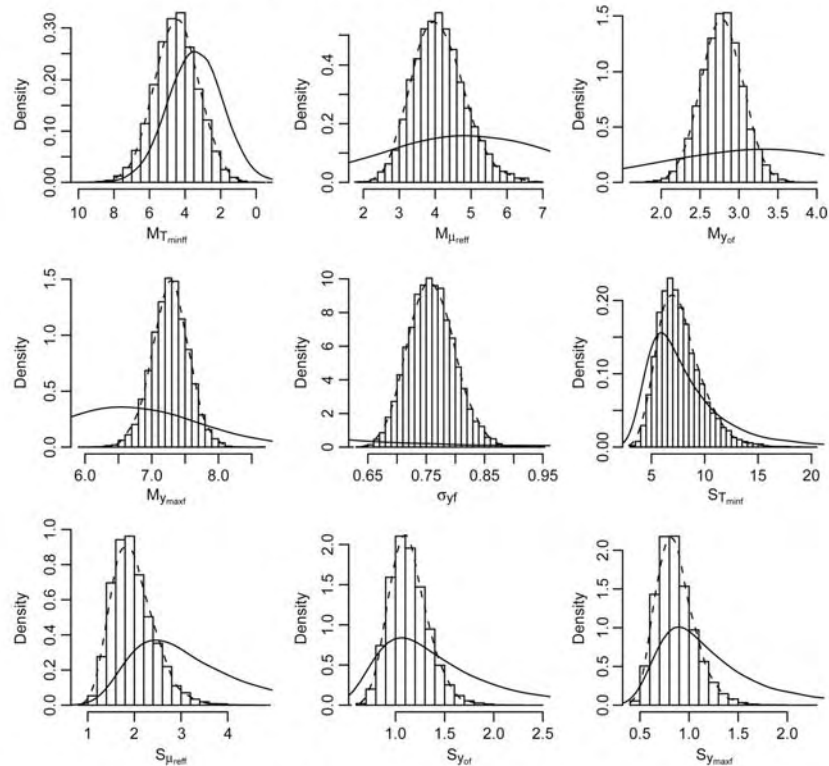


Fig. 2. Empirical posterior distributions of hyperparameters of the food flora model (histograms) with corresponding adjusted distributions (dashed lines) and corresponding prior distributions (solid lines).

each hyperparameter S such as $S_{T_{\min}}$ represents the updated uncertainty on the standard deviation of the corresponding parameter. Generally, if prior distributions are consistent with data, each posterior distribution should be narrower than the corresponding prior one, pointing out a reduction of uncertainty thanks to Bayesian modelling on the data.

Note that the posterior mean of $M_{T_{\min}}$, -2.86 °C, is slightly less than its prior expected value, -2.47 °C, while the posterior mean of $S_{T_{\min}}$ is rather larger than its prior expected value (Fig. 1). Prior expected values were obtained from the posterior distributions from Pouillot et al. (2003) concerning the growth of *L. monocytogenes* in milk. In our data set (Table 1), there are various wild strains isolated from cold-smoked salmon at the end of the chilled shelf-life of the product and so certainly adapted to low temperatures. This may explain a slightly lower value of $M_{T_{\min}}$ and a higher value of $S_{T_{\min}}$ reflecting a greater variability among strains. For μ_{ref} , the posterior distribution of $M_{\mu_{\text{ref}}}$ is narrower than the prior one which was relatively uninformative, while the posterior distribution of $S_{\mu_{\text{ref}}}$ is also narrower than the prior one with an expected value slightly lower. The low standard deviation of the hyperparameter σ_y shows a precise estimation from our data.

Concerning the food flora model, the posterior mean of $M_{T_{\min, \text{ff}}}$ is slightly lower than its prior expected value (Fig. 2). The posterior distributions of $M_{\mu_{\text{ref}, \text{ff}}}$, $M_{y_0, \text{ff}}$ and $M_{y_{\max}, \text{ff}}$ are narrower than the prior ones which were relatively uninformative. For S hyperparameters ($S_{T_{\min, \text{ff}}}$, $S_{\mu_{\text{ref}, \text{ff}}}$, $S_{y_0, \text{ff}}$ and $S_{y_{\max}, \text{ff}}$), posterior distributions were narrower than prior ones. As for the *L. monocytogenes* model, the hyperparameter $\sigma_{y, \text{ff}}$ is rather precisely estimated from our data. Its mean value is more than twice the one of σ_y . This is not surprising, since the growth of food flora is in fact the result of the growth of many strains of various species and so is more difficult both to measure and to model.

The results of the validation of each model were reported on Figs. 3 and 4. All observed values of bacterial counts were

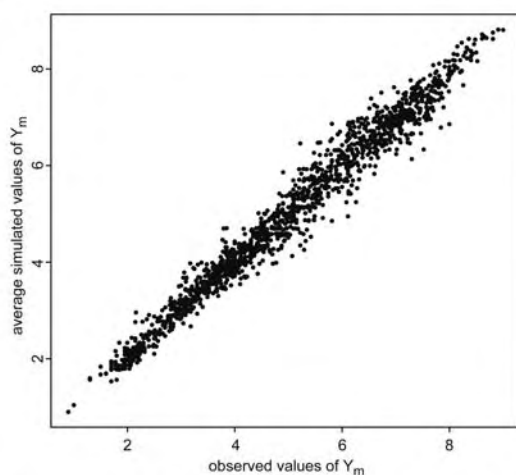


Fig. 3. Comparison of Y_m observed values with those predicted by the *L. monocytogenes* model.

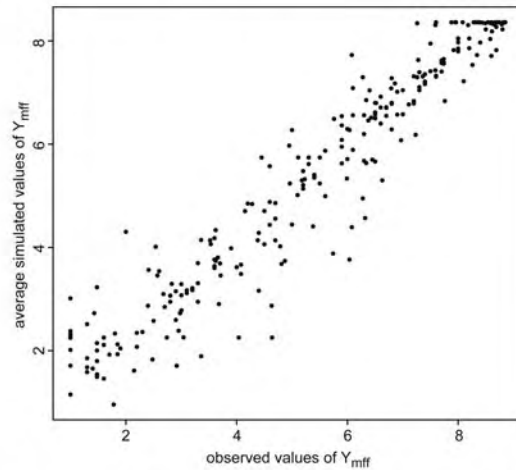


Fig. 4. Comparison of Y_{mff} observed values with those predicted by the food flora model.

reasonably predicted by both models, no clear outlier appearing on these figures. The *L. monocytogenes* model gives a far better description of the data than the food flora model, which corroborates the difference between the σ_y and $\sigma_{y, \text{ff}}$ mean values discussed just before.

Descriptive statistics of empirical posterior distributions are summarized in Tables 3 and 4. As the forms of the empirical distributions were quite regular (Figs. 1 and 2), the choice of an adapted distribution was made between three simple distributions: the normal, the lognormal and the gamma distributions. Tables 3 and 4 provide the parametric distributions thus fitted to the empirical posterior distributions. For each model, Spearman rank correlation coefficient between paired hyperparameters are lower than 0.25 except for the pair $M_{\mu_{\text{ref}, \text{ff}}} - S_{\mu_{\text{ref}, \text{ff}}}$ (0.37), suggesting relatively weak dependence between model parameters.

In this study, the *L. monocytogenes* and the food flora models were treated independently. This is mainly due to the available data. In the past, the growth of the food flora of cold-smoked salmon was generally measured in products free from *L. monocytogenes* (Table 2) and when the growth of artificially inoculated *L. monocytogenes* was measured (Table 1) the one of the food flora was generally not measured. But in the rare cases where both flora were simultaneously measured, the correlation between both specific growth rates at one temperature did not seem high. It then seems reasonable to use our results to model the simultaneous growth of *L. monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon assuming a simple competitive interaction between both (Coleman et al., 2003; Giménez and Dalgaard, 2004). This is a first step towards desirable considerations.

We propose, as an illustration of the use of our results, a very simple model with a simultaneous exponential growth of both flora each characterized by the hyperparameters previously defined, and stopped when one of the flora reaches its maximum concentration in the product (Coleman et al., 2003).

Table 3

Descriptive statistics of empirical posterior distributions of hyperparameters of interest and corresponding adjusted distributions for the *L. monocytogenes* model

Parameter	Mean	S.D.	2.5th percentile	Median	97.5th percentile	Adjusted distribution ^a
$M_{T_{min}}$	-2.86	0.46	-3.78	-2.85	-1.96	$N(-2.86, 0.459)$
$M_{\mu_{ref}}$	6.24	0.75	4.87	6.20	7.81	$G(69.7, 0.0896)$
σ_y	0.30	0.005	0.29	0.30	0.31	$\ln(\sigma_y) \sim N(-1.20, 0.0185)^b$
$S_{T_{min}}$	1.93	0.42	1.29	1.88	2.90	$\ln(S_{T_{min}}) \sim N(0.638, 0.208)$
$S_{\mu_{ref}}$	2.84	0.56	1.96	2.77	4.11	$\ln(S_{\mu_{ref}}) \sim N(-1.03, 0.191)$

^a Normal distributions with parameters m for the expectation and sd for the standard deviation are denoted $N(m, sd)$ and Gamma distributions denoted $G(a, b)$ are parameterized by the shape parameter a and the scale parameter b .

^b \ln represents the natural logarithm.

The choice of an exponential growth of *L. monocytogenes* is a safe choice based on the observation of null or very low lag times on the rare experiments where the pre-incubation temperature was chosen realistic. In this model, without any other information, we propose to assume the maximum concentration of *L. monocytogenes* in the product equal to the one of the food flora. At last, concerning the initial bacterial concentration of *L. monocytogenes*, we propose to fix it to the normal distribution on the decimal logarithmic concentration which was fitted to data obtained within the framework of our national project on 62 naturally contaminated products produced by three French factories (Beaufort et al., submitted for publication): normal distribution with an expected value of -1.11 and a standard deviation of 0.76.

This model was firstly used to simulate possible simultaneous growth kinetics of *L. monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon at 4°C. For these first-order simulations, the uncertainty on hyperparameters was not taken into account and each hyperparameter was fixed to the median of its empirical posterior distribution (Tables 3 and 4). Parameters variability may be simulated by sampling independently from the corresponding distributions since dependences between parameters appeared to be weak. Fig. 5 reports the results of 15 simulations randomly chosen. A great variability among these 15 simulations may be observed. The differences from one simulation to another reflect the modeled variability of the initial bacterial concentrations (y_0 and y_{0ff}), of the maximum concentration ($y_{max, ff}$), and of the predicted growth rates at 4°C (on the basis of μ_{ref} , T_{min} , $\mu_{ref, ff}$ and $T_{min, ff}$).

This model may also be directly used to simulate microbial growth in two-dimensional Monte Carlo simulations, to

separately analyze variability and uncertainty in an exposure assessment (Nauta 2000; Vose, 2000). An example of such a simulation is reported on Fig. 6. The time required for *L. monocytogenes* to reach a level of 100 cfu g⁻¹ in cold-smoked salmon stored at 4 °C from a realistic contamination level following a normal distribution with an expected value of -1.11 and a standard deviation of 0.76 was simulated with the competitive growth model, but this time taking into account both growth variability and uncertainty. For this purpose, parametric distributions fitted on empirical posterior distributions of each hyperparameter were used (Tables 3 and 4). Firstly, for each hyperparameter, $u=500$ values were randomly selected from this parametric distribution representing the uncertainty component. Secondly, for each set of hyperparameters previously simulated, $v=500$ values of each parameter of the model was randomly selected from distributions defined in appendices A and B (Tables 5 and 6), representing the variability component. Corresponding growth kinetics were simulated, leading to u empirical cumulative density functions (ecdf) representing time variability. For each cumulative frequency regularly tabulated between 0 and 1 (y value), the median of the corresponding percentiles of the u ecdf was reported on the plain line (x value). The 2.5% and 97.5% percentiles of the corresponding percentiles of the u ecdf were reported on the two dashed lines (x value). It is then possible to read from this graph for each cumulative probability (y value), the estimation of the corresponding variability percentile (x value) and its 95% credible interval which reflects the uncertainty on this estimation. For example, the median of the time required for a *L. monocytogenes* to reach a level of 100 cfu g⁻¹ in cold-smoked salmon stored at 4 °C is thus

Table 4

Descriptive statistics of empirical posterior distributions of hyperparameters and corresponding adjusted distributions for the food flora model

Parameter	Mean	S.D.	2.5th percentile	Median	97.5th percentile	Adjusted distribution ^a
$M_{T_{minff}}$	-4.52	1.23	-6.96	-4.51	-2.13	$N(-4.52, 1.23)$
$M_{\mu_{refff}}$	4.12	0.72	2.83	4.08	5.69	$G(32.5, 0.127)$
$M_{y_0, ff}$	2.78	0.26	2.25	2.78	3.31	$N(2.78, 0.265)$
$M_{y_{maxff}}$	7.27	0.28	6.72	7.28	7.82	$N(7.27, 0.276)$
$\sigma_{y, ff}$	0.76	0.04	0.69	0.76	0.84	$\ln(\sigma_{y, ff}) \sim N(-0.277, 0.0519)^b$
$S_{T_{minff}}$	7.66	2.06	4.59	7.32	12.5	$\ln(S_{T_{minff}}) \sim N(2.00, 0.257)$
$S_{\mu_{refff}}$	1.97	0.45	1.28	1.90	3.04	$\ln(S_{\mu_{refff}}) \sim N(-0.656, 0.221)$
$S_{y_0, ff}$	1.14	0.20	0.81	1.12	1.58	$\ln(S_{y_0, ff}) \sim N(0.114, 0.172)$
$S_{y_{maxff}}$	0.86	0.19	0.56	0.83	1.32	$\ln(S_{y_{maxff}}) \sim N(-0.172, 0.218)$

^a Normal distributions with parameters m for the expectation and sd for the standard deviation are denoted $N(m, sd)$ and Gamma distributions denoted $G(a, b)$ are parameterized by the shape parameter a and the scale parameter b .

^b \ln represents the natural logarithm.

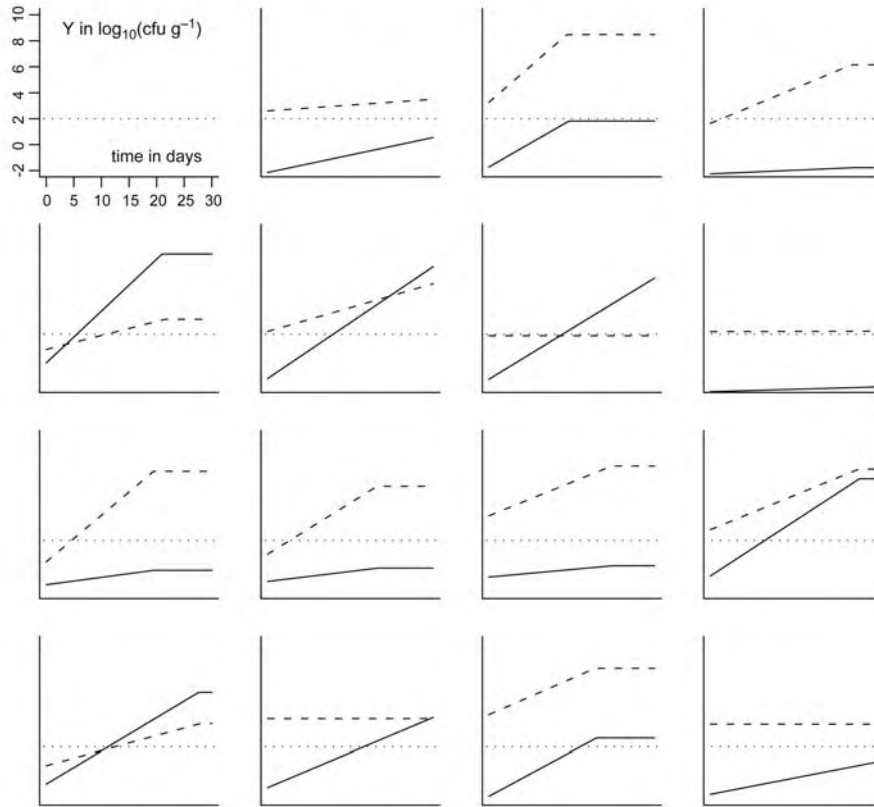


Fig. 5. First-order randomly chosen simulations of the simultaneous growth of *L. monocytogenes* (solid lines) and food flora (dashed lines) in cold-smoked salmon at the temperature 4 °C. For a better readability, annotations of axes are not reported for each simulation.

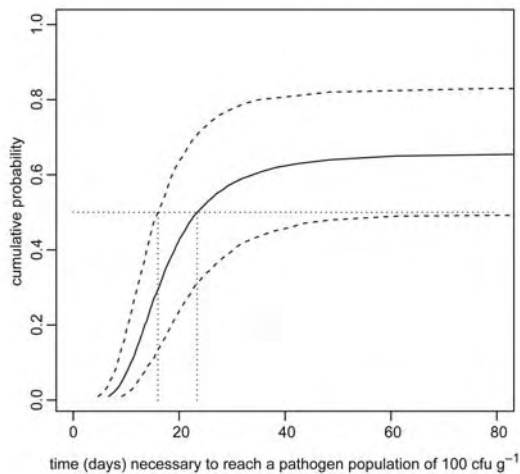


Fig. 6. Second-order simulations of the time (in days) necessary for a *L. monocytogenes* population to reach a level of 100 ufc g⁻¹ in cold-smoked salmon at 4 °C. For each value of the cumulative probability (*y* value), it is possible to read on the solid line the estimation of the corresponding variability percentile (*x* value) and between the two dashed lines its 95% credible interval which reflects the uncertainty on the estimated percentile.

estimated at 24 days and in the 95% credible interval of [15, +∞]. Actually, among the simulated growth kinetics of *L. monocytogenes*, many did not reach the level of 100 cfu g⁻¹ even after 500 days (duration of the simulations), and the proportion of contaminated products that do not reach the level of 100 cfu g⁻¹ after 500 days was estimated at 34% with a 95% credible interval of [16%, 52%].

These last simulations (Figs. 5 and 6) were presented as illustrations of potential uses of the present work. In the framework of our project, the modeled uncertainty and

Table 5
Description of the links indicated in Fig. 7

Node	Type	Definition
Y_m	Stochastic	$N(M_y, m, \sigma_y)$
M_y, m	Logical	Eq. (1)
$y_{max, c}$	Stochastic	$N(Y_{end, c}, \sigma_y)$
$Y_{0, c}$	Stochastic	$N(Y_{0, c}, \sigma_y)$
$M_{\mu, max, c}$	Logical	Eq. (2)
λ_c	Stochastic	$\ln(\lambda_c) \sim N(M_{\lambda_c}, S_{\lambda_c})$
$T_{min, s}$	Stochastic	$N(M_{T_{min, s}}, S_{T_{min, s}})I(-\infty, T_{ref})^a$
$\mu_{ref, k}$	Stochastic	$N(M_{\mu_{ref, k}}, S_{\mu_{ref, k}})I(0, +\infty)^a$

^a $X \sim N(m, sd)I(a, b)$ denotes a quantity *X* from a normal distribution with expected value *m* and standard deviation *sd*, where (*a*, *b*) represents interval censoring (see Spiegelhalter et al., 2003, p.12 for details).

Table 6
Description of the links indicated in Fig. 8

Node	Type	Definition
$Y_{0,m}$	Stochastic	$N(M_{y,0,m}, \sigma_y)$
$M_{y,0,m}$	Logical	Eq. (3)
$y_{\max,c}$	Stochastic	$N(M_{y,\max,c}, S_{y,\max,c})$
$y_{0,c}$	Stochastic	$N(M_{y,0,c}, S_{y,0,c})$
$\mu_{\max,c}$	Logical	Eq. (2)
$T_{\min,c}$	Stochastic	$N(M_{T_{\min,c}}, S_{T_{\min,c}})I(-\infty, T_{\text{ref}})^a$
$\mu_{\text{ref},p}$	Stochastic	$N(M_{\mu_{\text{ref},p}}, S_{\mu_{\text{ref},p}})I(0, +\infty)^a$

^a $X \sim N(m, \text{sd})I(a, b)$ denotes a quantity X from a normal distribution with expected value m and standard deviation sd , where (a, b) represents interval censoring (see Spiegelhalter et al., 2003, p.12 for details).

variability distributions will be used to achieve a complete exposure assessment, including a time–temperature model and consumption data. The use of the previous model in dynamic temperature storage conditions is straightforward, using the exponential growth model in its differential form. Although specifically developed for this project, the presented work could be used for any QMRA that involves *L. monocytogenes* and cold-smoked salmon. Last, the iterative modelling process of *L. monocytogenes* growth parameters which started with a case-study in milk (Pouillot et al., 2003) and was continued in the present work with another growth environment might be extended in future works.

In this study, as was done in the FDA/FSIS risk assessment (2003), only the effect of the temperature was included in the secondary model. But the temperature is not the only variable environmental factor influencing the growth of *L. monocyto-*

genes and food flora in cold-smoked salmon. Variations in pH, salt content and phenolic content among products have a significant impact on the growth of *L. monocytogenes* (Cornu et al., in press). Our model indirectly takes into account the variability of these environmental factors by a variability distribution of the reference growth rate in cold-smoked salmon at 25 °C estimated from products of various origins. This simplification was motivated on one hand by the lack of characterization of other environmental factors for some of the experimental curves taken from publications and on another hand from the difficulty to find adapted secondary models sufficiently validated for the prediction of *L. monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon (Dalgaard and Jorgensen, 1998, Cornu et al., in press). In the future, this work could be extended by the use of a more complex secondary model such as the one proposed by Gimenez and Dalgaard (2004) for the growth of *L. monocytogenes*, so as to compare the two approaches.

This study presents a preliminary attempt to model the Jameson effect in an exposure assessment by a competitive growth of *L. monocytogenes* and food flora. Generally in risk assessments (FDA/FSIS, 2003, FAO/WHO, 2004), an effect of the presence of the food flora is taken into account just by directly lowering the maximum concentration in *L. monocytogenes*. In this study, as proposed by Gimenez and Dalgaard (2004), the simultaneous growth of both flora is assumed predictable from the separate modelling for each flora. This part of the modelling process is still under development. The simplifying hypotheses chosen, such as the independency

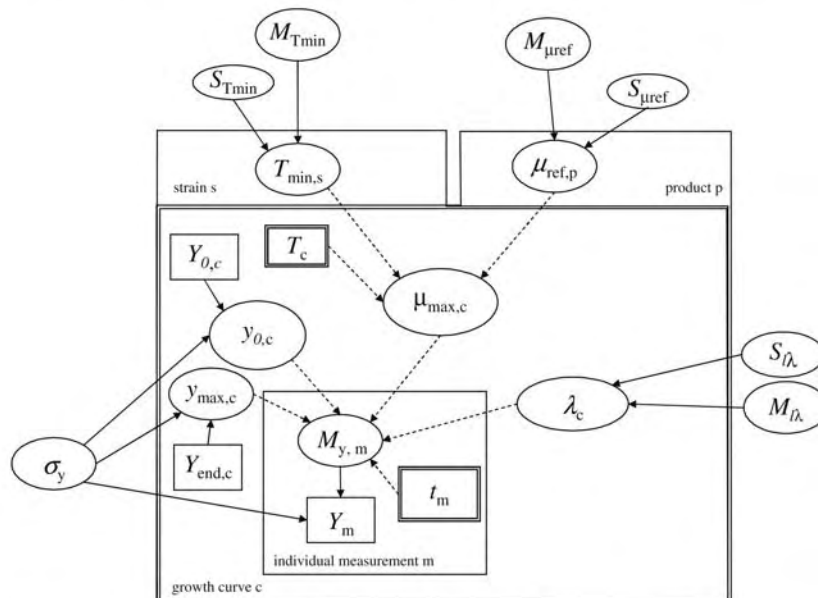


Fig. 7. Directed acyclic graph of the *L. monocytogenes* model. All model quantities are presented as nodes. Data are denoted by rectangles; covariates are denoted by double-rectangles and parameters are denoted by ellipses. Arrows run between nodes from their direct influence ('parents') to the 'descendants', indicating the conditional independence assumptions of the model: given its parent nodes, each node is independent of all other nodes in the graph except its 'descendants'. Solid arrows indicate stochastic dependencies while dashed arrows indicate logical functions. Stochastic and logical links are fully described in Table 5.

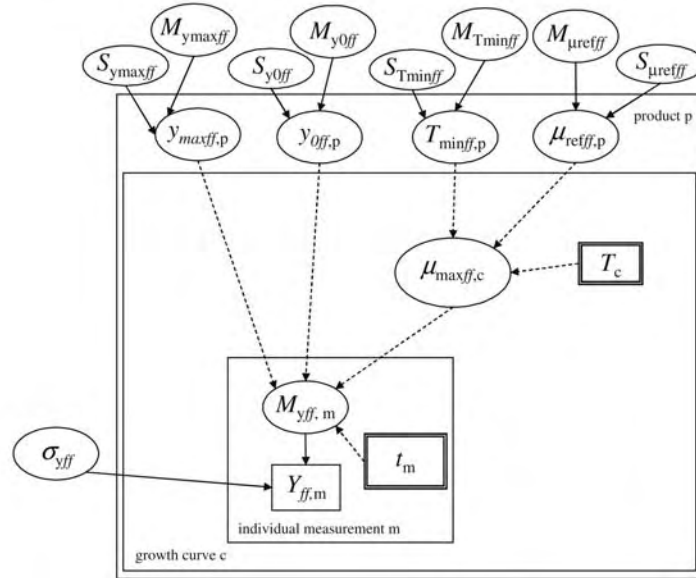


Fig. 8. Directed acyclic graph of the food flora model built as in Fig. 7. Stochastic and logical links are fully described in Table 6.

between the growth parameters of both considered populations, should indeed be investigated on the basis of specifically designed data. Experimental growth curves of both populations in realistic competition in the same product are necessary to allow us some serious validation of this approach.

The Bayesian approach seems to be a valuable tool for evaluating growth parameters of predictive microbiology models for QMRA purposes. In many quantitative risk assessments, the distributions of some parameters are defined only from expert knowledge. In our approach, for some parameters the prior distribution is fixed from expert knowledge, but the corresponding posterior distribution is updated by Bayesian inference, taking into account the whole information available in the experimental data. A great strength of such a Bayesian approach seems for us to take into account all the available information, experimental data and expert knowledge, and to clearly separate uncertainty and variability, as required for QMRA simulations.

Acknowledgements

We would like to thank the BUGS project for their contribution by way of the development and the diffusion of the WinBUGS software and the anonymous referees of this paper for their constructive comments.

Appendix A. Bayesian model for growth of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon

A graphical presentation of the model for *L. monocytogenes* is reported in Fig. 7. On this figure are represented the hyperparameters (ellipses outside the frame), the parameters (other ellipses), the covariates (double-rectangles) and the data

(rectangles). Logical (dashed arrows) and stochastic (solid arrows) links between quantities are also represented and fully described in Table 5. Y_m denotes an individual measurement made at time t_m on a growth curve c obtained at one temperature Y_c and for one strain s and one product p . The indexes m , c , s and p thus denote the different levels of the model, respectively, the individual measurement, the growth curve, the strain and the product. In this model, $y_{0,c}$ and $y_{max,c}$ are, respectively, linked to the first ($Y_{0,c}$) and last ($Y_{end,c}$) experimental observations made on curve c . It was actually visually checked that all the observed kinetics had reached their stationary phase. These two parameters are thus supposed variable between curves but this variability was not modeled since the values observed in the data set are not realistic. In fact all the curves were obtained from artificially contaminated cold-smoked salmon and thus with high levels of contamination.

The product parameter $\mu_{ref,p}$ and the strain parameter $T_{min,s}$ are assumed to follow normal distributions specified by expected values and standard deviations hyperparameters (Table 5).

The parameter λ_c is assumed to follow a lognormal distribution specified by $\ln(\lambda_c)$ expected value and standard variation hyperparameters (Table 5). This choice is based on

Table 7
Prior distributions used for hyperparameters in Table 5

Parameter	Distribution	Source of prior information
$M_{T_{min}}$	$N(-2.47, 0.69)$	Pouillot et al. 2003
$M_{\mu_{ref}}$	$N(6.2, 4)$	FDA/FSIS 2003
M_{λ_c}	$N(0, 1.5)$	Expert knowledge
σ_y	$\sigma_y^{-2} \sim G(1.484, 9.570)$	Expert knowledge
$S_{T_{min}}$	$S_{T_{min}}^{-2} \sim G(2.829, 0.2727)$	Pouillot et al. 2003
$S_{\mu_{ref}}$	$S_{\mu_{ref}}^{-2} \sim G(1.682, 0.0459)$	FDA/FSIS 2003
S_{λ_c}	$S_{\lambda_c}^{-2} \sim G(14.20, 0.0308)$	Expert knowledge

the observation of the distribution of the lag times separately estimated on each growth curve. But the characterization of its distribution from this data set will not be considered suitable for predicting the growth of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon in the context of our project.

Appendix B. Bayesian model for growth of food flora in cold-smoked salmon

As for *L. monocytogenes*, a graphical presentation of the model for food flora is represented in Fig. 8, and the links of Fig. 8 are fully described in Table 6. $Y_{\text{ff}, m}$ denotes an individual measurement made at time t_m on a growth curve c obtained at one temperature T_m and for one product p . The indexes m , c and p thus denote the different levels of the model, respectively, the individual measurement, the growth curve and the product. The product parameters $y_{0 \text{ ff}, p}$, $y_{\text{max ff}, p}$, $\mu_{\text{ref ff}, p}$ and $T_{\text{min ff}, p}$ are assumed to follow normal distributions specified by expected values and standard deviations hyperparameters (Table 6).

Appendix C. Prior distributions for growth model of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon

Prior distributions used for hyperparameters are described in Table 7. Normal distributions were chosen for the prior distributions of mean parameters $M_{T_{\text{min}}}$, $M_{\mu_{\text{ref}}}$, $M_{I_{\lambda}}$. Normal distributions with parameters m for the expectation and sd for the standard deviation are denoted $N(m, sd)$. Parameters for the prior distribution of $M_{T_{\text{min}}}$ are those of the posterior distribution reported by Pouillot et al. (2003) for *L. monocytogenes* in milk. For $M_{\mu_{\text{ref}}}$, the expected value of the normal distribution was computed with the model proposed in the FDA/FSIS risk assessment (2003) for smoked seafood, while the standard deviation was chosen large. For $M_{I_{\lambda}}$, reasonable values of the parameters were chosen by microbiologists of our team. Gamma distributions were chosen for precision parameters σ_y^{-2} , $S_{T_{\text{min}}}^{-2}$, $S_{\mu_{\text{ref}}}^{-2}$ and $S_{I_{\lambda}}^{-2}$. In this paper, the Gamma distributions denoted $G(a, b)$ are parameterized by the shape parameter a and the scale parameter b . These parameters were estimated from the plausible and the extreme value of S or σ , both being supplied by expert knowledge. As explained in Pouillot et al. (2003), these two values were, respectively, taken as median and 2.5th percentile of the distribution of S or σ and the parameters a and b of the corresponding Gamma distributions of S^{-2} or σ^{-2} were computed from them using numerical inversion. For $S_{T_{\text{min}}}$, the median and 97.5th percentile of the posterior distribution reported by Pouillot et al. (2003) for *L. monocytogenes* in milk were used. For $S_{\mu_{\text{ref}}}$, $S_{I_{\lambda}}$ and σ_y reasonable values of the parameters were chosen by microbiologists of our team.

Appendix D. Prior distributions for growth model of food flora in cold-smoked salmon

Prior distributions used for hyperparameters are described in Table 8. As previously, normal distributions were chosen for

Table 8
Prior distributions used for hyperparameters in Table 6

Parameter	Distribution	Source of prior information
$M_{T_{\text{min}}}$	$N(-3.4, 1.5)$	Gimenez and Dalgaard 2004
$M_{\mu_{\text{ref}}}$	$N(4.9, 2.45)$	Gimenez and Dalgaard 2004
$M_{y_{0 \text{ ff}}}$	$N(3.3, 1.3)$	Other experimental data
$M_{y_{\text{max ff}}}$	$N(6.6, 1.1)$	Leroi et al. 2000
σ_y	$\sigma_y^{-2} \sim G(1.484, 9.570)$	Expert knowledge
$S_{T_{\text{min}}}$	$S_{T_{\text{min}}}^{-2} \sim G(1.68, 0.0136)$	Expert knowledge
$S_{\mu_{\text{ref}}}$	$S_{\mu_{\text{ref}}}^{-2} \sim G(1.68, 0.0816)$	Expert knowledge
$S_{y_{0 \text{ ff}}}$	$S_{y_{0 \text{ ff}}}^{-2} \sim G(1.68, 0.434)$	Other experimental data
$S_{y_{\text{max ff}}}$	$S_{y_{\text{max ff}}}^{-2} \sim G(1.68, 0.607)$	Leroi et al. 2000

the prior distributions of mean parameters $M_{T_{\text{min}}}$, $M_{\mu_{\text{ref}}}$, $M_{y_{0 \text{ ff}}}$ and $M_{y_{\text{max ff}}}$ and Gamma distributions were chosen for precision parameters σ_y^{-2} , $S_{T_{\text{min}}}^{-2}$, $S_{\mu_{\text{ref}}}^{-2}$, $S_{y_{0 \text{ ff}}}^{-2}$, $S_{y_{\text{max ff}}}^{-2}$. The expected value of $M_{T_{\text{min}}}$ was fixed to the value estimated by Gimenez and Dalgaard (2004) from experiments made on a cold-smoked salmon artificially contaminated with a cocktail of strains generally present in this product. The expected value of $M_{\mu_{\text{ref}}}$ was estimated from data reported by Gimenez and Dalgaard (2004). For $M_{y_{0 \text{ ff}}}$ and $S_{y_{0 \text{ ff}}}$, expected values were estimated from the experimental count of the food flora on 62 French commercial cold-smoked salmon just after the production. For $M_{y_{\text{max ff}}}$ and $S_{y_{\text{max ff}}}$, expected values were estimated from data reported by Leroi et al. (2000). The other values were fixed by microbiologists of our team to plausible values (Table 8).

References

- Baty, F., Delignette-Muller, M.L., 2004. Estimating the bacterial lag time: which model, which precision? *International Journal of Food Microbiology* 91, 261–277.
- Beaufort, A., Rudelle, S., Gnanou-Besse, N., Toquin, M.T., Kerouanton, A., Bergis, H., Salvat, G., Cornu, M., Prevalence, characterization and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* (submitted).
- Bemrah, N., Sanaa, M., Cassin, M.H., Griffiths, M.W., Cerf, O., 1998. Quantitative risk assessment of human listeriosis from consumption of soft cheese made from raw milk. *Preventive Veterinary Medicine* 37, 129–145.
- Bergis, H., 2002. Technologie de préparation du saumon fumé : incidence du froid sur le développement microbien. *Revue Générale du Froid* 1028, 30–34.
- Brooks, S.P., Gelman, A., 1998. Alternative methods for monitoring convergence of iterative simulations. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 7, 434–455.
- Carlin, B.P., Louis, T.A., 2000. Bayes and empirical Bayes methods for data analysis. *Texts in Statistical Science*, (2nd edn.) Chapman and Hall/CRC, Boca Raton.
- Codex Alimentarius Commission (CAC), 1999. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment, CAC/GL-30 (1999). Available on Internet as PDF document at: ftp://ftp.fao.org/codex/standard/en/CXG_030e.pdf.
- Codex Alimentarius Commission (CAC), 2003. Hazard characterization for pathogens in food and water. Guidelines. *Microbial Risk Assessment Series* 3. Available on Internet as PDF document at: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y4666E/y4666E00.pdf>.
- Coleman, M.E., Sandberg, S., Anderson, S.A., 2003. Impact of microbial ecology of meat and poultry products on predictions from exposure assessment scenarios for refrigerated storage. *Risk Analysis* 23, 215–228.

- Cornu, M., Beaufort, A., Rudelle S., Laloux L., Bergis H., Miconnet N., Serot T., Delignette-Muller M.L., 2006. Effect of temperature, WPS (water-phase salt) and phenolic contents on *Listeria monocytogenes* growth rates on cold-smoked salmon and evaluation of secondary models. *International Journal of Food Microbiology* 106, 161–170.
- Dalgaard, P., Jorgensen, L.V., 1998. Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* 40, 105–115.
- Delignette-Muller, M.L., Rosso, L., 2000. Biological variability and exposure assessment. *International Journal of Food Microbiology* 58, 203–212.
- Delignette-Muller, M.L., Baty, F., Cornu, M., Bergis, H., 2005. Modelling the effect of a temperature shift on the lag phase duration of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 100, 77–84.
- Duffes, F., Corre, C., Leroi, F., Dousset, X., Boyaval, P., 1999. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by in situ produced and semipurified bacteriocins of *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated cold-smoked salmon. *Journal of Food Protection* 62, 1394–1403.
- European Commission, 2002. Risk assessment of food borne bacterial pathogens: quantitative methodology relevant for human exposure assessment. Available on Internet as pdf document at: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out252_en.pdf.
- FAO/WHO, 2002. Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts Report of a Joint FAO/WHO Consultation Kiel, Germany 18–22 March 2002.
- FAO/WHO, 2004. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. MRA series 4 and 5. WHO. Available on Internet as html document at: http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra_listeria/en/print.html.
- FDA/FSIS, 2003. Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Report of the joint FDA/FSIS expert consultation. Available on Internet as PDF document at: <http://www.foodsafety.gov/~dms/lmr2-toc.html>.
- Frey, H.C., Burmaster, D.E., 1999. Methods for characterizing variability and uncertainty: comparison of bootstrap simulation and likelihood-based approaches. *Risk Analysis* 19, 109–130.
- Gimenez, B., Dalgaard, P., 2004. Modelling and predicting the simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage micro-organisms in cold-smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology* 96, 96–109.
- Gilks, W.R., Richardson, S., Spiegelhalter, D.J., 1996. Markov Chain Monte Carlo in Practice. Chapman and Hall, London, p. 486.
- Guyot, S., Jemmi, T., 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* during fabrication and storage of experimentally contaminated smoked salmon. *Applied and Environmental Microbiology* 57, 1523–1527.
- Hudson, J., Mott, S., 1993. Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* on cold-smoked salmon under refrigeration and mild temperature abuse. *Food Microbiology* 10, 61–68.
- Lakshmanan, R., Dalgaard, P., 2004. Effects of high-pressure processing on *Listeria monocytogenes*, spoilage microflora and multiple compound quality indices in chilled cold-smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology* 96, 398–408.
- Leroi, F., Joffraud, J.J., Chevalier, F., Cardinal, M., 1998. Study of the microbial ecology of cold-smoked salmon during storage at 8 degrees C. *International Journal of Food Microbiology* 39, 111–121.
- Leroi, F., Joffraud, J.J., Chevalier, F., 2000. Effect of salt and smoke on the microbiological quality of cold-smoked salmon during storage at 5 degrees C as estimated by the factorial design method. *Journal of Food Protection* 63, 502–508.
- Leroi, F., Joffraud, J.J., Chevalier, F., Cardinal, M., 2001. Research of quality indices for cold-smoked salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and physico-chemical parameters. *Journal of Applied Microbiology* 90, 578–587.
- Lindqvist, R., Westö, A., 2000. Quantitative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in smoked or gravad salmon and rainbow trout in Sweden. *International Journal of Food Microbiology* 58, 181–196.
- Membré, J.M., Ross, T., McMeekin, T., 1999. Behaviour of *Listeria monocytogenes* under combined chilling processes. *Letters in Applied Microbiology* 28, 216–220.
- Miconnet, N., Geeraerd, A., Van Impe, J., Rosso, L., Cornu, M., 2005. Reflections on the use of robust and least-squares non-linear regression to model challenge tests conducted in/or food products. *International Journal of Food Microbiology* 104, 161–177.
- Miller, A.J., Whiting, R.C., Smith, J.L., 1997. Use of risk assessment to reduce listeriosis incidence. *Food Technology* 51, 100–103.
- Nauta, M.J., 2000. Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models. *International Journal of Food Microbiology* 57, 9–18.
- Nauta, M.J., 2002. Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible? *International Journal of Food Microbiology* 73, 297–304.
- Niedziela, J.-C., Macrae, M., Ogden, I.D., Nesvadba, P., 1998. Control of *Listeria monocytogenes* in salmon; antimicrobial effect of salting, smoking and specific smoke compounds. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie- Food Science and Technology* 31, 155–161.
- Nilsson, L., Huss, H.H., Gram, L., 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere. *International Journal of Food Microbiology* 38, 217–227.
- Paludan-Müller, C., Dalgaard, P., Huss, H.H., Gram, L., 1998. Evaluation of the role of *Carnobacterium piscicola* in spoilage of vacuum- and modified-atmosphere-packed cold-smoked salmon stored at 5 degrees C. *International Journal of Food Microbiology* 39, 155–166.
- Peeler, J.T., Bunning, V.K., 1994. Hazard assessment of *Listeria monocytogenes* in the processing of bovine milk. *Journal of Food Protection* 57, 689–697.
- Pin, C., Baranyi, J., 1998. Predictive models as means to quantify the interactions of spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology* 41, 59–72.
- Pouillot, R., Albert, I., Cornu, M., Denis, J.B., 2003. Estimation of uncertainty and variability in bacterial growth using Bayesian inference. Application to *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 81, 87–104.
- Rachman, C., Fourrier, A., Sy, A., De la Cochetière, M.F., Prévost, H., Dousset, X., 2004. Monitoring of bacterial evolution and molecular identification of lactic acid bacteria in smoked salmon during storage. *Lait* 84, 145–154.
- Ratkovsky, D.A., Olley, J., McMeekin, T.A., Ball, A., 1982. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology* 149, 1–5.
- Rorvik, L.M., Yndestad, M., Skjerve, E., 1991. Growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed, smoked salmon, during storage at 4 degrees C. *International Journal of Food Microbiology* 14, 111–117.
- Ross, T., McMeekin, T.A., 2003. Modeling microbial growth within food safety risk assessments. *Risk Analysis* 23, 179–197.
- Ross, T., Dalgaard, P., Tienungoon, S., 2000. Predictive modeling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. *International Journal of Food Microbiology* 62, 231–245.
- Rosso, L., Bajard, S., Flandrois, J.P., Lahellec, C., Foumaud, J., Veit, P., 1996. Differential growth of *Listeria monocytogenes* at 4 and 8 °C: consequences for the shelf life of chilled products. *Journal of Food Protection* 59, 944–949.
- Sanaa, M., Coroller, L., Cerf, O., 2004. Risk assessment of listeriosis linked to the consumption of two soft cheeses made from raw milk: Camembert of Normandy and Brie of Meaux. *Risk Analysis* 24, 389–399.
- Spiegelhalter, D., Thomas, A., Best, N., Lunn, D., 2003. WinBUGS Version 1.4 User Manual MRC Biostatistics Unit, Cambridge, UK, January 2003.
- Swinnen, I.A., Bernaerts, K., Dens, E.J., Geeraerd, A.H., Van Impe, J.F., 2004. Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. *International Journal of Food Microbiology* 94, 137–159.
- Szabo, E.A., Cahill, M.E., 1999. Nisin and ALTA 2341 inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* on smoked salmon packaged under vacuum or 100% CO₂. *Letters in Applied Microbiology* 28, 373–377.
- Truelstrup Hansen, L., Drewes Rontved, S., Huss, H.H., 1998. Microbiological quality and shelf life of cold-smoked salmon from three different processing plants. *Food Microbiology* 15, 137–150.

- van Gerwen, S.J.C., Zwietering, M.H., 1998. Growth and inactivation models to be used in quantitative risk assessments. *Journal of Food Protection* 61, 1541–1549.
- Vose, D., 2000. *Risk analysis. A Quantitative Guide*, (2nd ed.) John Wiley and Sons, New York, pp. 23 and 250.
- Walker, S.J., Archer, P., Banks, J.G., 1990. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *Journal of Applied Bacteriology* 68, 157–162.
- Whiting, R.C., Bagi, L.K., 2002. Modelling the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 73, 291–295.

UNIVERSITÉ PARIS XI

FACULTÉ DE MÉDECINE PARIS-SUD

Année 2006

N° attribué par la bibliothèque

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS XI

Discipline : « Biostatistique »

présentée et soutenue publiquement

par

Régis POUILLOT

le 29 septembre 2006

Appréciation quantitative des risques en hygiène des
aliments : développements et mises en œuvre pour la prise en
compte des recommandations internationales.

Directeur de thèse : Jean-Baptiste DENIS

JURY

Pr. Alfred SPIRA, Président

M. Jean-Christophe AUGUSTIN, Rapporteur

Pr. Jean-Jacques DAUDIN, Rapporteur

Mme Barbara DUFOUR

Mme Muriel ELIASZEWICZ

Pr. Jean MACCARIO

M. Jean-Baptiste DENIS

Appréciation quantitative de l'exposition à *Listeria monocytogenes* par consommation de saumon fumé à froid en France.

1. Introduction

L'article présenté dans ce chapitre a été conçu dans le cadre du projet de recherche de l'Afssa intitulé « Description du processus sanitaire modulant l'exposition au danger *Listeria monocytogenes* dans certains produits réfrigérés » (acronyme « projet LMPR ») préalablement cité, dirigé par A. Beaufort et M. Cornu (Unité Microbiologie Quantitative et Estimation des Risques, Afssa). L'article scientifique qui en a résulté, développé dans ce chapitre, a été soumis à la revue Risk Analysis, en 2006, co-signé par Nicolas Miconnet (Afssa), Anne-Laure Afchain (Cemagref), Marie-Laure Delignette-Muller (ENVL), Jean-Baptiste Denis (Inra), Laurent Rosso (Afssa) et Marie Cornu (Afssa) (Pouillot et al., 2006).

Ces travaux présentent une appréciation quantitative de l'exposition (AQE) à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé à froid, conditionnés, en France. Cette AQE est plus complexe que l'AQR proposée pour *C. parvum*, en raison des possibilités de croissance de la bactérie tout au long du process. L'originalité du projet LMPR était dans la multi-disciplinarité des intervenants et dans la collecte spécifique de l'ensemble des données nécessaires à cette AQE, dans une optique d'AQE (i.e. procédures spécifiques de collecte des données pour estimer au mieux la variabilité des paramètres et l'incertitude autour de l'estimation des paramètres). Les travaux issus de ce projet ont fait l'objet de publications par ailleurs, que nous ne développerons que partiellement (Gnanou-Besse et al., 2004 ; Afchain et al., 2005 ; Miconnet et al., 2005a ; Beaufort et al., 2006 ; Cornu et al., 2006 ; Delignette-Muller et al., 2006).

Cet article s'arrête à l'évaluation de l'exposition ; après avoir développé ces travaux, nous proposons une évaluation du risque lié à la présence de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé en France, par intégration d'une loi dose-réponse de *L. monocytogenes* développée par ailleurs (FDA/USDA/CDC, 2003 ; FAO/WHO, 2004).

2. Présentation des travaux

Nous proposons tout d'abord le modèle, incluant notamment une méthode originale d'intégration de la croissance bactérienne en conditions de températures variables, puis les méthodes d'obtention et de paramétrisation des données. Ensuite, l'intégration du modèle nous permettra de valider certaines hypothèses de modélisation prises, et d'étudier la sensibilité du modèle aux différents paramètres d'entrée.

2.1. Le modèle

Présentation du modèle

L'objectif final est l'évaluation, par simulation de Monte-Carlo à deux dimensions, de l'exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé à froid conditionné, de sa variabilité et de l'incertitude associée à cette estimation. Le processus modélisé s'étend de la sortie de l'usine de production après conditionnement (t_0) à la consommation. Le modèle peut être synthétisé tel que proposé Figure 17. Les paramètres et leurs distributions respectives sont proposés dans le Tableau XVII.

Chapitre IV : Exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé

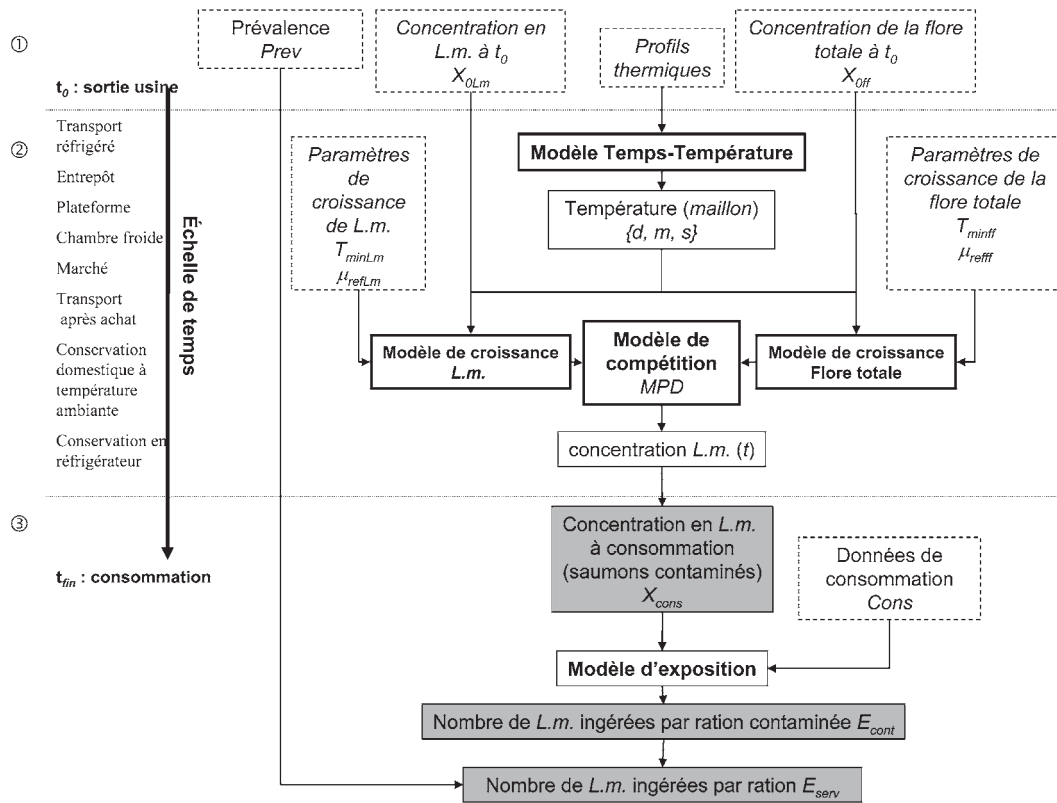


Figure 17 : Représentation schématique du modèle d'évaluation de l'exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé en France. Cadres : modèles mathématiques, cadres pointillés : données, cadres grisés : paramètres de sortie

Pour des raisons de simplification, le modèle sépare les plaques de saumon contaminées à la sortie de l'usine de celles non contaminées. En effet, si l'on néglige les phénomènes de contamination croisée chez le consommateur après ouverture de l'emballage, la conservation du saumon fumé en plaque sous vide ne permet pas de contamination au cours du processus, et les plaques non contaminées à la sortie de l'usine entraîneront une exposition nulle, et donc un risque nul.

Concernant les plaques contaminées, la croissance des *L. monocytogenes* sera prise en compte tout au long du processus. Pour ce faire, une procédure originale d'intégration de la croissance a été développée incluant des modèles de croissance primaire et secondaire issus de la microbiologie prévisionnelle. Cette procédure permet, pour des raisons de temps de calculs, de simuler cette croissance en un nombre limité d'étapes plutôt que par une intégration par petits pas de temps. Ce modèle prend en compte l'influence de la température subie par le produit tout au long du processus, et l'interaction entre la croissance de *L. monocytogenes* et celle de la flore totale. Cette intégration de la croissance a demandé une modélisation des profils thermiques suivis par les produits, selon les différentes chaînes logistiques permettant de conduire le produit de l'usine de production à la table du consommateur.

Chapitre IV : Exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé

Tableau XVII : Paramètres du modèle d'évaluation de l'exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé.

Distribution de variabilité et d'incertitude.

Notation	Description et unité	Distribution de Variabilité	Distribution d'incertitude
$Prev$	Proportion de paquet de saumon fumé contaminé à t_0	Bootstrap (cf. <i>infra</i>) ^a	Bootstrap (cf. <i>infra</i>) ^a
X_{0Lm}	Concentration en <i>L. monocytogenes</i> dans un paquet de saumon fumé contaminé à t_0 ($\log_{10}(\text{ufc/g})$)	Bootstrap (cf. <i>infra</i>)	Bootstrap (cf. <i>infra</i>)
X_{off}	Concentration en flore totale dans un paquet de saumon fumé contaminé à t_0 ($\log_{10}(\text{ufc/g})$)	$N(M_{yff0}, \sigma_{yff0})$	$M_{yff0} \sim N(2,78; 0,280)^b$ $\log(\sigma_{yff0}) \sim N(0,192; 0,153)^b$
μ_{refLm}	Taux de croissance spécifique pour la température de référence de 25°C (jour ⁻¹) pour <i>L. monocytogenes</i>	$NT(M_{\mu_{refLm}}, S_{\mu_{refLm}}, 0, \infty)$	$M_{\mu_{refLm}} \sim \text{gamma}(69,7; 0,0896)^b$ $\log(S_{\mu_{refLm}}) \sim NT(-1,03; 0,191)^b$
T_{minLm}	Température minimale de croissance de <i>L. monocytogenes</i> (°C)	$N(M_{T_{minLm}}, S_{T_{minLm}})$	$M_{T_{minLm}} \sim N(-2,86; 0,459)^b$ $\log(S_{T_{minLm}}) \sim N(0,638; 0,208)^b$
μ_{reff}	Taux de croissance spécifique pour la température de référence de 25°C (jour ⁻¹) pour la flore totale	$NT(M_{\mu_{reff}}, S_{\mu_{reff}}, 0, \infty)$	$M_{\mu_{reff}} \sim \text{gamma}(32,5; 0,127)^b$ $\log(S_{\mu_{reff}}) \sim NT(-0,656; 0,221)^b$
T_{minff}	Température minimale de croissance de la flore totale (°C)	$N(M_{T_{minff}}, S_{T_{minff}})$	$M_{T_{minff}} \sim N(-4,52; 1,23)^b$ $\log(S_{T_{minff}}) \sim N(2,00; 0,27)^b$
MPD	Concentration maximale atteignable dans le produit ($\log_{10}(\text{ufc/g})$)	$N(M_{y_{max}}, S_{y_{max}})$	$M_{y_{max}} \sim N(7,27; 0,276)^b$ $\log(S_{y_{max}}) \sim N(-0,172; 0,218)^b$
DLC	Date limite de consommation telle qu'indiquée sur le produit (jour)	$DE(\{0,99; 0,01\}, \{28, 21\})$	Fixée
DMC	Date limite de consommation telle qu'appliquée par le consommateur (jour)	$Triang(DLC, DLC, DLC+5)$	Fixée
$T(t)$	Profils temps-température	cf. <i>infra</i>	Fixée
$Cons$	Quantité de saumon fumé consommé par prise alimentaire (g)	Bootstrap non paramétrique	Bootstrap non paramétrique

$N(a; b)$, distribution normale de moyenne a et d'écart-type b ; $NT(a; b; c; d)$: distribution normale de moyenne a et d'écart-type b tronquée sur l'intervalle $]c; d[$; $\text{gamma}(a, b)$ distribution gamma de paramètre de forme a et de paramètre d'échelle b . $DE(\{a_1, \dots, a_n\}, \{b_1, \dots, b_n\})$: distribution empirique ayant pour valeurs de probabilités $\{a_1, \dots, a_n\}$ associées aux valeurs $\{b_1, \dots, b_n\}$; $Triang(a, b, c)$: distribution triangulaire (Vose, 2000) de valeur minimale a , de valeur la plus probable b et de valeur maximale c .

^a : méthode adaptée de (Miconnet *et al.*, 2005a) ; ^b : source : (Delignette-Muller *et al.*, 2006)

La concentration finale en *L. monocytogenes* ($\log_{10}(\text{ufc g}^{-1})$) simulée à l'instant de la consommation est finalement multipliée par la quantité consommée pour obtenir l'exposition de la population par consommation de saumon fumé contaminé. Enfin, la prise en compte de la prévalence des plaques de saumon fumé contaminées permet de calculer l'exposition de la population par consommation de saumon fumé « tout venant » (*ie.* contaminé et non contaminé).

Mathématiquement, ce modèle pourrait simplement s'écrire :

$$\begin{cases} E_{serv} = -\infty & \text{Pr} = 1 - \text{Prev} \\ E_{serv} = \log_{10} \left(\text{Cons} \times \left(10^{X_{0Lm}} + 10^{\Delta X_{t_0 \rightarrow t_{fin}}} \right) \right) & \text{Pr} = \text{Prev} \end{cases}$$

où E_{serv} est l'exposition par consommation de saumon fumé ($\log_{10}(\text{ufc/ration})$), $Prev$ est la prévalence de contamination des plaques de saumon, $Cons$ est la quantité de saumon consommée par prise alimentaire (g/ration), X_{0Lm} est la concentration initiale ($\log_{10}(\text{ufc g}^{-1})$) en *L. monocytogenes*, $\Delta X_{t_0 \rightarrow t_{fin}}$ est la croissance bactérienne entre t_0 et t_{fin} ($\log_{10}(\text{ufc g}^{-1})$), temps de la consommation.

Le saumon fumé étant très généralement ingéré sans cuisson, aucun modèle d'inactivation n'a dû être pris en compte. Si l'on considère les différents modules proposés par Nauta (Nauta, 2002; European Commission, 2003), ce process ne comporte qu'un type de module, à savoir la croissance bactérienne entre t_0 et t_{fin} , ce qui en fait un process finalement assez simple.

Développement du modèle de croissance

On considère la croissance d'une souche bactérienne dans un produit bien caractérisé. Soit le modèle primaire exponentiel sans phase de latence ni freinage (Eq.23, avec $\lambda = 0$) :

$$\begin{cases} \frac{dX_j(t)}{dt} = \frac{\mu_{T(t),j}}{\log(10)} & \text{si } X_j(t) < X_{max,j} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

où j est l'indice de la souche, $X_j(t)$ est la concentration bactérienne dans le produit à l'instant t ($\log_{10}(\text{ufc g}^{-1})$), $T(t)$ est la température à l'instant t ($^{\circ}\text{C}$), $\mu_{T(t),j}$ est le taux spécifique de croissance (j^{-1}), et $X_{max,j}$ est la concentration maximale pouvant être atteinte par la souche dans le produit ($\log_{10}(\text{ufc g}^{-1})$). Soit un modèle secondaire de type racine carré,

$$\begin{cases} \mu_{T(t),j} = \mu_{ref,j} \frac{(T(t) - T_{min,j})^2}{(T_{ref} - T_{min,j})^2} & \text{si } T(t) > T_{min,j} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

Eq.32

où T_{ref} est une température de référence, $\mu_{ref,j}$ est le taux de croissance spécifique pour la température de référence T_{ref} , $T_{min,j}$ est la température minimale de croissance de la souche. A noter que ce modèle n'est valide que pour des températures inférieures à T_{ref} .

Nous nous intéressons à la croissance de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé, prenant en compte l'interaction entre la croissance de ce germe pathogène et celle de la flore annexe. Dans l'aliment, il est généralement constaté que la plupart des interactions microbiennes se limitent à une diminution de la concentration maximale dans l'aliment $X_{max,j}$ sans effet sur les paramètres μ (Carlin *et al.*, 1996; Buchanan et Bagi, 1997; Campo *et al.*, 2001). On considère ainsi un modèle de compétition simple, basé sur l'effet Jameson (« Jameson effect ») (Ross *et al.*, 2000), stipulant que la croissance de *L. monocytogenes* sera arrêtée dès lors que la flore totale aura atteint une concentration maximale donnée (MPD), propre au produit, et réciproquement.

On peut alors écrire,

$$\text{Eq.33} \quad \begin{cases} \frac{dX_{Lm}}{dt} = \begin{cases} \frac{\mu_{refLm}}{\log(10)} \times \frac{(T(t) - T_{minLm})^2}{(T_{ref} - T_{minLm})^2} & \text{si } \{(T(t) > T_{minLm}) \cap (X_{Lm} < MPD) \cap (X_{ff} < MPD)\} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \\ \frac{dX_{ff}}{dt} = \begin{cases} \frac{\mu_{reff}}{\log(10)} \times \frac{(T(t) - T_{minff})^2}{(T_{ref} - T_{minff})^2} & \text{si } \{(T(t) > T_{minff}) \cap (X_{Lm} < MPD) \cap (X_{ff} < MPD)\} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \end{cases}$$

où Lm est un indice caractérisant *L. monocytogenes*, ff est un indice caractérisant la flore totale, MPD ($\log_{10}(\text{ufc g}^{-1})$) est la concentration maximale atteignable dans le produit. En intégrant l'équation Eq.33 on obtient :

Eq.34

$$\begin{cases} \Delta X_{Lm_{t_0 \rightarrow t_1}} = \int_{t_0}^{t_1} \frac{\mu_{refLm}}{\log(10)} \times \frac{(T(t) - T_{minLm})^2}{(T_{ref} - T_{minLm})^2} \mathbf{1}_{(T(t) > T_{minLm}) \text{ et } (X_{Lm}(t) < MPD) \text{ et } (X_{ff}(t) < MPD)} dt \\ \Delta X_{ff_{t_0 \rightarrow t_1}} = \int_{t_0}^{t_1} \frac{\mu_{reff}}{\log(10)} \times \frac{(T(t) - T_{minff})^2}{(T_{ref} - T_{minff})^2} \mathbf{1}_{(T(t) > T_{minff}) \text{ et } (X_{Lm}(t) < MPD) \text{ et } (X_{ff}(t) < MPD)} dt \end{cases}$$

Si (condition 1) $T(t) > \max(T_{minLm}, T_{minff}) \forall t \in [t_0, t_1]$, si (condition 2) $X_{Lm}(t_1) < MPD$ et si (condition 3) $X_{ff}(t_1) < MPD$, et si l'on considère qu'un intervalle de temps $[t_0, t_1]$ (appelé par la

suite « maillon ») peut être découpé en n sous intervalles de durée δt de température constante

T_k , alors Eq.34 peut être intégrée selon

$$\text{Eq.35} \quad \begin{cases} \Delta X_{Lm t_0 \rightarrow t_1} = \frac{\mu_{refLm}}{\log(10)(T_{ref} - T_{minLm})^2} \left(\sum_{k=1}^n T_k^2 \delta t - 2T_{minLm} \sum_{k=1}^n T_k \delta t + T_{minLm}^2 \sum_{k=1}^n \delta t \right) \\ \Delta X_{ff t_0 \rightarrow t_1} = \frac{\mu_{reff}}{\log(10)(T_{ref} - T_{minff})^2} \left(\sum_{k=1}^n T_k^2 \delta t - 2T_{minff} \sum_{k=1}^n T_k \delta t + T_{minff}^2 \sum_{k=1}^n \delta t \right) \end{cases}$$

Soient d , la durée du maillon, m , la moyenne des températures mesurées pendant le maillon et s^2 la variance (estimateur biaisé) des températures mesurées tels que :

$$d = \sum_{k=1}^n \delta t = t_1 - t_0$$

$$m = \frac{\sum_{k=1}^n T_k \delta t}{\sum_{k=1}^n \delta t}$$

$$s^2 = \frac{\sum_{k=1}^n T_k^2 \delta t - \sum_{k=1}^n \delta t \left(\frac{\sum_{k=1}^n T_k \delta t}{\sum_{k=1}^n \delta t} \right)^2}{\sum_{k=1}^n \delta t} = \frac{\sum_{k=1}^n T_k^2 \delta t - dm^2}{d}$$

Alors, si les conditions 1 à 3 sont remplies tout au long du maillon, Eq.35 est équivalente à :

$$\text{Eq.36} \quad \begin{cases} X_{Lm t_1} = X_{Lm t_0} + \frac{d \times \mu_{refLm}}{\log(10)(T_{ref} - T_{minLm})^2} (s^2 + (m - T_{minLm})^2) \\ X_{ff t_1} = X_{ff t_0} + \frac{d \times \mu_{reff}}{\log(10)(T_{ref} - T_{minff})^2} (s^2 + (m - T_{minff})^2) \end{cases}$$

L'Eq.34 est strictement équivalente à l'équation l'Eq.36 mais elle permet, par la connaissance d'un triplet de paramètres caractéristiques d'un maillon $\{d, m \text{ et } s\}$ d'intégrer la croissance bactérienne de *L. monocytogenes* sur ce maillon en un calcul.

Il est cependant nécessaire de considérer les cas où les conditions 1 à 3 ne sont pas remplies.

Ainsi, nous avons opté pour les approximations suivantes :

1. la condition 1 ($T(t) > \max(T_{minLm}, T_{minff})$) a été remplacée par :

$$\begin{cases} X_{Lm t_1} = X_{Lm t_0} \text{ si } m < T_{minLm} \\ X_{ff t_1} = X_{ff t_0} \text{ si } m < T_{minff} \end{cases}$$

Cette simplification ignore les fluctuations de températures sous T_{minLm} ou T_{minff} à l'intérieur d'un maillon;

2. la condition 2 (si $X_{Lm}(t_1) < MPD$ et si $X_{ff}(t_1) < MPD$) a été prise en compte en remplaçant Eq.36 par :

$$\begin{cases} X_{id^*} = X_{Lmt0} + \frac{d^* \times \mu_{refLm}}{\log(10)(T_{ref} - T_{minLm})^2} (s^2 + (m - T_{minLm})^2) \\ X_{ff_{t1}} = X_{ff0} + \frac{d^* \times \mu_{reff}}{\log(10)(T_{ref} - T_{minff})^2} (s^2 + (m - T_{minff})^2) \end{cases}$$

où d^* est égal à $\min(d, d_{Lmmax}, d_{ffmax})$ avec d_{Lmmax} (resp. d_{ffmax}) le temps nécessaire à *L. monocytogenes* (resp. la flore totale) pour atteindre la concentration MPD dans les conditions d , m et s du maillon. L'utilisation de cette simplification suppose que m et s sont constants durant l'étape; ce qui suppose une certaine homogénéité du maillon.

Ce modèle a été nommé « modèle DMS ».

Evaluation de l'exposition

Trois paramètres de sortie du modèle étaient exploités : X_{cons} , la densité en *L. monocytogenes* dans une plaque de saumon contaminée (\log_{10} ufc/g) ; E_{cont} , l'exposition par consommation d'une portion de saumon fumé issu d'une plaque contaminée (\log_{10} ufc/ration) et E_{serv} , l'exposition par consommation de saumon « tout venant » (\log_{10} ufc/ration), ce dernier paramètre prenant en compte la prévalence $Prev$.

2.2. Les données

Données de prévalence

Les données de prévalence ont été obtenues spécifiquement pour l'étude (Beaufort *et al.*, 2006). De février 2001 à janvier 2004, 1010 plaques de saumon fumé ont été collectées de 9 sites de production représentant 70% de la production nationale. La présence de *L. monocytogenes* a été recherchée par des méthodes classiques. Les résultats ont montré une prévalence globale de 0,10 (CI95 : [0,09 ; 0,12]), avec une forte variabilité inter sites de production (de 0,00 (CI95 : [0,00 ; 0,03]) à 0,41 (CI95 : [0,30 ; 0,51])).

La spécification des distributions de variabilité et d'incertitude à partir de ces données a été réalisée par une méthode adaptée de Miconnet *et al.* (2005a) Soit u ($u = 1, \dots, N_u$) la dimension d'incertitude et v ($v = 1, \dots, N_v$) la dimension de variabilité de la simulation de Monte-Carlo à deux dimensions. Un site de production i ($i = 1, \dots, 9$) est défini par n_i , le nombre d'échantillons testés, r_i , le nombre d'échantillons positifs et w_i , son poids dans la production nationale. L'incertitude liée à l'estimation de la prévalence par fluctuation d'échantillonnage pour un site donné P_i peut être spécifiée par l'utilisation d'une loi bêta | $P_i \sim \text{bêta}(r_i + 0,5 ; n_i - r_i + 0,5)$. Cette assertion est liée à l'utilisation d'une procédure bayésienne, avec une loi de distribution *a priori* de la contamination des plaques de saumon $\text{bêta}(0,5 ; 0,5)$ (Miconnet *et al.*, 2005a). Dans une dimension d'incertitude donnée u , la variabilité de la probabilité pour une plaque de saumon fumé d'être contaminée pour la part de la production nationale échantillonnée (soit $\sum w_i \times N_v$ données simulées) est modélisée en répétant les prévalences issues de la distribution bêta correspondante P_i chacune $N_v \times w_i$ fois.

La prévalence dans la production non échantillonnée est supposée suivre une distribution $P_u \sim \text{bêta}(a_u ; b_u)$. Pour une dimension d'incertitude donnée u , un jeu de 9 prévalences sont simulées à partir des P_i ($i = 1, \dots, 9$) distribution bêtas. Les paramètres a_u et b_u sont alors estimés par maximum de vraisemblance à partir des jeux simulés, pondérées selon leur poids respectif dans la production nationale. $(1 - \sum w_i) \times N_v$ valeurs issues de la distribution $\text{bêta}(a_u ; b_u)$ sont alors tirées au sort pour simuler la probabilité pour une plaque de saumon fumé d'être contaminée pour la part de la production nationale non échantillonnée.

Concentration en *L. monocytogenes* des plaques contaminées

Les données consistent en $N_c = 62$ concentrations en *L. monocytogenes* observées à partir d'échantillons positifs (selon un test de présence/absence) provenant des trois sites de production observés comme étant les plus contaminés dans l'étude de prévalence. Quarante-trois de ces données se sont avérées être sous le seuil de détection de la technique, évalué à $0,2 \text{ ufc g}^{-1}$ (méthode par filtration de membrane, Gnanou-Besse *et al.*, 2004).

On suppose que le niveau de contamination des plaques suit une loi normale, ici censurée à $0,2 \text{ ufc g}^{-1}$. Une loi log-normale $LN(m, s)$ est ajustée sur ces données, par une méthode de maximum de vraisemblance sur données censurées. N_u jeux « bootstrap » de N_c données sont échantillonnés de cette distribution. N_u distributions log-normales $LN(m_u, s_u)$ sont alors ajustées par maximum de vraisemblance sur chacun de ces N_u jeux.

N_v valeurs sont finalement échantillonnées de chacune de ces distributions $LN(m_u, s_u)$ dans une dimension d'incertitude u , avec toutefois un seuil de $0,01 \text{ ufc/g}$ (correspondant à $<1 \text{ ufc/100g}$ de saumon fume, *i.e.* l'absence de bactérie dans 100 g de saumon).

Paramètres de croissance de *L. monocytogenes* et de la flore totale

Les données issues de l'article de spécification par inférence bayésienne sur les paramètres de croissance de *L. monocytogenes* et de la flore totale dans le saumon fumé (Delignette-Muller *et al.*, 2006) présenté dans le paragraphe 5.2 ont été incorporées dans le modèle (Tableau XVII).

Profils thermiques (Afchain *et al.*, 2005)

L'objectif était de modéliser des profils temps-températures réalistes pour le processus considéré, c'est-à-dire les conditions de température subies par les plaques de saumons fumées de la sortie de l'usine à la table du consommateur. Une des originalités de ce projet est la collecte spécifique de profils thermiques subis par les plaques de saumon fumé au cours du processus considéré. La première étape a consisté à référencer les différents circuits logistiques potentiellement subis par une plaque de saumon.

Un circuit logistique, appelé « type de profil », était caractérisé par une suite de maillons :

- maillon E, pour entrepôt ;
- maillon C, pour chambre froide ;
- maillon M, pour meuble de vente ;
- maillon T, pour transport réfrigéré, correspondant aux différents transports entre les différentes étapes (par exemple Usine – Magasin, Usine – Entrepôt, Usine – Plateforme) ;
- maillon P, pour plateforme, correspondant à la plateforme de chargement/déchargement des saumons à la sortie usine, puis avant les étapes magasin ;
- maillon V, pour le transport dans les véhicules domestiques ;
- maillon R, pour réfrigérateur ;
- maillon D, pour conservation domestique hors réfrigérateur.

Un profil pouvait donc être caractérisé comme « PTCMVRD » ou « TPTPTPTCMVRD » pour le plus long exemple. Les fréquences des différents profils subis ont été estimées (Tableau XVIII).

Chapitre IV : Exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé

Tableau XVIII : Modélisation des profils temps-température (Afchain *et al.*, 2005) : proportion des différentes chaînes logistiques.

Maillons magasin et consommateur	Maillons transport				
	T	TPT	TETPT	TPTPT	TPTPTPT
MV	0,002	0,028	0,026	0,014	0,0045
CMV	0,00004	0,0006	0,0006	0,0003	0,0001
MVD	0,001	0,01	0,009	0,004	0,002
MVR	0,012	0,198	0,181	0,091	0,037
CMVR	0,003	0,051	0,047	0,023	0,01
MVRD	0,006	0,085	0,078	0,039	0,016
CMVRD	0,0005	0,008	0,007	0,003	0,001

Exemple : le profil « TPTMVR » est présent dans 19,8% des chaînes logistiques simulées.

Des capteurs-enregistreurs thermiques ont été placés sur des plaques de saumon fumés à la sortie des usines, puis suivis tout au long du processus jusqu'aux meubles de vente des détaillants. Chez les détaillants, des enquêteurs proposaient à des acheteurs de saumon de conserver les plaques de saumon comme à leur habitude, puis, au moment de jeter l'emballage, de renvoyer le capteur au correspondant du projet du Cemagref²¹. Connaissant le type de profil suivi, l'heure des passages des différentes étapes était reconstruite à partir des profils observés. La Figure 18 propose un exemple de profils reconstruits (hors maillon « M », artificiellement court).

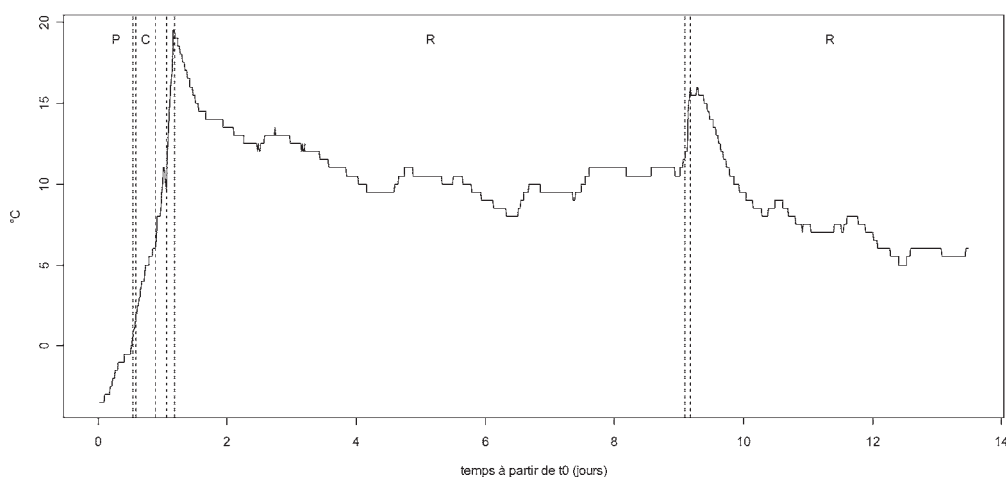


Figure 18 : Exemple de profil thermique enregistré.

Il s'agit d'un profil « PTCMVRDR ». Les traits pointillés verticaux correspondent à des changements de maillons. On note une augmentation de la température en début de profil, avec un pic en fin de maillon « V » (transport dans le véhicule de l'acheteur). La mise en réfrigérateur du produit permet de baisser la température du produit jusqu'à environ 10°C. Vers le 9^e jour, un passage hors du réfrigérateur fait remonter la température du produit jusqu'à 15°C, puis un second passage en réfrigérateur permet de ramener la température à 10°C jusqu'à consommation.

Dans une seconde étape, il était nécessaire de fournir des distributions pour les paramètres d , m et s de chacun des types de maillons. Pour cela, les maillons des différents profils observés ont été rassemblés, et les distributions ont été ajustées à partir de ces données. Il a été observé

²¹ L'étape « meuble de vente » n'était pas enregistrée en totalité pour des raisons pratiques, car ceci aurait nécessité de placer les enquêteurs devant les meubles de vente pendant des périodes de plusieurs jours... Les données de l'étape « meuble de vente » proviennent d'un autre projet.

que certains maillons se déroulaient à température constante ($s = 0$). Ces maillons ont été considérés à part. Pour chaque maillon, d était supposé suivre une distribution exponentielle, m une distribution normale et s était soit nul, soit suivait une distribution gamma (Afchain *et al.*, 2005)(Tableau XIX) ; les paramètres de ces distributions étaient obtenus par maximisation de la vraisemblance à partir des données observées. Toutes les distribution pour m étaient tronquées à gauche à -5°C – température approximative de congélation du saumon, ce qui n’est pas être observé durant le process – et à gauche à 25°C , car le modèle secondaire (Eq.32) n’est valide que sous $T_{ref} = 25^{\circ}\text{C}$. Cette occurrence était quasiment impossible avec les lois de distribution non-tronquées utilisées.

Enfin, les coefficients de corrélation des rangs de Spearman intra maillon entre les paramètres d , m et s ont été évalués à partir des profils mesurés (Tableau XX).

Tableau XIX : Modélisation des profils temps-température dans le modèle de base (tel que décrit dans (Afchain *et al.*, 2005)). Modélisation des distributions de variabilité de d , m et s .

Maillon	d (j)	proportion de maillons avec $s = 0$	m (pour les maillons avec $s = 0$)	m (pour les maillons avec $s \neq 0$)	s
T	<i>Expo</i> (0,076)	0,54	$N(2,7 ; 3,4)$	$N(3,6 ; 2,7)$	gamma(0,6 ; 2,3)
E	<i>DE</i> ({0,5 ; 0,5} ; {0,7 ; 0,71})	0,00	-	$N(3,6 ; 2,8)$	gamma (2,2 ; 0,7)
P	<i>Expo</i> (0,49)	0,16	$N(0,1 ; 3,8)$	$N(2,9 ; 2,9)$	gamma (0,5 ; 0,8)
C	<i>Expo</i> (0,96)	0,29	$N(2,7 ; 1,5)$	$N(4,4 ; 1,9)$	gamma (0,7 ; 1,1)
M	<i>Expo</i> (4,6)	0,00	-	$N(5,6 ; 2,2)$	gamma (1,0 ; 0,9)
V	<i>Expo</i> (0,046)	0,12	$N(10,4 ; 1,5)$	$N(13,0 ; 3,6)$	gamma (0,6 ; 0,1)
D	<i>Expo</i> (0,3)	0,15	$N(13,2 ; 5,2)$	$N(17,9 ; 5,1)$	gamma (0,6 ; 0,1)
R	<i>Expo</i> (4,8)	0,00	-	$N(7,0 ; 3,0)$	gamma (1,4 ; 0,6)

Pour certaines étapes, deux types de profils sont considérés : un pour les profils isothermiques ($s = 0$) et un pour les profils à température variable ($s \neq 0$). *Expo*(a) distribution exponentielle de paramètre $1/a$; $N(a ; b)$, distribution normale de moyenne a et d’écart-type b ; *gamma*($a ; b$) distribution gamma de paramètre de forme a et de paramètre d’échelle b ; *DE*({ $a_1 ; \dots ; a_n$ } ; { $b_1 ; \dots ; b_n$ }) distribution empirique de paramètres de probabilité { $a_1 ; \dots ; a_n$ } pour les valeurs { $b_1 ; \dots ; b_n$ }.

Tableau XX : Modélisation des profils temps-température dans le modèle de base (tel que décrit dans (Afchain *et al.*, 2005)). Corrélation des rangs de Spearman intra stage, entre d et m , d et s , m et s

Maillons	$Cor(d - m)$	$Cor(d - s)$	$Cor(m - s)$
T	0,03	0,42	0,21
E	0,15	0,40	0,63
P	0,30	0,67	0,10
C	-0,22	0,40	-0,08
M	-0,16	0,13	0,36
V	0,14	0,30	0,68
D	0,30	-0,08	0,00
R	-0,12	-0,03	-0,30

A partir de l’ensemble de ces données, la reconstruction des profils se déroulait ainsi :

- 1) Un pool de vecteurs { d , m , s } était construit pour chacun des huit types de maillons (« T », « E », « P », « C », « M », « V », « R » et « D »).
 - a. Des valeurs d , m et s étaient tirés au sort de leur distribution respective (Tableau XIX) ;
 - b. La corrélation intra-maillon étaient reconstruite par la méthode d’Iman et Conover (1982) en utilisant pour corrélation des rangs cibles les coefficients de corrélation intra-maillon observés (Tableau XX).

- 2) N_v types de profils ont été tirés au sort (exemple : “TPTMVD”, “TPTMVRD”, *etc.*) proportionnellement à leur fréquence observée dans la distribution des chaînes logistiques françaises (Tableau XVIII) ;
- 3) Des vecteurs $\{d, m, s\}$ étaient tirés au sort à partir des pools de vecteurs $\{d, m, s\}$ construits dans l'étape 1. Par exemple, pour un type de profil « PTCMVRD », un vecteur $\{d, m, s\}$ était tiré au sort du pool de vecteurs $\{d, m, s\}$ du maillon « P », puis un vecteur $\{d, m, s\}$ était tiré au sort du pool de vecteurs $\{d, m, s\}$ du maillon « T », *etc.*

Le dernier raffinement consistait à tronquer les profils pour respecter les dates limites de consommation (*DLC*) des saumons fumés. Dans l'algorithme, si la *DLC* était dépassée avant la vente (*i.e.* avant le maillon « V »), le profil complet était recalculé (on considérait que le produit était jeté par le vendeur). Il a été considéré que le consommateur respectait une Date Maximale de Consommation (*DMC*) selon une distribution triangulaire (Vose, 2000) de paramètre minimal et plus probable la *DLC*, et de paramètre maximal la $DLC + 5j$,

$$DMC \sim \text{Triang}(DLC, DLC, DLC + 5)$$

Si la date de consommation simulée était supérieure à la *DMC*, on ramenait cette date de consommation à la valeur *DMC*.

Notons que, dans cette procédure, les corrélations inter-maillons ne sont pas prises en compte.

Données de consommation

Les données provenaient de l'enquête INCA (Volatier, 2000). A partir de la base de données, 111 données représentatives de la consommation de saumon fumé des français ont été extraites. Les tailles de portions étaient estimées dans cette enquête à l'aide d'un livre de photos, ce qui aboutissait à des valeurs arrondies (Tableau XXI). Il convient de noter ici le faible nombre de données disponibles dans ces enquêtes de consommation, lorsque l'on ne s'intéresse qu'à un seul aliment. A partir de ces données, N_u jeux de données « bootstrap » ont été réalisés pour simuler l'incertitude sur ces données. Puis, dans une dimension d'incertitude u , N_v données de consommation étaient tirées au sort empiriquement du jeu bootstrap de la dimension u pour simuler la variabilité.

Tableau XXI : données de consommation de saumon fumé en France d'après la base de données INCA (Volatier, 2000)

Taille des portions (g)	10	12	19	20	30	34	40	50	60	67,5	80	100	250
Nombre d'observations	11	1	1	29	12	1	41	4	4	1	4	1	1

2.3. Intégration du modèle

Principe

L'intégration du modèle de base a été réalisée par simulation de Monte-Carlo à deux dimensions, comme présenté dans le Chapitre II.

Afin de tester le modèle, plusieurs types de simulation ont été réalisés :

Validation du modèle DMS

La principale limite possible du modèle, vis-à-vis des modèles classiques de microbiologie prévisionnelle, était l'utilisation du modèle DMS d'intégration de la croissance en quelques étapes, plutôt que par intégration sur de très courts pas de temps. Ce modèle utilise quelques simplifications, liées au remplacement des conditions 1 à 3 (*cf.* page 84). Ce modèle a été validé par comparaison graphique des valeurs de X_{cons} simulées en utilisant des profils temps-températures observés (intégration par pas de temps de 15 minutes) à celles obtenues en utilisant le modèle DMS (intégration par maillons) appliqué à ces mêmes profils, après calcul des valeurs d , m et s de chacun des maillons à partir des données observées.

Validation de la paramétrisation des profils thermiques

La paramétrisation des profils thermiques (utilisation des lois de distribution pour les paramètres d , m et s) a été globalement validée par comparaison graphique des sorties X_{cons} obtenues en utilisant les profils observés (intégration par pas de temps de 15 minutes) et par le modèle DMS utilisant les mêmes profils simulés par utilisation des lois paramétriques (Tableau XIX) et reconstruction des coefficients de corrélation intra maillon (Tableau XX). Notons que cette procédure permettait également de tester l'influence de la corrélation inter-maillons, présente naturellement dans les données observées, et non appréhendée dans les profils thermiques simulés.

Evaluation des paramètres d'influence du modèle

Plusieurs méthodes d'évaluation de l'influence des paramètres d'entrée du modèle sur le(s) paramètre(s) de sortie ont été décrits dans la littérature. Outre les méthodes d'identification graphique (« *scatter plot* »), citons notamment l'analyse par coefficients de corrélation (de Pearson, de Kendall ou de Spearman), l'analyse par seuil (« *threshold analysis* » ou « *nominal range sensitivity method* »), l'analyse par différence de rapport de cote (« *difference in Log-Odds-Ratio analysis* »), l'analyse « *break-even* », la technique de différentiation automatique (« *automatic differentiation technique* »), l'analyse par régression linéaire ou non-linéaire, l'analyse par analyses de variance (« *ANOVA* »), la méthode par surfaces de réponse (« *Response surface method* »), le test d'amplitude de la sensibilité de Fourier (Méthode FAST, « *Fourier amplitude sensitivity test* »), les arbres de régression (notamment par méthode « *CART* ») ou encore l'index d'information mutuelle (« *Mutual Information Index* ») (Cullen et Frey, 1999; Frey et Patil, 2002 ; Frey *et al.*, 2004)). L'analyse comparée de ces différentes méthodes (Frey et Patil, 2002; Frey *et al.*, 2004) et la disponibilité des procédures informatiques nous a amené au choix de deux méthodes, à titre de comparaison : l'analyse par coefficients de corrélation des rangs et l'analyse par ANOVA.

Analyse de la sensibilité par les coefficients de corrélation des rangs

La première méthode consiste à étudier indépendamment les coefficients de corrélation entre les différents paramètres d'entrée et le paramètre de sortie choisi. L'utilisation du coefficient de corrélation des rangs de Spearman (CCRS) permet de s'affranchir de l'hypothèse du caractère binormal du couple considéré. L'inconvénient principal de cette méthode est l'impossibilité de prise en compte d'une éventuelle interaction entre les paramètres et la présence possible de biais de confusion lié à l'indépendance de l'analyse des différents paramètres d'entrée. Le paramètre de sortie considéré était E_{serv} , à savoir la contamination par consommation de plaques de saumons contaminées. Les paramètres d'entrée étudiés étaient les paramètres $X_{ol,m}$, X_{off} , $\mu_{refl,m}$, $T_{minl,m}$, μ_{reff} , T_{minff} , MPD , DLC , DMC et $Cons$.

Afin de mieux étudier l'influence des différents profils, les calculs ont été réalisés en rassemblant les différents maillons en trois étapes :

- une étape « logistique » : de t_0 au magasin, *i.e.* maillon E, maillon(s) T et maillon(s) P ;
- une étape « magasin » : *i.e.* maillon C et maillon M ;
- une étape « consommateur », *i.e.* maillon V, maillon R, et maillon D.

L'étude sur ces étapes est plus juste que celle qui serait réalisée sur les différents maillons. En effet, certains maillons ne sont pas présents dans certains profils (et donc dans certaines simulations), et l'observation d'un CCRS élevé ou faible pour ce maillon aurait pu être lié à un type de profil particulier, et non pas en l'influence du maillon proprement dit. Pour chacune de ces étapes, trois statistiques étaient calculées et leur influence sur le paramètre de sortie étudié : la durée totale de l'étape, la température moyenne lors de cette étape et l'écart-type de la température lors de cette étape.

Un raffinement a été introduit par la spécification d'un intervalle de confiance de ces CCRS : à chaque dimension d'incertitude était ainsi calculé un CCRS entre les N_v couples de

paramètres d'entrée et un paramètre de sortie donné, aboutissant à N_u CCRS par couple. On réalisait dans chacune des N_u dimension d'incertitude un test pour évaluer si cette statistique était significativement différente ($p < 0,01$) de 0 (statistique ρ de Spearman, (Hollander et Wolfe, 1973)). Enfin, les CCRS des différents paramètres d'entrée étaient ordonnés selon leur valeur absolue. La médiane des N_u CCRS calculés étaient alors proposée comme estimation du CCRS ; les 5^{ième} et 95^{ième} percentiles comme l'intervalle de confiance de ce paramètre. La fréquence d'obtention d'un CCRS significatif parmi les N_u CCRS calculés a été également utilisée comme critère d'évaluation de l'influence du paramètre. Enfin, la médiane des rangs et les rangs minimum et maximum sont rapportés pour évaluer l'influence relative des différents paramètres d'entrée.

Analyse de la sensibilité par ANOVA

Cette méthode consiste à réaliser une analyse de variance utilisant comme variable expliquée le paramètre de sortie d'intérêt, et comme variables explicatives les différents paramètres d'entrée, après discrétisation. Cette méthode est présentée comme ayant pour avantage de pouvoir prendre en compte les différentes interactions entre les paramètres et de ne pas être dépendante du modèle (non linéarité, non monotonie) (Frey et Burmaster, 1999 ; Mokhtari et Frey, 2005).

Le modèle retenu est un modèle incluant l'ensemble des paramètres étudiés dans l'analyse de sensibilité par CCRS et les interactions entre la durée et la température moyenne des différentes étapes. La catégorisation des variables d'entrée en 11 classes a été réalisée pour toutes les variables exceptées *Conso* et *DLC* en prenant pour bornes la valeur minimale, le 10^{ième}, 20^{ième}, ..., 90^{ième} percentiles et la valeur maximale. Pour *Conso*, seules deux catégories, limitées par la médiane ont été calculées, en raison du faible nombre de valeurs prises par ce paramètre. Pour *DLC*, seules deux valeurs sont possibles (21 et 28 jours) : ces deux classes ont été considérées.

La statistique retenue pour évaluer l'influence d'un paramètre est la valeur p du test F obtenu dans le cadre de l'ANOVA.

A chaque dimension d'incertitude était ainsi réalisé une ANOVA aboutissant à N_u valeurs p par couple paramètre d'entrée – paramètre de sortie. Dans une dimension d'incertitude, les valeurs p des différents paramètres d'entrée ont été ordonnées. La médiane des N_u valeurs p calculées étaient alors proposée comme estimation de la valeur p ; les 5^{ième} et 95^{ième} percentiles comme l'intervalle de confiance de cette statistique. La fréquence d'obtention d'une valeur p significative ($p < 0,01$) parmi les N_u valeurs p calculées a été également utilisée comme critère d'influence du paramètre. Enfin, la médiane des rangs et les rangs minimum et maximum sont rapportés pour évaluer l'influence relative des différents paramètres d'entrée.

Ces analyses de sensibilité ont été réalisées sur une simulation de dimension $1\ 001 \times 1\ 001$.

Atténuation de l'exposition

L'influence de la modification de quelques paramètres susceptibles d'influencer l'exposition a été explorée, ces modifications étant potentiellement réalisables par des mesures de gestion des risques. Ainsi, ont été testées :

- l'influence d'une diminution de la DLC à 15 jours (contre 28 jours dans 99% des cas et 21 jours dans 1% des cas pour le modèle de base) dans un modèle alternatif #1 ;
- l'influence d'une diminution de la température moyenne des meubles de ventes, distribués dans le modèle de base selon une $N(5,6 ; 2,2)$ et fixée dans un modèle alternatif #2 à exactement 4°C^{22} ;

²² La variabilité temporelle autour de cette valeur moyenne a été conservée.

- l'influence d'une diminution de la température moyenne des réfrigérateurs domestiques, distribués dans le modèle de base selon une $N(7,0 ; 3,0)$ et fixée dans un modèle alternatif #3 à exactement 4°C.

Réalisation pratique

Le modèle a été entièrement écrit en R (© The R Core Team, (Ihaka et Gentleman, 1996; R Development Core Team, 2004)). Il mérite d'être souligné que la fonction d'intégration de la croissance proprement dite peut être écrite en une dizaine de lignes de code seulement.

Une simulation de dimension $N_u = 10\ 001^{23}$ et $N_v = 10\ 001$ avec toutes les sorties graphiques de l'article ne dure que quelques heures (moins de 5) sur un ordinateur Intel® Celeron® 1,50 GHz doté de 512 MB/Mo de mémoire vive. Ce même modèle de dimension $N_u = 100\ 001$ et $N_v = 100\ 001$ a nécessité plus de 3 mois de calculs sur un ordinateur de caractéristiques 3,2 GHz biprocesseur avec 4Gb de mémoire vive. Cette observation semble montrer les limites du logiciel R en terme de calculs sur des matrices de grandes dimensions. Toutefois, la comparaison des paramètres de sortie des deux simulations a permis de vérifier que la convergence du modèle était atteinte avec les 10 001^{èmes} premières simulations, nous permettant de nous satisfaire des simulations $N_u = 10\ 001$ et $N_v = 10\ 001$.

2.4. Résultats

Modèle de base et modèles d'atténuation de l'exposition

Les résultats du modèle de base sont proposés dans la Figure 19 et dans le Tableau XXII. La contamination moyenne au moment de la consommation par gramme de saumon fumé contaminé (X_{cons}) est estimée à 1,38 $\log_{10}(\text{ufc/g})$. La simulation à deux dimensions permet de proposer un intervalle de confiance à 95% de [0,722; 2,15] $\log_{10}(\text{ufc/g})$. L'exposition moyenne par consommation de saumon fumé contaminé (E_{cont}) est estimée à 2,9 $\log_{10}(\text{ufc/g})$ (CI95: [2,2; 3,6] $\log_{10}(\text{ufc/g})$). L'exposition par consommation de saumon fumé « tout-venant » (contaminé ou non) est bien sûr plus faible (moyenne estimée à 0,33 $\log_{10}(\text{ufc/g})$ pour un CI95 de [0,22; 0,48]) ; la prévalence est en effet de l'ordre de 10%, ce qui implique un risque nul de contamination dans environ 90% des actes de consommation.

Tableau XXII : Statistiques des sorties du modèle de base

X_{cons} , concentration en *L. monocytogenes* au moment de la consommation par saumon contaminé, E_{cont} exposition à *L. monocytogenes* par la consommation de saumon fumé contaminé, E_{serv} exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé.

	Moyenne	Percentiles			
		50	75	95	99
X_{cons} (\log_{10} ufc/g)	1,4 [0,72; 2,2]	1,0 [0,43; 1,7]	2,4 [1,5; 3,5]	5,2 [3,7; 6,8]	7,2 [5,8; 8,1]
E_{cont} (\log_{10} ufc/ration de saumon contaminé)	2,9[2,2; 3,6]	2,5[1,9; 3,2]	3,9[3,0; 5,0]	6,7[5,2; 8,2]	8,7 [7,3; 9,7]
E_{serv} (\log_{10} ufc/ration de saumon fumé)	0,33 [0,22; 0,48]	0,0 [0,0 ; 0,0]	0,0 [0,0 ; 0,0]	2,8 [1,9; 3,9]	5,7 [4,4 ; 7,5]

On obtient donc une exposition moyenne assez faible, mais avec des possibilités de très fortes contaminations dans un nombre non négligeable de situations. Ainsi, dans 1% des actes de consommation de saumon fumé contaminé, l'exposition s'élève à $10^{8,7}$ [$10^{7,3}$; $10^{9,7}$] ufc, et dans 1% des actes de consommation de saumon fumé « tout venant », l'exposition s'élève à $10^{5,7}$ [$10^{4,4}$; $10^{7,5}$] ufc.

²³ Une valeur de 10 001 a été choisie car chacun des percentiles $P=(0,01 ; 0,02 ; \dots ; 2,50 ; \dots ; 97,50 ; \dots, 99,99)$ des distributions empiriques sont alors des valeurs simulées, et donc possibles selon notre modèle (pas d'extrapolation linéaire).

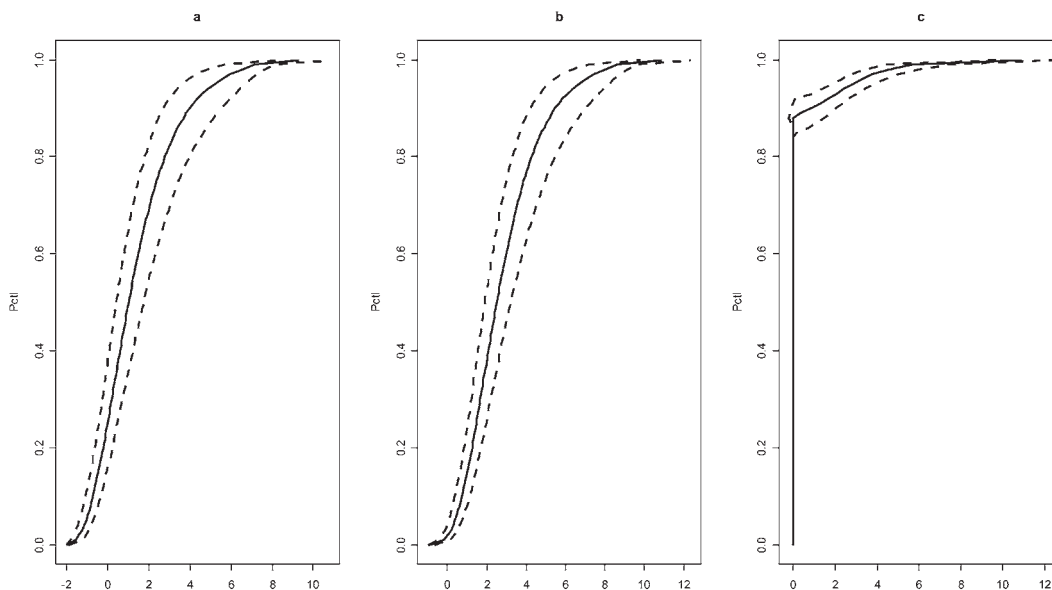


Figure 19. (a) X_{cons} , densité de population de *L. monocytogenes* dans une plaque de saumon fumé contaminé au moment de la consommation ($\log_{10}(\text{ufc} / \text{g})$); (b) E_{cons} , exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé contaminé ($\log_{10}(\text{ufc} / \text{ration})$); (c) E_{serv} , exposition à *L. monocytogenes* par ration de saumon fumé ($\log_{10}(\text{ufc} / \text{ration})$).

Influence des paramètres d'entrée

La variable X_{cons} a été préférée à X_{serv} pour cette étude, car l'influence des paramètres influençant la contamination finale en *L. monocytogenes* aurait été brouillée par la présence de nombreuses données nulles liées aux plaques de saumon non contaminées.

Analyse par coefficients de corrélations des rangs

Le Tableau XXIII présente les différentes statistiques obtenues sur les $N_u = 1\ 001$ CCRS. La Figure 20 présente le graphique en tornade (« *tornado chart* ») des CCRS des différents paramètres d'entrée avec le paramètre de sortie X_{cons} . On constate que la durée de l'étape « consommateur » est le facteur le plus influent par cette analyse, suivi de la quantité de *L. monocytogenes* à t_0 , la température minimale de croissance de *L. monocytogenes* (corrélation négative) la durée et la température moyenne de l'étape « Magasin ». La Date limite de consommation, indiquée sur l'emballage ou appliquée par le consommateur a une influence qui semble très faible sur la concentration finale en *L. monocytogenes*: rappelons toutefois que cette DLC ne varie que peu dans notre modèle, et que son influence est donc difficile à mesurer par cette statistique. Enfin, on note que les taux de croissance maximum de *L. monocytogenes* comme de la flore totale n'ont que peu d'influence.

Analyse par ANOVA

Le Tableau XXIV présente les différentes statistiques obtenues sur les $N_u = 1\ 001$ ANOVA réalisées. On constate pour cette analyse que la durée de l'étape « consommateur » est également le facteur le plus influent par cette analyse, suivi également de la quantité de *L. monocytogenes* à t_0 . Les dates limites de consommation, indiquée sur l'emballage ou appliquée par le consommateur, ne semblent pas non plus avoir d'influence sur la concentration finale en *L. monocytogenes*. Enfin, on note également que les taux de croissance maximum de *L. monocytogenes* comme de la flore totale n'ont que peu

d'influence. La principale différence entre les deux analyses (Tableau XXV) concerne T_{minff} qui n'est pas identifié comme un paramètre majeur par les CCRS, et qui prend la 5^{ième} place des paramètres les plus influents par l'ANOVA.

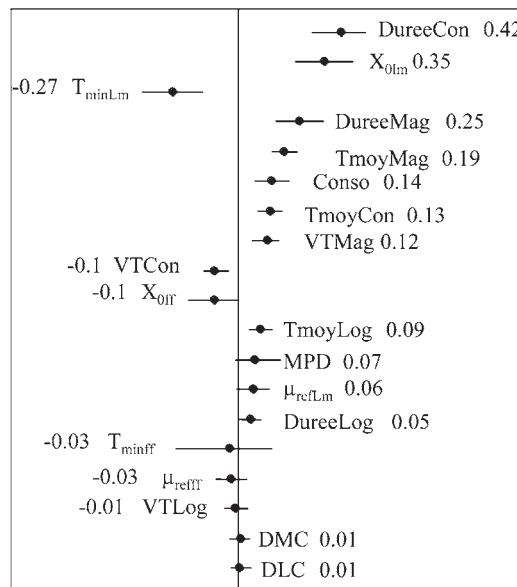


Figure 20 : Figure tornade (« *tornado chart* ») du modèle pour la variable X_{cons} . Chaque point correspond à l'estimation du CCRS, les ailettes correspondant à l'intervalle de confiance à 95%. Légende des paramètres : Duree• : durée de l'étape considérée, Tmoy• : température moyenne de l'étape considérée, VT• : variance de la température au cours de l'étape considéré, •Log : étapes logistiques du processus (*ie.* avant arrivée dans le magasin), •Con : étapes du processus chez le consommateur, •Mag : étapes du processus dans le magasin.

Validation du modèle et atténuation de l'exposition

La validation graphique du modèle DMS a été convaincante (Figure 21) : les distributions empiriques de la médiane des paramètres X_{cons} obtenues par intégration par pas de temps de 15 minutes sur des données de profils thermiques brutes ou par intégration par le modèle DMS sont globalement identiques.

Cette validation a en outre permis de mesurer l'influence de la corrélation des paramètres DMS inter maillons. En effet, ces corrélations ne sont pas prises en compte dans notre modèle de simulation, alors qu'elles sont naturellement présentes dans les données brutes. La faible différence observée entre les résultats de la simulation prenant en compte une modélisation DMS *vs* les résultats utilisant des données brutes laissent présager une faible influence des corrélations inter maillons.

Concernant les stratégies d'atténuation testées, le résultat le plus surprenant est la relative faible influence de la diminution de la DLC de 21-28 jours à 15 jours exactement (Tableau XXVI). On confirme ainsi les résultats des analyses de sensibilité par coefficients de corrélation de Spearman ou par ANOVA.

Tableau XXIII : Analyse de sensibilité du modèle aux paramètres d'entrée. Résultats par la méthode des coefficients de corrélations des rangs de Spearman (CCRS) (ordre de tri : valeur absolue des moyennes des CCRS dans l'ordre décroissant).

	Moyenne des CCRS	Médiane des CCRS	Intervalle de confiance des CCRS	Rang moyen	Etendue des rangs	Fréquence ^{a)}
Durée de l'étape « Consommateur »	0,42	0,42	[0,30 ; 0,52]	1,3	[1 ; 5]	100
$X_{0,ms}$ contamination par <i>L. monocytogenes</i> à t_0	0,35	0,35	[0,24 ; 0,47]	2,1	[1 ; 6]	100
$T_{min,ms}$ température minimale de croissance de <i>L. monocytogenes</i>	-0,27	-0,27	[-0,39 ; -0,15]	3,4	[1 ; 11]	100
Durée de l'étape « Magasin »	0,25	0,25	[0,15 ; 0,34]	3,7	[2 ; 10]	100
Température moyenne de l'étape « Magasin »	0,19	0,19	[0,14 ; 0,24]	5,1	[3 ; 10]	100
Conso, Consommation	0,14	0,14	[0,07 ; 0,20]	7,6	[3 ; 17]	94
Température moyenne de l'étape « Consommateur »	0,13	0,13	[0,08 ; 0,18]	8,0	[4 ; 16]	97
Ecart-type de la température de l'étape « Magasin »	0,12	0,12	[0,06 ; 0,16]	8,9	[5 ; 17]	90
$X_{0,F}$ contamination par la flore totale à t_0	-0,10	-0,10	[-0,21 ; -0,01]	10,2	[2 ; 19]	62
Ecart-type de la température de l'étape « Consommateur »	-0,10	-0,10	[-0,14 ; -0,04]	10,4	[5 ; 19]	72
Température moyenne de l'étape : « Logistique »	0,09	0,09	[0,04 ; 0,14]	10,7	[5 ; 19]	67
MPD , concentration bactérienne maximale	0,07	0,07	[-0,01 ; 0,17]	12,4	[4 ; 19]	37
$H_{ref,ms}$ taux de croissance à la température de référence pour <i>L. monocytogenes</i>	0,06	0,06	[-0,01 ; 0,13]	13,4	[6 ; 19]	26
Durée de l'étape « Logistique »	0,05	0,05	[0,00 ; 0,09]	14,4	[9 ; 19]	7
$T_{min,F}$ température minimale de croissance de la flore totale	-0,04	-0,03	[-0,26 ; 0,14]	11,8	[1 ; 19]	44
$H_{ref,F}$ taux de croissance à la température de référence pour la flore totale	-0,03	-0,03	[-0,10 ; 0,03]	15,4	[7 ; 19]	6
Ecart-type de la température de l'étape « Logistique »	-0,01	-0,01	[-0,06 ; 0,04]	16,9	[11 ; 19]	0
DMC , date limite de consommation telle qu'appliquée par le consommateur	0,01	0,01	[-0,03 ; 0,05]	17,2	[11 ; 19]	0
DLC , date limite de consommation telle qu'écrite sur le produit	0,01	0,01	[-0,03 ; 0,05]	17,3	[11 ; 19]	0

^{a)} : fréquence (%) à laquelle le coefficient de corrélation des rangs de Spearman est significatif parmi les N_i simulations d'incertitude ($p < 0,01$)

Tableau XXIV : Analyse de sensibilité du modèle aux paramètres d'entrée. Résultats par la méthode ANOVA (ordre de tri : moyennes des p dans l'ordre croissant).

	p : Valeur moyenne	Médiane	Intervalle de confiance	Fréquence ^(a)	Rang Moyen	Etendue des rangs
Durée de l'étape : « Consommateur »	$1.3 \cdot 10^{-29}$	$2.6 \cdot 10^{-92}$	$[1,4 \cdot 10^{-153}; 2,3 \cdot 10^{-51}]$	100	1.3	[1; 5]
$X_{0,obs}$ contamination par $L. monocytogenes$ à t_0	$9.2 \cdot 10^{-20}$	$1.5 \cdot 10^{-62}$	$[3,0 \cdot 10^{-104}; 2,1 \cdot 10^{-31}]$	100	3.0	[1; 8]
Température moyenne de l'étape : « Consommateur »	$1.3 \cdot 10^{-19}$	$8,2 \cdot 10^{-50}$	$[1,2 \cdot 10^{-85}; 6,2 \cdot 10^{-28}]$	100	3.7	[2; 8]
Température moyenne de l'étape : « Magasin »	$1.6 \cdot 10^{-13}$	$8,0 \cdot 10^{-32}$	$[6,0 \cdot 10^{-55}; 4,1 \cdot 10^{-17}]$	100	6.2	[3; 9]
Durée de l'étape : « Magasin »	$2.1 \cdot 10^{-08}$	$2,1 \cdot 10^{-39}$	$[1,8 \cdot 10^{-81}; 1,7 \cdot 10^{-15}]$	100	5.1	[2; 10]
$T_{min,Lms}$ température minimale de croissance de $L. monocytogenes$	$1.0 \cdot 10^{-07}$	$1,7 \cdot 10^{-47}$	$[9,9 \cdot 10^{-93}; 3,3 \cdot 10^{-19}]$	100	4.2	[1; 11]
$T_{min,obs}$ température minimale de croissance de la flore totale	$8.7 \cdot 10^{-06}$	$3,8 \cdot 10^{-41}$	$[2,3 \cdot 10^{-87}; 1,2 \cdot 10^{-09}]$	100	4.8	[1; 14]
$X_{0,if}$ contamination par la flore totale à t_0	0.002	$1,1 \cdot 10^{-12}$	$[5,1 \cdot 10^{-32}; 0,003]$	99	8.7	[2; 18]
Conso, Consommation	0.003	$4,1 \cdot 10^{-07}$	$[5,2 \cdot 10^{-15}; 0,027]$	96	10.4	[7; 18]
Interaction Durée Magasin : Température Magasin	0.007	$2,4 \cdot 10^{-06}$	$[4,1 \cdot 10^{-16}; 0,064]$	92		
Interaction Durée Consommateur : Température Consommateur	0.007	$1,6 \cdot 10^{-06}$	$[2,5 \cdot 10^{-18}; 0,069]$	91		
MPD, concentration bactérienne maximale	0.008	$4,4 \cdot 10^{-07}$	$[2,0 \cdot 10^{-21}; 0,072]$	93	10.4	[4; 19]
$A_{4,eff,Lms}$ taux de croissance à la température de référence pour $L. monocytogenes$	0.015	$4,9 \cdot 10^{-06}$	$[6,3 \cdot 10^{-17}; 0,15]$	86	11.0	[7; 19]
Durée de l'étape « Logistique »	0.021	$1,3 \cdot 10^{-04}$	$[3,4 \cdot 10^{-09}; 0,21]$	77	12.4	[7; 19]
$A_{4,eff}$ taux de croissance à la température de référence pour la flore totale	0.027	$5,6 \cdot 10^{-04}$	$[1,2 \cdot 10^{-13}; 0,31]$	79	11.9	[7; 19]
Température moyenne de l'étape : « Logistique »	0.044	0.0035	$[1,1 \cdot 10^{-07}; 0,39]$	62	13.3	[8; 19]
Interaction Durée Logistique : Température Logistique	0.200	0.10	$[3,4 \cdot 10^{-04}; 0,81]$	15		
Ecart-type de la température de l'étape : « Magasin »	0.240	0.13	$[3,8 \cdot 10^{-04}; 0,90]$	15	15.9	[9; 19]
Ecart-type de la température de l'étape : « Consommateur »	0.260	0.16	[0,001; 0,88]	10	16.1	[10; 19]
Ecart-type de la température de l'étape : « Logistique »	0.380	0.33	[0,006; 0,94]	4	17.0	[11; 19]
DLC, date limite de consommation telle qu'écrite sur le produit	0.440	0.41	[0,007; 0,98]	3	17.2	[11; 19]
DMC, date limite de consommation telle qu'appliquée par le consommateur	0.500	0.50	[0,022; 0,98]	1	17.6	[11; 19]

^a : fréquence (%) à laquelle le p est $\leq 0,01$ parmi les N_i simulations d'incertitude

Tableau XXV : Comparaison des résultats des deux méthodes d'analyse de sensibilité du modèle aux paramètres d'entrée. En gras : 5 premiers facteurs selon le rang moyen des statistiques, en italique : les 5 facteurs suivants.

	CCRS				ANOVA			
	Classement selon rang moyen	Rang moyen	Etendue des rangs	Fréquence	Classement selon rang moyen	Rang Moyen	Etendue des rangs	Fréquence
Durée de l'étape « Consommateur »	1	1,3	[1; 5]	100	1	1.3	[1; 5]	100
XO_{lim} contamination par <i>L. monocytogenes</i> à t_0	2	2,1	[1; 6]	100	2	3.0	[1; 8]	100
$T_{min/Lim}$ température minimale de croissance de <i>L. monocytogenes</i>	3	3,4	[1; 11]	100	4	4.2	[1; 11]	100
Durée de l'étape « Magasin »	4	3,7	[2; 10]	100	6	5.1	[2; 10]	100
Température moyenne de l'étape « Magasin »	5	5,1	[3; 10]	100	7	6.2	[3; 9]	100
Corso, Consommation	6	7,6	[3; 17]	94	9	10.4	[7; 18]	96
Température moyenne de l'étape « Consommateur »	7	8,0	[4; 16]	97	3	3.7	[2; 8]	100
Ecart-type de la température de l'étape : « Magasin »	8	8,9	[5; 17]	90	15	15.9	[9; 19]	15
XO_{lim} contamination par la flore totale à t_0	9	10,2	[2; 19]	62	8	8.7	[2; 18]	99
Ecart-type de la température de l'étape « Consommateur »	10	10,4	[5; 19]	72	16	16.1	[10; 19]	10
Température moyenne de l'étape : « Logistique »	11	10,7	[5; 19]	67	14	13.3	[8; 19]	62
MPD , concentration bactérienne maximale	12	12,4	[4; 19]	37	10	10.4	[4; 19]	93
$\mu_{eff,lim}$ taux de croissance à la température de référence pour <i>L. monocytogenes</i>	13	13,4	[6; 19]	26	11	11.0	[7; 19]	86
Durée de l'étape « Logistique »	14	14,4	[9; 19]	7	13	12.4	[7; 19]	77
$T_{min/lim}$ température minimale de croissance de la flore totale	15	11,8	[1; 19]	44	5	4.8	[1; 14]	100
μ_{eff} taux de croissance à la température de référence pour la flore totale	16	15,4	[7; 19]	6	12	11.9	[7; 19]	79
Ecart-type de la température de l'étape « Logistique »	17	16,9	[11; 19]	0	17	17.0	[11; 19]	4
DMC , date limite de consommation telle qu'appliquée par le consommateur	18	17,2	[11; 19]	0	18	17.2	[11; 19]	3
DLC , date limite de consommation telle qu'écrite sur le produit	19	17,3	[11; 19]	0	19	17.6	[11; 19]	1

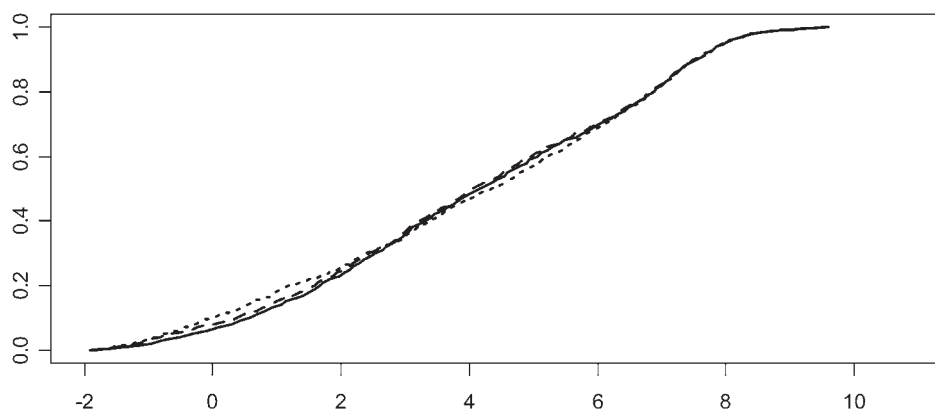


Figure 21 : Sensibilité du modèle à la simplification des profils temps-températures par la modélisation DMS. Cette figure montre la distribution empirique cumulée de la médiane de X_{cons} (\log_{10} (ufc/g)) selon: 1) une intégration par pas de temps de 15 minutes à partir de 50 profils temps températures observés (ligne pleine); 2) une intégration de la croissance utilisant le modèle DMS; les valeurs d , m et s étant estimées à partir de ces profils observés (ligne pointillée); 3) une intégration de la croissance utilisant le modèle DMS; les valeurs d , m et s étant spécifiées partir des distributions paramétriques (points).

Tableau XXVI : Statistiques des sorties du modèle de base et des modèles alternatifs [Intervalle de confiance à 95%]

(#1 : date limite de consommation fixée à 15 jours, #2 : température moyenne dans les meubles de vente fixée à 4°C, #3 : température moyenne fixée dans les réfrigérateurs domestiques à 4°C). Estimation et intervalle de confiance à 95% de la moyenne et des 50^{ième}, 75^{ième}, 95^{ième} et 99^{ième} percentiles. a) X_{cons} , concentration en *L. monocytogenes* au moment de la consommation par saumon contaminé, b) E_{cont} exposition à *L. monocytogenes* par la consommation de saumon fumé contaminé, c) E_{serv} exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé.

a) X_{cons} (\log_{10} (ufc/g))	Percentiles				
	Moyenne	50	75	95	99
Modèle de base	1,4 [0,72; 2,2]	1,0 [0,43; 1,7]	2,4 [1,5; 3,5]	5,2 [3,7; 6,8]	7,2 [5,8; 8,1]
Alternative #1	1,2 [0,63; 1,9]	0,94 [0,39; 1,60]	2,2 [1,4; 3,2]	4,6 [3,3; 6,1]	6,3 [4,8; 7,6]
Alternative #2	1,1 [0,53; 1,8]	0,77 [0,24; 1,4]	2,0 [1,2; 3,0]	4,7 [3,3; 6,3]	6,9 [5,3; 7,9]
Alternative #3	0,89 [0,34; 1,6]	0,60 [0,13; 1,2]	1,7 [1,0; 2,6]	3,9 [2,7; 5,5]	6,0 [4,4; 7,4]
b) E_{cont} (\log_{10} (ufc/ration) de saumon contaminé)					
	Moyenne	50	75	95	99
Modèle de base	2,9[2,2; 3,6]	2,5[1,9; 3,2]	3,9[3,0; 5,0]	6,7[5,2; 8,2]	8,7[7,3; 9,7]
Alternative #1	2,7 [2,1; 3,4]	2,4 [1,9; 3,1]	3,7 [2,9; 4,7]	6,0 [4,8; 7,5]	7,8 [6,3; 9,1]
Alternative #2	2,6 [2,0; 3,3]	2,2 [1,7; 2,9]	3,5 [2,7; 4,5]	6,2 [4,8; 7,8]	8,4 [6,8; 9,4]
Alternative #3	2,4 [1,8; 3,0]	2,1 [1,6; 2,7]	3,2 [2,5; 4,1]	5,4 [4,2; 6,9]	7,5 [5,9; 8,9]
c) E_{serv} (\log_{10} (ufc/ration) de saumon fumé)					
	Moyenne	50	75	95	99
Modèle de base	0,33 [0,22; 0,48]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	2,8 [1,9; 3,9]	5,7 [4,4; 7,5]
Alternative #1	0,31 [0,20; 0,46]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	2,7 [1,8; 3,7]	5,3 [4,1; 6,7]
Alternative #2	0,30 [0,20; 0,44]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	2,5 [1,7; 3,5]	5,3 [4,0; 6,9]
Alternative #3	0,27 [0,18; 0,40]	0,0 [0,0; 0,0]	0,0 [0,0; 0,0]	2,3 [1,6; 3,2]	4,7 [3,6; 6,1]

La Figure 22 présente les durées totales de process simulées selon le modèle de base et le modèle alternatif. Cette figure montre pourtant une durée totale de process bien étalée dans le modèle de base ; 20% des simulations proposent ainsi une durée de process supérieure à 20 jours. (La fréquence importante des durées égales à 15 jours dans l'alternative 1 correspond aux cas de consommation le jour de la DLC).

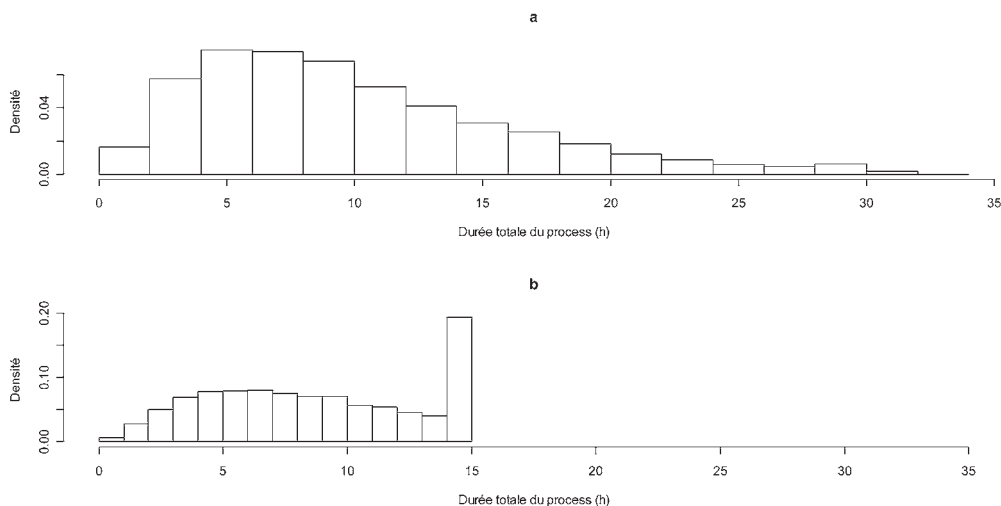


Figure 22 : Durée totale simulée du process. a) modèle de base ; b) alternative #1.

2.5. Discussion

Cet article propose un exemple d'évaluation de l'exposition à un contaminant microbiologique pouvant potentiellement croître dans l'environnement au cours du process. Un modèle complet (de la « mer » à la « table ») n'a pas été développé, ce qui simplifie l'approche mais ne permet pas d'évaluer des mesures de gestion sur des procédures de fabrication réalisées avant la sortie de l'usine (exemple : nettoyage de l'atelier de filetage).

Concernant le modèle utilisé : le modèle DMS a montré son intérêt pour intégrer, en quelques étapes, la croissance bactérienne dans un environnement thermique variable. Les résultats proposés permettent de valider ce modèle, malgré les quelques simplifications nécessaires à son implémentation. Ce modèle ne prend en compte que les fluctuations de températures lors du process ; il considère les autres paramètres influençant la croissance comme des constantes, globalisées dans un effet « produit ». Ce modèle utilise de plus des modèles de croissance primaires et secondaires simples, mais des données publiées ont montrés la bonne adéquation de ces modèles à des données expérimentales (Delignette-Muller *et al.*, 2006) ou à des « challenge tests » (Cornu *et al.*, 2006). De plus, la prise en compte de la compétition entre flore pathogène et flore totale, déjà réalisée dans des AQRM récentes (Coleman *et al.*, 2003) au travers de l'effet Jameson, permet de compléter l'adéquation de ce modèle en conditions réelles (en opposition aux données expérimentales) (Beaufort *et al.*, 2006). Ce modèle DMS est relativement universel au regard des germes classiquement étudiés, et son utilisation directe serait possible pour d'autres AQRM, sous couvert d'une bonne spécification des paramètres d'entrée. Un point faible de notre modèle pourrait être la non prise en compte de la période de latence.

A partir des données collectées dans le cadre de ce projet, des procédures variées de spécification de l'incertitude et de la variabilité des paramètres d'entrée du modèle ont été utilisées : *i)* bootstrap non paramétrique suivi d'un tirage au sort empirique dans les échantillons bootstrap (Vose, 2000) ; *ii)* bootstrap paramétrique suivi d'un tirage au sort

empirique dans les échantillons bootstrap (Vose, 2000) ; *iii*) inférence bayésienne simple (par utilisation de lois conjuguées) suivie d'un tirage au sort dans la loi de distribution paramétrique correspondante (Vose, 2000; Miconnet *et al.*, 2005a) ; *iv*) distribution paramétrique à partir d'hyperparamètres obtenus par inférence bayésienne (Delignette-Muller *et al.*, 2006). Cette dernière procédure bayésienne est actuellement recommandée par les instances européennes (European Commission, 2003) ; elle n'est que rarement employée, si ce n'est dans des travaux préalablement présentés (Albert *et al.*, 2005).

Concernant les résultats, la distribution de l'exposition simulée à *L. monocytogenes* est dissymétrique à droite, comme attendu. Des procédures d'évaluation d'évènements rares pourraient être une alternative à ces simulations, afin de mieux caractériser ces distributions (Tressou, 2005). Les niveaux de contaminations simulés sont dans le même ordre de grandeur que ceux obtenus dans les publications portant sur le même couple aliment-pathogène (FDA/USDA/CDC, 2003; FAO/WHO, 2004)

L'analyse de sensibilité du modèle aux paramètres d'entrée a été effectuée selon deux méthodes recommandées dans le domaine (Frey et Patil, 2002; Frey *et al.*, 2004). On retiendra pragmatiquement de ces deux analyses, qui ont chacune leurs limites (Mokhtari et Frey, 2005), que l'étape « Consommateur » est une étape majeure, suivie de l'étape « Magasin » pour la contamination finale du produit. L'étape « Logistique » ne semble pas être influente dans la gamme des profils observés. La concentration en *L. monocytogenes* à t_0 des produits contaminés est bien entendu d'une influence majeure. L'influence de la date limite de consommation du produit ne peut guère être appréhendée par ces méthodes, mais l'analyse par atténuation a confirmé qu'elle était assez faible. Les deux méthodes donnent des résultats discordants concernant l'influence des paramètres de croissance de *L. monocytogenes* et de la flore totale : les mesures de gestions ne pouvant pas être appliqués sur ces paramètres, nous n'iront pas plus loin dans l'analyse de ces discordances. Enfin, la prévalence de produits contaminés est avant tout le paramètre le plus influent, bien que non étudié par nos méthodes pour des raisons mathématiques (risque 0 pour tous les produits non contaminés).

Ces analyses de sensibilité n'étudient pas spécifiquement les « cas extrêmes », qui sont pourtant les plus intéressants : un fort coefficient de corrélation des rangs de Spearman peut être lié à une très bonne corrélation dans les valeurs les plus basses et les valeurs moyennes de l'exposition, et n'avoir que peu d'influence sur les valeurs extrêmes. Le même raisonnement peut être fait pour l'ANOVA. Une étude plus complète devra être proposée à l'avenir (FAO/WHO, 2004).

L'article proposé s'arrête à cette évaluation de l'exposition. Nous nous proposons de poursuivre jusqu'à l'évaluation du risque.

3. L'appréciation quantitative des risques

Dans le processus d'appréciation quantitative du risque, le passage de l'évaluation de l'exposition à celle du risque nécessite l'utilisation d'une relation dose réponse, associant à chaque contamination simulée une probabilité d'occurrence de l'effet néfaste considéré. Ici, la variable de sortie « consommation de *L. monocytogenes* par portion de saumon fumé » est utilisé comme paramètre de dose dans la loi dose réponse

$$p = f(\text{dose})$$

où p est la probabilité d'occurrence de l'effet néfaste.

3.1. Le modèle dose-réponse

Le modèle dose-réponse proposé est une légère adaptation de celui utilisé dans le rapport d'évaluation des risques liés à *L. monocytogenes* dans les produits prêts à consommer FAO-OMS (2004).

Le modèle proposé est de type exponentiel, *ie.*

Eq.37 $p = 1 - \exp(-r \times \text{dose})$

où r est un paramètre unique, qui représente dans ce modèle la probabilité d'occurrence d'une listériose invasive lors de l'ingestion d'une unité de dose (cf. 4.4, p. 22).

L'approche générale utilisée dans le rapport FAO-OMS (2004) consiste à estimer ce paramètre r en reliant les données d'exposition à *L. monocytogenes* aux données épidémiologiques sur le nombre de listérioses invasives recensées. Les données étaient issues des données épidémiologiques observées aux Etats-Unis d'Amérique utilisées dans le cadre de l'évaluation de la FDA/USDA et du CDC (Mead *et al.*, 1999; FDA/USDA/CDC, 2003).

Présentation du modèle

Si le principe est simple, l'approche détaillée utilisée (FAO/WHO, 2004) est en revanche assez complexe à expliciter. Ce principe d'estimation du paramètre r est le suivant.

- les données de l'étude FDA/USDA/CDC (2003) ont permis d'estimer le nombre de portions de différents aliments présentant une dose <1 , $[1 ; 10^3]$; $[10^3 ; 10^6]$; $[10^6 ; 10^9]$; $>10^9$ ufc, consommées par la population américaine (Tableau XXVII, colonne b);
- ils considèrent \hat{d} qu'à ces intervalles pouvaient correspondre les doses définies par les valeurs $LD = \{-1,5 ; 1,5 ; 4,5 ; 7,5 \text{ et } D_{max}\} \log_{10}(\text{ufc/portion})$, où D_{max} est la dose de *L. monocytogenes* maximale pouvant être présente dans une portion (Tableau XXVII, colonne c);
- ils calculent la fonction empirique de répartition des portions selon les doses de *L. monocytogenes* (FC , Tableau XXVII, colonne d),
- une relation linéaire est ajustée à la fonction complémentaire « log log » (cloglog) de FC (Tableau XXVII, colonne e),

Eq.38 $\log(-\log(FC)) = K \times LD + m$;

la pente est estimée à $K = -0,326$, et l'ordonnée à l'origine à $m = -1,96$;

Tableau XXVII : Données FDA/USDA/CDC (2003) utilisées pour l'établissement de la loi dose-réponse.

a) Dose	b) Nombre de portions présentant cette dose	c) \log_{10} dose utilisée LD	d) Fonction de répartition empirique du nombre de portions présentant cette dose FC	e) $\log_{10}(-\log_{10}(FC))$
<1	$3,41 \times 10^{11}$	-1,5	0,9313	-1,509874594
$[1 ; 10^3]$	$2,18 \times 10^{10}$	1,5	0,9908	-2,394640950
$[10^3 ; 10^6]$	$3,05 \times 10^9$	4,5	0,9991	-3,396742519
$[10^6 ; 10^9]$	$3,07 \times 10^8$	7,5	0,9999	-4,434399463
$>10^9$	$3,10 \times 10^7$	D_{max}	1,0000	

- cette relation est appliquée pour des doses d variant de -1,5 à $10,5 \log_{10}(\text{ufc/portion})$ avec un pas de $0,5 \log_{10}(\text{ufc/portion})$ (Tableau XXVIII, colonne b) ;
- par inversion de l'Eq.38, la fréquence cumulée de la proportion des rations présentant une dose donnée d est estimée (Tableau XXVIII, colonne c) ; puis la fréquence F_d (Tableau XXVIII, colonne d) ;
- le nombre de rations consommées par an aux Etats-Unis est estimé à $Nb = 3,66 \cdot 10^{11}$. Le produit de F_d et Nb permet donc d'estimer Nbc_d le nombre de rations présentant une dose donnée d de *L. monocytogenes* (Tableau XXVIII, colonne e).

Ils considèrent alors deux sous-populations : la population sensible (correspondant aux femmes enceintes, aux personnes immunodéprimées, *etc.*) et la population « normale ». Poursuivons cette présentation pour la population sensible.

- la population américaine sensible est estimée à $s = 17,5\%$ de la population totale ;

- le nombre de repas pris par cette population sensible par dose de contaminant d est estimé, sous réserve d'indépendance entre la consommation et le statut sensible, par $Nbcs_d = s \times Nbc_d$;
- l'espérance du nombre de cas de listériose invasive créé par chaque catégorie de contamination est égale à

$$\text{Eq.39} \quad Ncs_d = (1 - \exp(-r \times 10^d)) \times Nbcs_d ;$$

- ils estiment que $pks = 98\%$ des cas de listériose invasive aux états unis concerne la population sensible. Le nombre de cas de listériose invasive aux Etats-Unis étant estimé à 2518, $Nc_s = 2468$ cas concernent cette seule population sensible
- alors, deux types de calculs de r sont possibles :

- o soit on considère que tous les cas de listériose invasive dans la population sont liés seulement à la catégorie d'aliment la plus contaminée. Alors, il suffit d'inverser l'Eq.39 avec $Nc_s = 2468$, le nombre total de cas de listériose invasive dans la population sensible, $d = D_{max}$ la concentration maximale potentiellement présente dans une ration et $Nbcs_{D_{max}}$ le nombre de consommations correspondantes.

$$\text{Eq.40} \quad Nc_s = (1 - \exp(-r \times 10^{D_{max}})) \times Nbcs_{D_{max}} ;$$

Cette démarche a été utilisée dans le rapport FAO/OMS (2004)²⁴ ;

- o soit on considère que les cas de listériose invasive sont un cumul de l'ensemble des cas liés aux différentes catégories de contaminations.

$$\text{Eq.41} \quad Nc_s = \sum_{d=-1,5}^{D_{max}} Nbcs_d (1 - \exp(-r \times 10^d)) ;$$

Alors, le calcul n'est plus direct. r doit alors être estimé par recherche de la valeur aboutissant à une somme des cas par catégorie égale au nombre de cas observés. Cette démarche n'est pas insurmontable puisqu'il n'y a qu'un paramètre à estimer pour une fonction monotone croissante ; elle a été utilisée dans notre étude. Il faut noter cependant que cette option dépend encore largement du paramètre D_{max} , la grande majorité des cas étant liée aux fortes contaminations (cf. Tableau XXVIII).

Prise en compte de la variabilité

Dans le rapport FAO/OMS (2004), il est indiqué que la variabilité liée aux souches de *L. monocytogenes* est naturellement prise en compte dans le modèle, puisque les données utilisées reflètent l'ensemble des souches de *L. monocytogenes* circulante dans le pays²⁵.

Prise en compte de l'incertitude

Une prise en compte de l'incertitude dans le modèle est réalisée dans le rapport FAO/OMS (2004) en considérant quelques paramètres d'entrée comme connus avec une certaine incertitude. Des lois de distribution de ces paramètres ont été utilisées, et, par une procédure de Monte-Carlo, ils aboutissent à une distribution empirique de l'incertitude autour de l'estimation du paramètre r . Ainsi :

- la concentration maximale en *L. monocytogenes* D_{max} dans une ration (\log_{10}) était supposée être égale à une valeur du vecteur {7,5 ; 8,0 ; 8,5 ; 9,0 ; 9,5 ; 10,0 ; 10,5}. La

²⁴ qui nous semble floue, car dépendant très fortement de la dose maximale (estimée selon des données d'experts) présente dans une ration D_{max}

²⁵ On peut toutefois émettre une réserve à cette affirmation. La loi dose-réponse exponentielle, dans son acceptation mécanistique, suppose en effet une probabilité d'infection par une ufc de *L. monocytogenes* constante quelle que soit l'individu et la souche considérée, ce qui est incohérent avec la prise en compte de la variabilité proposée dans ce rapport.

Chapitre IV : Exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé

valeur était alors tirée au sort dans ce vecteur, et le nombre de rations présentant cette concentration était égale à $Nb - \sum_{i=-1,5}^{D_{\max}-0,5} Nbc_{s_i}$

Tableau XXVIII : Exemple de tableau de calcul. Pour $r = 1,579 \times 10^{-13}$, le nombre de cas estimé correspond au nombre de cas observé.

a) $d(\log_{10})$	b) cloglog de la fréquence cumulée du nombre de portion présentant la dose considérée $x = K \times d + m$	c) Fréquence cumulée 10^{-10^x}	d) Fréquence (F_i)	e) Nombre de repas dans chaque catégorie (Nbc_d)	f) Nombre de repas pris par la population sensible (Nbc_{s_d})	$1 - \exp(-r \times d) \times Nbc_{s_d}$
-1,5	-1,468	9,245 10 ⁻⁰¹	9,245 10 ⁻⁰¹	3,386 10 ¹¹	5,926 10 ¹⁰	2,960 10 ⁻⁰⁴
-0,5	-1,793	9,636 10 ⁻⁰¹	3,909 10 ⁻⁰²	1,432 10 ¹⁰	2,505 10 ⁹	1,246 10 ⁻⁰⁴
0,5	-2,119	9,827 10 ⁻⁰¹	1,903 10 ⁻⁰²	6,969 10 ⁹	1,220 10 ⁹	6,074 10 ⁻⁰⁴
1,5	-2,445	9,918 10 ⁻⁰¹	9,116 10 ⁻⁰³	3,339 10 ⁹	5,843 10 ⁸	2,910 10 ⁻⁰³
2,5	-2,771	9,961 10 ⁻⁰¹	4,334 10 ⁻⁰³	1,587 10 ⁹	2,778 10 ⁸	1,384 10 ⁻⁰²
3,5	-3,097	9,982 10 ⁻⁰¹	2,053 10 ⁻⁰³	7,520 10 ⁸	1,316 10 ⁸	6,554 10 ⁻⁰²
4,5	-3,423	9,991 10 ⁻⁰¹	9,710 10 ⁻⁰⁴	3,556 10 ⁸	6,224 10 ⁷	3,10 10 ⁻⁰¹
5,5	-3,749	9,996 10 ⁻⁰¹	4,589 10 ⁻⁰⁴	1,681 10 ⁸	2,941 10 ⁷	1,465
6,5	-4,074	9,998 10 ⁻⁰¹	2,168 10 ⁻⁰⁴	7,939 10 ⁷	1,389 10 ⁷	6,920
7	-4,237	9,999 10 ⁻⁰¹	6,068 10 ⁻⁰⁵	2,222 10 ⁷	3,889 10 ⁶	6,125
7,5	-4,400	9,999 10 ⁻⁰¹	4,170 10 ⁻⁰⁵	1,527 10 ⁷	2,673 10 ⁶	1,331 10 ⁻¹
8	-4,563	9,999 10 ⁻⁰¹	2,866 10 ⁻⁰⁵	1,050 10 ⁷	1,837 10 ⁶	2,893 10 ⁻¹
8,5	-4,726	1,000	1,969 10 ⁻⁰⁵	7,212 10 ⁶	1,262 10 ⁶	6,286 10 ⁻¹
9	-4,889	1,000	1,353 10 ⁻⁰⁵	4,956 10 ⁶	8,673 10 ⁵	1,366 10 ⁻²
9,5	-5,052	1,000	9,299 10 ⁻⁰⁶	3,406 10 ⁶	5,960 10 ⁵	2,968 10 ⁻²
10	-5,215	1,000	6,390 10 ⁻⁰⁶	2,340 10 ⁶	4,096 10 ⁵	6,446 10 ⁻²
10,5	-5,378	1,000	3,966 10 ⁻⁰⁶	1,452 10 ⁶	2,542 10 ⁵	1,263 10 ⁻³
Somme	0,999989927573			3,662438 10 ¹¹	6,41 10 ¹⁰	2 468

- le nombre de cas de listérioses sévères aux Etats-Unis était estimé à 2518 cas, avec une incertitude de 25%. Une distribution uniforme sur [1888 ; 3148] est par conséquent utilisée ;
- la fraction de ces cas liés à une plus grande susceptibilité était supposée suivre une distribution uniforme sur [0,80 ; 0,98] ;
- enfin, la fraction de la population totale plus sensible était supposée suivre une distribution uniforme sur [0, 15 ; 0,20].

Résultats

Les résultats de cette estimation selon nos propres calculs sont présentés dans le Tableau XXIX et le Figure 23. Les résultats sont exprimés d'une part pour le paramètre r , d'autre part sous forme d'une dose infectieuse 50, N_{50} i.e. la dose susceptible de provoquer une listériose invasive chez 50% des individus :

$$N_{50} = \frac{\log(2)}{r}$$

Cette N_{50} est estimée en moyenne à $N_{50,s} = 3,76 \times 10^{11}$ dans la population sensible et à $N_{50,n} = 1,43 \times 10^{13}$ dans la population normale (soit un rapport $N_{50,s} / N_{50,n}$ de l'ordre de 40).

Tableau XXIX : Estimation du paramètre r (et N_{50} correspondantes) de la loi dose-réponse exponentielle selon une méthode adaptée de l'expertise FAO/OMS (2004)

Population		Moyenne	Percentiles				
			25	50	75	95	99
Sensible	r	$1,85 \times 10^{-12}$	$2,51 \times 10^{-13}$	$7,73 \times 10^{-13}$	$2,79 \times 10^{-12}$	$6,99 \times 10^{-12}$	$8,37 \times 10^{-12}$
	N_{50}	$3,76 \times 10^{11}$	$2,76 \times 10^{12}$	$8,96 \times 10^{11}$	$2,48 \times 10^{11}$	$9,92 \times 10^{10}$	$8,28 \times 10^{10}$
Normale	r	$4,82 \times 10^{-14}$	$6,13 \times 10^{-15}$	$1,77 \times 10^{-14}$	$6,08 \times 10^{-14}$	$2,08 \times 10^{-13}$	$3,02 \times 10^{-13}$
	N_{50}	$1,44 \times 10^{13}$	$1,13 \times 10^{14}$	$3,91 \times 10^{13}$	$1,14 \times 10^{13}$	$3,33 \times 10^{12}$	$2,30 \times 10^{12}$

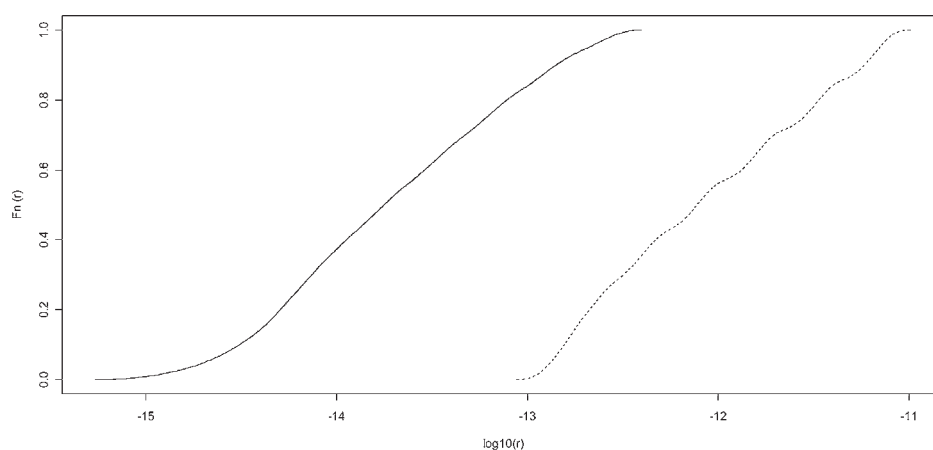


Figure 23 : Fonction de répartition empirique de l'incertitude autour du paramètre r (\log_{10}) de la relation dose-réponse exponentielle pour *L. monocytogenes* dans la population « normale » (trait plein) et dans la population sensible » (trait pointillé).

3.2. Intégration du modèle dose-réponse

A partir du modèle de dose-réponse Eq.37 et des valeurs du paramètres r issues de la procédure de Monte-Carlo, le risque de listériose invasive a été calculé dans les deux sous-populations caractérisées, selon :

$$R_{cons} = 1 - \exp(-r X_{cons}),$$

d'une part, afin d'évaluer le risque lié à la consommation d'une plaque de saumon contaminé, et

$$R_{serv} = 1 - \exp(-r X_{serv}),$$

d'autre part, afin d'évaluer le risque lié à la consommation d'une plaque de saumon fumé « tout venant ».

L'application de ces équations aux deux sous-populations admet l'hypothèse d'une indépendance entre la consommation et le statut sensible ou normal du consommateur. Cette hypothèse est forte, puisqu'elle suppose que la communication sur les risques de listériose auprès des populations à risque, notamment la recommandation d'éviter la consommation de poissons fumés (Pierre et Veit, 1996 ; Institut de Veille Sanitaire, 1997; de Valk *et al.*, 2000) n'a aucun impact.

3.3. Résultats

Les résultats sont proposés dans la Figure 24 et le Tableau XXX.

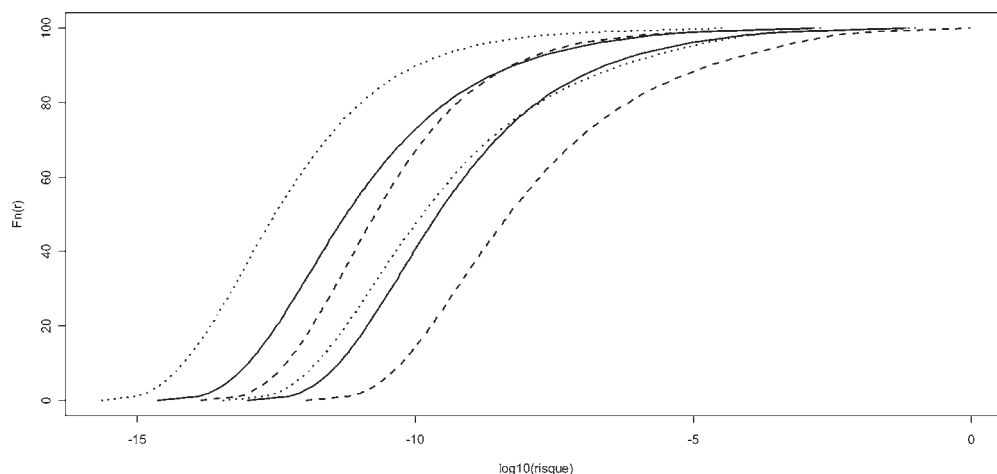


Figure 24 : Evaluation du risque de listériose invasive (\log_{10}) par consommation d'une ration de saumon fumé contaminé pour la population sensible (trait plein à droite, enveloppe : pointillés) et la population normale (trait plein à gauche, enveloppe : points).

Rappelons que l'enveloppe correspond aux 2,5^{ième} et 97,5^{ième} percentiles.

Tableau XXX : Estimation du risque pour la population sensible et la population normale de listériose liée à la consommation d'une ration de saumon fumé – modèle de base.

	Moyenne	Ecart-Type	Percentiles				
			25	50	75	95	99
Risque pour la population sensible, consommation de plaques de saumon fumé contaminé							
<i>Est</i>	$4,41 \cdot 10^{-5}$	0,00101	$2,30 \cdot 10^{-11}$	$2,58 \cdot 10^{-10}$	$6,42 \cdot 10^{-9}$	$4,11 \cdot 10^{-6}$	0,000367
<i>CI_{inf}</i>	$2,04 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$2,31 \cdot 10^{-12}$	$2,06 \cdot 10^{-11}$	$2,9 \cdot 10^{-10}$	$5,64 \cdot 10^{-8}$	$8,34 \cdot 10^{-6}$
<i>CI_{sup}</i>	0,000875	0,0162	$3,25 \cdot 10^{-10}$	$4,69 \cdot 10^{-9}$	$2,08 \cdot 10^{-7}$	0,000331	0,0111
Risque pour la population normale, consommation de plaques de saumon fumé contaminé							
<i>Est</i>	$9,66 \cdot 10^{-7}$	$2,27 \cdot 10^{-5}$	$5,25 \cdot 10^{-13}$	$6,01 \cdot 10^{-12}$	$1,48 \cdot 10^{-10}$	$9,32 \cdot 10^{-8}$	$8,28 \cdot 10^{-6}$
<i>CI_{inf}</i>	$3,24 \cdot 10^{-8}$	$6,6 \cdot 10^{-7}$	$3,38 \cdot 10^{-14}$	$3,1 \cdot 10^{-13}$	$4,84 \cdot 10^{-12}$	$9,44 \cdot 10^{-10}$	$1,32 \cdot 10^{-7}$
<i>CI_{sup}</i>	$3,96 \cdot 10^{-5}$	0,00137	$9,68 \cdot 10^{-12}$	$1,33 \cdot 10^{-10}$	$5,55 \cdot 10^{-9}$	$9,22 \cdot 10^{-6}$	0,000294
Risque pour la population sensible, consommation de saumon fumé							
<i>Est</i>	$5,01 \cdot 10^{-6}$	0,000341	0,00	0,00	0,00	$5 \cdot 10^{-10}$	$4,57 \cdot 10^{-7}$
<i>CI_{inf}</i>	$2,31 \cdot 10^{-7}$	$1,35 \cdot 10^{-5}$	0,00	0,00	0,00	$2,17 \cdot 10^{-11}$	$7,94 \cdot 10^{-9}$
<i>CI_{sup}</i>	0,000101	0,00549	0,00	0,00	0,00	$1,60 \cdot 10^{-8}$	$4,60 \cdot 10^{-5}$
Risque pour la population normale, consommation de saumon fumé							
<i>Est</i>	$1,12 \cdot 10^{-7}$	$7,74 \cdot 10^{-6}$	0,00	0,00	0,00	$1,16 \cdot 10^{-11}$	$1,09 \cdot 10^{-8}$
<i>CI_{inf}</i>	$3,60 \cdot 10^{-9}$	$2,25 \cdot 10^{-7}$	0,00	0,00	0,00	$3,74 \cdot 10^{-13}$	$1,42 \cdot 10^{-10}$
<i>CI_{sup}</i>	$4,44 \cdot 10^{-6}$	0,00046	0,00	0,00	0,00	$4,3 \cdot 10^{-10}$	$1,24 \cdot 10^{-6}$

* *Est*: estimation; *IC_{inf}*: borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%; *IC_{sup}*: borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%.

Chapitre IV : Exposition à *L. monocytogenes* par consommation de saumon fumé

Tableau XXXI : Estimation du risque pour la population sensible de listériose liée à la consommation d'une ration de saumon fumé – modèle de base et modèles alternatifs.

	Moyenne	Ecart-Type	Percentiles				
			25	50	75	95	99
Modèle de base							
<i>Est</i>	5,01 10 ⁻⁶	0,000341	0,00	0,00	0,00	5 10 ⁻¹⁰	4,57 10 ⁻⁷
<i>CI_{inf}</i>	2,31 10 ⁻⁷	1,35 10 ⁻⁵	0,00	0,00	0,00	2,17 10 ⁻¹¹	7,94 10 ⁻⁹
<i>CI_{sup}</i>	0,000101	0,00549	0,00	0,00	0,00	1,60 10 ⁻⁸	4,60 10 ⁻⁵
Alternative 1							
<i>Est</i>	9,72 10 ⁻⁷	7,55 10 ⁻⁵	0,00	0,00	0,00	4,06 10 ⁻¹⁰	1,68 10 ⁻⁷
<i>CI_{inf}</i>	2,42 10 ⁻⁸	2,01 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	1,89 10 ⁻¹¹	3,99 10 ⁻⁹
<i>CI_{sup}</i>	2,82 10 ⁻⁵	0,00234	0,00	0,00	0,00	1,13 10 ⁻⁸	1,03 10 ⁻⁵
Alternative 2							
<i>Est</i>	3,26 10 ⁻⁶	0,000246	0,00	0,00	0,00	2,66 10 ⁻¹⁰	1,53 10 ⁻⁷
<i>CI_{inf}</i>	1,38 10 ⁻⁷	9,28 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	1,36 10 ⁻¹¹	3,45 10 ⁻⁹
<i>CI_{sup}</i>	7,08 10 ⁻⁵	0,00464	0,00	0,00	0,00	7,14 10 ⁻⁹	1,29 10 ⁻⁵
Alternative 3							
<i>Est</i>	1,01 10 ⁻⁶	9,35 10 ⁻⁵	0,00	0,00	0,00	1,72 10 ⁻¹⁰	3,96 10 ⁻⁸
<i>CI_{inf}</i>	3,34 10 ⁻⁸	3,13 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	1,01 10 ⁻¹¹	1,26 10 ⁻⁹
<i>CI_{sup}</i>	2,81 10 ⁻⁵	0,00281	0,00	0,00	0,00	3,98 10 ⁻⁹	2,2 10 ⁻⁶

* *est*: estimation; *CI_{inf}*: borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%; *CI_{sup}*: borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%.

Tableau XXXII : Estimation du risque pour la population normale de listériose liée à la consommation d'une ration de saumon fumé – modèle de base et modèles alternatifs

	Moyenne	Ecart-Type	Percentiles				
			25	50	75	95	99
Modèle de base							
<i>Est</i>	1,12 10 ⁻⁷	7,74 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	1,16 10 ⁻¹¹	1,09 10 ⁻⁸
<i>CI_{inf}</i>	3,6 10 ⁻⁹	2,25 10 ⁻⁷	0,00	0,00	0,00	3,74 10 ⁻¹³	1,42 10 ⁻¹⁰
<i>CI_{sup}</i>	4,44 10 ⁻⁶	0,00046	0,00	0,00	0,00	4,3 10 ⁻¹⁰	1,24 10 ⁻⁶
Alternative 1							
<i>Est</i>	2,14 10 ⁻⁸	1,65 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	9,29 10 ⁻¹²	3,83 10 ⁻⁹
<i>CI_{inf}</i>	4,62 10 ⁻¹⁰	3,98 10 ⁻⁸	0,00	0,00	0,00	3,54 10 ⁻¹³	7,82 10 ⁻¹¹
<i>CI_{sup}</i>	9,20 10 ⁻⁷	8,11 10 ⁻⁵	0,00	0,00	0,00	3,1 10 ⁻¹⁰	2,92 10 ⁻⁷
Alternative 2							
<i>Est</i>	7,22 10 ⁻⁸	5,59 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	6,11 10 ⁻¹²	3,56 10 ⁻⁹
<i>CI_{inf}</i>	2,20 10 ⁻⁹	1,57 10 ⁻⁷	0,00	0,00	0,00	2,27 10 ⁻¹³	5,95 10 ⁻¹¹
<i>CI_{sup}</i>	2,98 10 ⁻⁶	0,00032	0,00	0,00	0,00	1,94 10 ⁻¹⁰	3,47 10 ⁻⁷
Alternative 3							
<i>Est</i>	2,28 10 ⁻⁸	2,06 10 ⁻⁶	0,00	0,00	0,00	3,92 10 ⁻¹²	9,21 10 ⁻¹⁰
<i>CI_{inf}</i>	5,35 10 ⁻¹⁰	5,21 10 ⁻⁸	0,00	0,00	0,00	1,63 10 ⁻¹³	2,14 10 ⁻¹¹
<i>CI_{sup}</i>	9,88 10 ⁻⁷	0,000114	0,00	0,00	0,00	1,07 10 ⁻¹⁰	5,94 10 ⁻⁸

* *est*: estimation; *CI_{inf}*: borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95%; *CI_{sup}*: borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%.

3.4. Discussion

La loi dose-réponse établie par la FDA, l'USDA et le CDC (2003) et utilisée par le comité d'experts OMS (2004) est désormais pratiquement considérée comme un consensus international sur la dose-réponse à *L. monocytogenes* au regard des données actuelles. L'écriture du modèle a montré sa complexité. Même si la procédure proposée (hypothèse que tous les cas de listériose invasive sont liés à la consommation d'aliments présentant la dose

maximale, notamment) à l'avantage de pouvoir être traitée aisément par un tableur classique, l'incertitude vraisemblablement entraînée nous fait préférer un calcul plus complexe. Les travaux présentés ici introduisent une variante en évitant cette hypothèse simplificatrice.

On estime le risque moyen de listériose invasive par consommation de saumon fumé « tout venant » à $5,01 \cdot 10^{-6}$ [$2,31 \cdot 10^{-7}$; $1,01 \cdot 10^{-4}$] pour la population sensible et $1,12 \cdot 10^{-7}$ [$3,60 \cdot 10^{-9}$; $4,44 \cdot 10^{-6}$] pour la population normale, par acte de consommation. A titre de comparaison, l'évaluation des risques FAO/OMS pour cet aliment (FAO/WHO, 2004) estimait ce risque à $5,3 \cdot 10^{-8}$ pour une population globale incluant de 15 à 20% d'individus sensibles. Lindqvist et Westoo (2000) avaient estimé ces risques à $2,0 \cdot 10^{-3}$ et $1,6 \cdot 10^{-2}$ pour les populations normales et sensibles, respectivement²⁶. Il peut alors être intéressant, au regard de cette disparité, de confronter ces chiffres avec un nombre de cas attendus.

Ainsi, si on considère que les probabilités d'infection par *Listeria* sont indépendantes pour un individu donné à chaque prise alimentaire de saumon fumé, le nombre attendu de cas de listériose invasive peut être estimé selon :

$$N_i = R_i \times Pop \times p_i \times P_x$$

où :

- i est l'index de la sous population considérée (s pour la population sensible, n pour la population normale) ;
- N_i est le nombre de cas attendu dans la sous population i ;
- Pop est la taille de la population Française : $Pop = 60\,000\,000$;
- p_i est la fraction de la population Française appartenant à la population i : en l'absence de données, on peut utiliser en première approximation les données américaines, soit $p_s = 0,175$ et $p_n = 1 - p_s$;
- R_i est le risque moyen²⁷ de listériose par prise alimentaire de saumon fumé dans la sous-population i : $R_n = 1,12 \cdot 10^{-7}$; $CI_{95} = [3,6 \cdot 10^{-9}$; $4,44 \cdot 10^{-6}]$; $R_s = 5,01 \cdot 10^{-6}$; $CI_{95} = [2,31 \cdot 10^{-7}$; $1,01 \cdot 10^{-4}]$ (cf. Tableau XXX) ;
- P est le nombre de prises alimentaires de saumon fumés par personnes par an. Des études préliminaires (Bemrah N., Cornu M., communication personnelle) indiquent une estimation du nombre de prises alimentaires de saumon fumé en France de l'ordre de 3 à 10 prises/personnes/an. On utilisera deux estimations $P_1 = 3$ et $P_2 = 10$.

On arrive aux estimations suivantes :

Estimation du nombre cas dans la population sensible :

- 3 prises alimentaires par an : 158 cas / an, $CI_{95} = [7$; 3189 cas / an] ;
- 10 prises alimentaires par an : 526 cas/an, $CI_{95} = [24$; 10630 cas / an].

Estimation du nombre cas dans la population normale :

- 3 prises alimentaires par an : 17 cas / an, $CI_{95} = [1$; 659 cas / an] ;
- 10 prises alimentaires par an : 55 cas /an, $CI_{95} = [2$; 2197 cas / an].

Rappelons que l'on estime le nombre de cas de listériose invasive liés à l'alimentation (tout aliments confondus) à environ 300 par an (Vaillant *et al.*, 2005), sans que le saumon ait pu être mis en cause de manière formelle.

Deux types de conclusions peuvent être posées sur ce résultat :

- on peut être surpris par l'ordre de grandeur cohérent du nombre de cas de listérioses obtenu par la modélisation. En effet, la procédure utilisée est extrêmement complexe, et dépend d'un grand nombre d'hypothèses de modélisation. La modélisation utilise ainsi, à partir des données de prévalence et de dénombrement à la sortie de l'usine,

²⁶ Leur modèle utilisait une autre relation dose-réponse. Les estimations étaient incompatibles avec le nombre attendu de listérioses dans la population, et avait amené les auteurs à émettre l'hypothèse d'une proportion de *L. monocytogenes* réellement infectant de l'ordre de 10%.

²⁷ L'utilisation du risque moyen pour estimer le nombre de cas dans une population est identique au raisonnement utilisé pour estimer le nombre de cas de cryptosporidioses menant à l'équation Eq.18, p.40.

une modélisation complète de la croissance bactérienne jusqu'à la table du consommateur, puis estime le nombre de cas à partir d'une loi dose-réponse établie en utilisant de fortes hypothèses sur le processus d'infection et sur la cohérence des données incorporées dans le modèle d'établissement du paramètre de la loi dose-réponse exponentielle. Dans ce sens, les résultats de la modélisation sont tout à fait convaincants. On notera également l'étendue importante des intervalles de confiance, signe de la grande incertitude, en rappelant que seule l'incertitude liée à la collecte des données est incluse, et nullement l'incertitude de modélisation. Les « fourchettes » proposées sont alors cohérentes avec les données observées ;

- on peut considérer à l'inverse que ces valeurs sont sur-estimées, et qu'elles n'apportent rien en terme d'aide directe à la prise de décision de santé publique. En effet, si l'on considère les estimations, il est tout à fait impossible que la majeure partie des cas de listériose soit liée à la consommation de saumon fumé, ne serait ce que parce qu'aucun cas groupé en France n'a pu être relié à ce type de produit. La largeur de l'intervalle de confiance ne permet pas de prendre également de décision : le pourcentage de cas de listériose liés à la consommation de saumon fumé est alors estimé entre 0 et 100% de l'ensemble des cas de listériose. Toutefois, cette modélisation pourra être affinée dans le futur, au regard de nouvelles données ou de nouveaux modèles.

Estimation du nombre de cas selon les alternatives d'atténuation du risque

Dans l'étude d'évaluation de l'exposition, trois alternatives d'atténuation du risque avaient été testées *Alternative #1*) diminution de la DLC à 15 jours (contre 28 jours dans 99% des cas et 21 jours dans 1% des cas pour le modèle de base) ; *Alternative #2*) diminution de la température moyenne des meubles de ventes, distribuée dans le modèle de base selon une $N(5,6 ; 2,2)$ et fixée dans un modèle alternatif #2 à exactement 4°C ; *Alternative #3*) diminution de la température moyenne des réfrigérateurs domestiques, distribués dans le modèle de base selon une $N(7,0 ; 3,0)$ et fixée dans un modèle alternatif #3 à exactement 4°C. Le Tableau XXXIII propose l'estimation du nombre de cas annuel en France, selon les hypothèses utilisées ci-dessus et selon les alternatives d'atténuation du risque.

Tableau XXXIII : Estimation du nombre de cas de listériose en France par consommation de saumon fumé selon les alternatives d'atténuation du risque.

	3 prises alimentaires de saumon fumé par an		10 prises alimentaires de saumon fumé par an	
	Population sensible	Population normale	Population sensible	Population normale
Modèle de base	158 [7 ; 3189]	17 [1 ; 659]	526 [24 ; 10630]	55 [2 ; 2197]
Alternative 1	31 [1 ; 889]	3 [0 ; 137]	102 [3 ; 2964]	11 [0 ; 456]
Alternative 2	103 [4 ; 2230]	11 [0 ; 443]	343 [12 ; 7433]	36 [1 ; 1476]
Alternative 3	32 [1 ; 887]	3 [0 ; 147]	106 [4 ; 2956]	11 [0 ; 489]

On constate que les alternatives #1 et #2 ont une influence majeure sur le nombre de cas prédits de listériose invasive liés à la consommation de saumon fumé. La diminution de la DLC à 15 jours permettrait ainsi, selon notre modèle, de réduire le nombre de cas par un facteur 5. Un réglage de tous les réfrigérateurs des particuliers aboutirait à la même réduction du nombre de cas. On notera que ce résultat n'était pas évident en se limitant aux statistiques issues du modèle d'évaluation de l'exposition à l'évaluation (Tableau XXVI)

Ces résultats illustrent parfaitement une des limites et un des avantages de l'AQR : comme indiqué dans la première partie, l'intérêt de cette démarche réside plus dans l'étude du comportement du modèle que dans celui de la fourniture de résultats absolus. Ceci est notamment identifiable lorsque des données épidémiologiques permettent de disposer d'un ordre de grandeur des résultats attendus. Ainsi, sous l'hypothèse qu'une grande erreur entraînant une large surestimation du risque n'est pas compensée par une grande erreur

entraînant une large sous-estimation du risque dans le modèle stipulé, l'obtention de résultats « dans l'ordre de grandeur » des résultats attendus permet de considérer ce modèle comme acceptable, et permet de l'étudier, par exemple pour voir quelle mesure de santé publique permettrait de réduire d'un certain facteur le nombre de cas attendus.

4. Conclusion

L'originalité de ce projet global était l'acquisition de données spécifiques dans l'optique de cette évaluation de l'exposition. Ainsi, parmi l'ensemble des paramètres nécessaires, seule une donnée externe (en l'occurrence une donnée d'expert) était utilisée : la tolérance des consommateurs vis-à-vis de la date limite de consommation. Cette acquisition de données spécifiques est bien entendu une recommandation naturelle des instances internationales (Commission du *Codex alimentarius*, 2003), mais elle n'est généralement pas mise en œuvre de façon aussi complète. Souvent, un grand nombre de données d'experts sont utilisées (Nauta, 2005) ou des données de la littératures (FDA/USDA/CDC, 2003; FAO/WHO, 2004), pas toujours adaptées de manière évidente au contexte d'utilisation. De plus, cette procédure, longue et coûteuse a permis d'adapter le processus d'échantillonnage à l'évaluation de la variabilité des situations françaises.

Il a été possible de proposer une évaluation quantitative de l'exposition ; l'écriture d'un article concernant l'évaluation quantitative des risques est en cours, en collaboration avec les épidémiologistes en charge de l'étude de ce pathogène.

En première approche, l'intégration de la loi dose-réponse la plus couramment admise actuellement aboutit à une légère surestimation du nombre de cas de listériose liés à la consommation de saumon fumé, notamment pour la population sensible. Ces résultats seront difficiles à expliquer, et pourraient remettre en cause l'ensemble de la démarche. Toutefois, les résultats sont dans un ordre de grandeur tel qu'il semble tout à fait acceptable d'accepter le modèle, notamment pour une modélisation de l'impact sur la proportion de cas évités de mesures de santé publique telles que la réduction de la durée de vie du produit, d'un suivi thermique plus rigoureux des produits, ou d'une limitation de la consommation de ces produits pour les personnes sensibles.