



Construction d'une démarche
interdisciplinaire de description
du processus sanitaire modulant
l'exposition au danger
L. monocytogenes
dans les produits **réfrigérés**

RAPPORT
DE RECHERCHE



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

**Construction d'une démarche interdisciplinaire
de description du processus sanitaire modulant l'exposition
au danger *L. monocytogenes* dans les produits réfrigérés**

Rapport de recherche

- Novembre 2006 -

1. Introduction	3
2. Cas du saumon fumé	4
2.1. Généralités	4
2.2. Caractérisation de la contamination (« initiale ») des produits	4
2.2.1. Fréquence de contamination (prévalence)	4
2.2.2. Mise au point d'une méthode de dénombrement	4
2.2.3. Niveaux de contamination « sortie usine »	4
2.2.4. Caractérisation des souches	4
2.3. Étude et modélisation de la croissance	4
2.3.1. Caractérisation de l'environnement de croissance	4
2.3.2. Caractérisation de la croissance	5
2.3.3. Modélisation retenue	5
2.4. Modélisation de l'exposition et du risque	6
3. Cas des rillettes	6
4. Conclusion	7
5. Liste des publications du projet	8
5.1. Articles publiés ou sous presse dans des revues à comité de lecture	8
5.2. Articles en cours de révision dans des revues à comité de lecture	8
5.3. Articles en préparation pour des revues à comité de lecture	9
5.4. Communications orales et affichées (posters) en congrès	9
6. Liste des Membres du comité de projet	10
7. Liste des Annexes	11

1. Introduction

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a conduit entre 2001 et 2004 un projet de recherche rassemblant une vingtaine de scientifiques de l'agence ainsi que d'autres organismes de recherche : l'Ecole Vétérinaire de Lyon, le Cemagref, l'Institut National de la Recherche Agronomique et le Centre Technique de la Salaison, de la Charcuterie et des Conserves de Viandes. Ce projet avait pour objectif de construire une démarche d'appréciation de l'exposition à *Listeria monocytogenes*. L'appréciation de l'exposition est une étape de l'analyse des risques, définie dans l'article présenté en **annexe 1**. C'est la démarche scientifique de quantification des doses de danger (nombres de cellules de *Listeria monocytogenes*) ingérées par les consommateurs.

Ce projet était appliqué à trois produits alimentaires industriels, produits et commercialisés (en libre-service) en France : le Munster au lait pasteurisé, les rillettes pur porc (charcuterie cuite) et le saumon fumé à froid. Pour ces trois produits, la source la plus probable de *L. monocytogenes* dans les produits contaminés est une contamination par l'environnement en cours de process. En raison de la complexité de la modélisation de cet événement, il a été choisi, pour les trois produits, que le stade initial pour la description de la chaîne alimentaire soit la « sortie usine ». Tous les produits étant commercialisés en conditionnements étanches, l'éventualité d'une recontamination ultérieure au stade initial a été exclue. D'autre part, il a été admis que tous ces produits étaient consommés en l'état, sans cuisson avant consommation, l'inactivation thermique n'a donc pas été modélisée. Le principal processus microbien décrit était donc la croissance microbienne entre la « sortie usine » et la consommation.

Ce projet reposait donc sur l'acquisition de données (caractérisant les produits, leur contamination et leur évolution thermique au cours de la chaîne du froid) et sur la construction de modèles (modèles thermiques, modèles de croissance bactérienne, modèle d'exposition).

L'étude de cas sur le saumon fumé reposait sur l'originalité d'être fondée sur un recueil spécifique de données *ad hoc* (enquêtes et travaux expérimentaux). Elle a été la plus aboutie et a fait l'objet du plus grand nombre de publications (voir liste des publications et en particulier **annexes 1 à 17**). Elle est présentée dans la **partie 2** ci-après.

L'étude de cas sur les rillettes s'est en revanche essentiellement fondée sur des données mises à notre disposition par la filière industrielle. Elle est présentée dans la **partie 3** ci-après et a fait l'objet d'une publication parue (**annexe 18**) et d'une publication en cours (**annexe 19**).

Enfin, l'étude de cas sur le Munster, qui cumulait les deux sources de données, s'est heurtée à différents obstacles :

- une prévalence en *L. monocytogenes* faible (3 produits positifs sur 212 testés) et en diminution; les expérimentations sur des produits naturellement contaminés (notamment le dénombrement de la contamination sortie usine et les tests de vieillissement) ne peuvent donc pas (facilement) être réalisés sur des produits prélevés aléatoirement « sortie usine » ou à la distribution ;
- des difficultés à accéder aux données ou observations industrielles ;
- la non-validation, à ce jour, des méthodes et des modèles classiques de la microbiologie prévisionnelle pour prédire le comportement de *L. monocytogenes* sur une croûte lavée d'un fromage à pâte molle affiné, au cours de sa vie commerciale (tandis que le comportement au cours de l'affinage semble correctement prédit).

Les conditions nécessaires à la construction d'un modèle d'exposition ne nous semblaient donc pas réunies pour cette troisième étude de cas, qui n'est donc pas développée dans ce rapport.

2.1. Généralités

L'étude de cas sur le saumon fumé a été réalisée avec la collaboration de 9 partenaires industriels, et a permis de construire un modèle à partir de données recueillies explicitement par différentes enquêtes et la conduite de nombreux travaux expérimentaux. Le contexte et les objectifs sont présentés dans les **annexes 1 et 2**.

2.2. Caractérisation de la contamination (« initiale ») des produits

Une partie importante du projet a été consacrée à la caractérisation expérimentale de la contamination (naturelle) en *L. monocytogenes* des saumons fumés français, au stade initial du processus modélisé par la suite (fin de production ou « sortie usine »).

2.2.1. Fréquence de contamination (prévalence)

La fréquence de contamination (ou prévalence) de *L. monocytogenes* dans le saumon fumé a été estimée à partir de l'analyse de plus de 600 échantillons issus de 8 sites de production français sélectionnés par échantillonnage aléatoire. Une variabilité significative a été observée entre les 8 sites, avec des prévalences par usine variant de 0 % à 24 %. Ces résultats sont présentés dans l'**annexe 3**.

Une réflexion méthodologique, présentée dans l'**annexe 4**, a permis de choisir la méthode la plus appropriée pour construire une distribution d'incertitude sur la prévalence.

2.2.2. Mise au point d'une méthode de dénombrement

Les niveaux de contamination étant très faibles au stade retenu, une méthode de dénombrement sensible a spécifiquement été mise au point. Elle repose sur la filtration de la suspension-mère, ou dilution décimale de saumon fumé. A nombre égal de boîtes de Petri (trois), elle permet l'analyse de 50 ml de suspension-mère (soit 5 g de saumon fumé) tandis que la méthode classique ne porte que sur 1 ml (soit 0,1 g de saumon fumé). Le seuil « théorique » de la méthode (plus petit résultat obtenu) est donc de 0,2 ufc/g (unités formant colonie par gramme) versus 10 ufc/g. Cette méthode est présentée dans l'**annexe 5**.

2.2.3. Niveaux de contamination « sortie usine »

La distribution niveau de contamination en fin de production a été déterminé sur 384 produits avec cette méthode de dénombrement par filtration. Ces résultats sont présentés dans l'**annexe 3**.

2.2.4. Caractérisation des souches

De plus, les souches isolées dans les saumons fumés ont été caractérisées par sérotypage et par électrophorèse en champ pulsé. Les résultats sont présentés dans les **annexes 3 et 6**.

2.3. Etude et modélisation de la croissance

Le principal processus microbien modélisé dans cette appréciation de l'exposition était la croissance de *L. monocytogenes* entre la « sortie usine » et la consommation. Cette partie a impliqué un travail très important d'acquisition de données (suivi des profils thermiques des produits tout au long du processus, caractérisation de la physico-chimie du saumon fumé, suivi de la croissance de *L. monocytogenes* dans des saumons fumés artificiellement ou naturellement contaminés...) et de modélisation (des profils thermiques et de la croissance).

2.3.1. Caractérisation de l'environnement de croissance

Un préalable à la modélisation de la croissance était une bonne caractérisation des conditions influençant potentiellement la croissance de *L. monocytogenes* au cours de la vie commerciale du saumon fumé : profils

thermiques de conservation du produit, stress thermique induit par l'application de températures négatives subies par le produit lors du process de fabrication (antérieurement à la phase étudiée), paramètres physico-chimiques du saumon fumé.

Les profils thermiques des saumons fumés ont été suivis de la sortie usine à la consommation au cours de campagnes de mesures décrites dans l'**annexe 7**. La modélisation de ces données, décrite dans l'**annexe 8**, a reposé sur un découpage de la chaîne en maillons (transport frigorifique, entrepôt, meuble de vente, réfrigérateur domestique etc...) et la caractérisation des temps de séjour et des températures de produits dans chacun de ces maillons. Le modèle de simulation final a utilisé une procédure originale d'intégration de la croissance, permettant en quelques étapes de prendre en compte un profil temps-température complexe.

Dans l'objectif de prendre en compte le stress froid, une enquête dans les ateliers de fabrication a permis de caractériser les profils thermiques des saumons fumés au cours de leur production et est décrite dans l'**annexe 9**. La pratique du raidissage (passage bref du produit après salage à une température négative inférieure au point de congélation pour faciliter le tranchage) a été prise en compte, tandis que la pratique du chilling (conservation des produits conditionnés entre 0°C et le point de congélation) n'a pas été étudié dans le contexte de ce projet, mais l'est à présent dans un autre projet.

De plus, des mesures physico-chimiques (pH, taux de sel, humidité, matière grasse) ont été réalisés sur les produits de 8 industriels et sont présentées dans l'**annexe 10**.

2.3.2. Caractérisation de la croissance

L'évaluation des modèles existants de microbiologie prévisionnelle sur *L. monocytogenes* a été réalisée grâce à la mise en œuvre de 61 challenge tests, ou tests de croissance, ou suivis de saumons fumés artificiellement contaminés par *L. monocytogenes*. Des courbes de croissance en milieux de culture liquide ont également été prises en considération.

Ces différentes études ont porté sur :

- l'influence de la température de préculture (reproduisant l'état physiologique de souches naturellement contaminantes, avec d'éventuels stress thermiques) sur les temps de latence, cf. **annexes 9 et 11** ;
- l'influence de la physico-chimie sur les taux de croissance et la comparaison à des modèles secondaires existants, cf. **annexe 10** ;
- l'influence du protocole de contamination (en particulier selon que l'inoculation ait lieu en surface d'une tranche, ou en profondeur d'un broyat) sur l'interprétation des courbes, cf. **annexes 12 et 13** ;
- l'influence du niveau d'inoculation sur les différents paramètres de croissance, cf. **annexe 13** ;
- la variabilité des taux de croissance de différentes souches de *Listeria monocytogenes*, cf. **annexe 14**.

Enfin, l'étude sur les contaminations naturelles (cf. **annexe 3**) a permis de réaliser des tests de vieillissement (7-15 jours à 4°C puis 7 jours 8°C).

2.3.3. Modélisation retenue

Sur la base de l'ensemble des travaux cités ci-dessus, nous avons choisi de retenir les hypothèses suivantes :

- nullité du temps de latence (ce qui revient à supposer que si latence il y a eu, elle était achevée au moment du dénombrement initial),
- croissance exponentielle à un taux de croissance μ_{max} , modélisé en fonction de la température de conservation, du saumon fumé (dont la variabilité est décrite de façon empirique, sans lien explicite à la physico-chimie) et de la souche,
- entrée en phase stationnaire lorsque l'ensemble des flores présentes atteint un niveau de saturation, selon l'effet Jameson (un modèle de croissance de la flore annexe a donc également été construit).

L'incertitude et la variabilité des paramètres de ce modèle ont été estimés par inférence bayésienne, sur la base de 96 tests de croissance (dont les 61 réalisés dans le cadre de ce projet, et 35 issus de la littérature) pour *L. monocytogenes*, et de 33 tests de vieillissement (dont 15 réalisés dans le cadre de ce projet). Cette modélisation est présentée dans l'**annexe 15** et sa validation par rapport à la contamination naturelle dans l'**annexe 3**.

2.4 Modélisation de l'exposition et du risque

L'appréciation de l'exposition intègre toutes ces données quantitatives et ces modèles afin d'estimer la dose de *Listeria monocytogenes* ingérée par le consommateur lors de la consommation d'une portion. La modélisation est réalisée par des simulations de type Monte Carlo à deux dimensions. Toutes les variables d'entrée du modèle (concernant la contamination, la croissance microbienne et la consommation) étaient modélisées sur la base des données de terrain décrites ci-dessus par des doubles distributions d'incertitude et de variabilité et ont permis de caractériser l'incertitude et la variabilité sur le résultat, *i.e.* l'exposition. Le but d'une modélisation de l'exposition n'est pas tant d'obtenir une estimation des expositions ou des risques mais surtout d'utiliser le modèle pour évaluer l'influence du processus modélisé, avec ses variabilités et incertitudes, sur ce niveau de risque, et d'évaluer différentes stratégies de réduction du risque. Quoique le présent projet ait essentiellement eu une vocation méthodologique, nous avons souhaité à titre illustratif présenter quelques potentialités d'utilisation du modèle en termes de gestion des risques. Ces résultats sont présentés dans l'**annexe 16**.

La dernière partie de l'appréciation des risques, *i.e.* l'intégration du calcul d'exposition avec une loi dose-réponse, pour estimer un risque n'était pas incluse dans le projet. Néanmoins, le modèle issu du consensus international FAO-OMS a été utilisé dans l'**annexe 16**. De plus, la question de la caractérisation du danger (virulence de *L. monocytogenes*) a été spécifiquement abordée au travers d'une étude relative à l'influence de la matrice « poissons fumés » sur l'expression de la virulence, présentée dans l'**annexe 17**.

3. Cas des rillettes

La 2^e étude de cas portait sur les rillettes industrielles vendues dans la grande distribution en France. Les données permettant d'estimer l'exposition ont été principalement obtenues à partir d'une enquête conduite auprès des fabricants de rillettes (caractéristiques physico-chimiques, prévalences et dénombrements de *L. monocytogenes*), d'une enquête de consommation et de résultats précédemment acquis dans nos laboratoires (tests de croissance, profils de températures au cours de la chaîne du froid).

Dans un premier temps, nous avons considéré uniquement la fréquence d'exposition, c'est-à-dire le produit de la fréquence de contamination par la fréquence de consommation. Ces résultats sont présentés dans l'**annexe 18**.

Les niveaux d'exposition et les risques ont ensuite été calculés, mais sous réserve de nombreuses hypothèses, liées au manque de données. Ces résultats sont présentés dans l'**annexe 19**.

Il est donc possible de modéliser approximativement l'exposition à *L. monocytogenes* à partir de données pré-existantes. Cependant, les résultats sont moins précis qu'à partir de données spécifiquement acquises.

4. Conclusion

L'appréciation quantitative des risques est un outil à destination des gestionnaires du risque, recommandée par les instances internationales. Théoriquement, cet outil est puissant et devrait permettre de juger de l'importance de tel ou tel danger, de proposer les mesures de gestions les plus adéquates, voire de servir d'arbitre dans les échanges commerciaux, comme cela est actuellement prévu dans les accords internationaux. A ce jour, il reste relativement peu utilisé et des développements méthodologiques semblent encore nécessaires.

Ce projet avait essentiellement un objectif méthodologique et a en effet permis de caractériser, de développer et/ou de valider différentes méthodes (microbiologiques ou biométriques) :

- dénombrement de faibles taux de *L. monocytogenes* par filtration ;
- tests de vieillissement et de croissance ;
- typage de souches ;
- estimation d'une fréquence de contamination et de l'incertitude associée ;
- estimation par une procédure bayésienne des paramètres de croissance ;
- couplage de la modélisation thermique et de la microbiologie prévisionnelle ;
- simulations Monte Carlo à deux dimensions, séparant incertitude et variabilité ;
- analyses de sensibilité.

Par ailleurs, les trois études de cas abordées illustrent différents degrés de faisabilité de l'appréciation quantitative des risques. Même dans l'étude de cas la plus aboutie, celle sur le saumon fumé, les résultats ne permettent pas une estimation fiable du risque (forte incertitude et probable surestimation), mais cette estimation reste dans une dimension raisonnable et les conclusions concernant les principaux paramètres d'influence nous semblent valides. Ainsi, l'étape de conservation chez le consommateur serait l'étape critique en présence d'une plaque de saumon contaminée. Les mesures-clés pour la gestion du risque de listériose semblent donc être : d'une part la diminution de la fréquence de contamination, d'autre part la réduction des durées et/ou des températures de la conservation domestique. Cette conclusion est probablement extrapolable à tous les produits prêts à être consommés et permettant la croissance de *L. monocytogenes*.

5. Liste des publications du projet

5.1. Articles publiés ou sous presse dans des revues à comité de lecture

Bergis H. (2002). « Technologie de préparation du saumon fumé : incidence du froid sur le développement microbien » *Revue Générale du Froid*. 1028:30-34.

Cornu M., Bergis H., Miconnet N., Delignette-Muller M.L., Beaufort A. (2003). « Appréciation des risques microbiologiques : présentation générale et applications. » *Revue générale du froid*. 1032:33-42.

Gnanou Besse N., Audinet N., Beaufort A., Colin P., Cornu M., Lombard B. (2004). « A contribution to the improvement of *Listeria monocytogenes* enumeration method in smoked salmon. » *International Journal of Food Microbiology*. 91:119-127.

Miconnet N., Cornu M., Beaufort A., Rosso L., Denis J.B. (2005). « Uncertainty distribution associated with estimating a proportion in microbial risk assessment. » *Risk Analysis*. 25:39-48

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

Miconnet, N., Geeraerd, A., Van Impe, J., Rosso, L., Cornu M. (2005). « Reflections on the application of primary models to describe challenge tests conducted in/on food products. » *International Journal of Food Microbiology*. *International Journal of Food Microbiology*. 104:161-177.

Cornu M., Beaufort A., and the steering committee of the research project (2005). « Methodological developments in exposure assessment of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. » *Acta Horticulturae*. 674 :391-395.

Afchain A.L., Cornu M., Derens E., Guilpart J. (2005). « Statistical modelling of cold-smoked-salmon thermal profiles for risk assessment of *Listeria monocytogenes* ». *Acta Horticulturae*. 674: 383-388.

Delignette-Muller ML, Cornu M, Pouillot R, Denis J.-B. (2006). « Use of Bayesian inference in risk assessment : application to growth of *Listeria monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon. » *International Journal of Food Microbiology*. 106:195-208

Cornu, M., Beaufort, A., Rudelle S., Laloux L., Bergis H., Miconnet N., Serot T., Delignette-Muller M.L. (2006). « Effect of temperature, 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: 159-168.

Midelet-Bourdin, G., Leleu, G., Copin, S., Roche, S.M., Velge, P., & Malle, P. (2006). « Modification of the virulence-associated phenotype after growth of *Listeria monocytogenes* on food ». *Journal of Applied Microbiology*. 101:300-308.

Cornu M., Damerджи Y., Beaufort A. (2006). « Evaluation de l'exposition à *L. monocytogenes* : exemple du calcul de la fréquence d'exposition liée aux rillettes ». *Bulletin épidémiologique de l'Afssa*. 18:4-5.

Gnanou Besse N., Audinet N., Barre L., Cauquil A., Cornu M., Colin P. (2006). « Effect of the inoculum size on *Listeria monocytogenes* growth in structured media ». *International Journal of Food Microbiology*. 110:43-51.

Beaufort, A, S. Rudelle, N. Gnanou-Besse, M.T. Toquin, A. Kerouanton, H. Bergis, G. Salvat, M. Cornu. (en cours de révision). « Prevalence, characterization and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold smoked salmon. » *Letters in Applied Microbiology*.

5.2. Articles en cours de révision dans des revues à comité de lecture

Afchain A.L., Cornu M., Derens E., Guilpart J. (en révision). « Time-temperature models and microbial growth models for chilled food products: a review. » *Trends in food science and technology*.

Pouillot R., Miconnet N., Afchain A.L., Delignette-Muller M., Beaufort A., Rosso L., Denis J.B., Cornu M. (en révision). «Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in French cold-smoked salmon. I. Quantitative exposure assessment.» *Risk Analysis*.

5.3. Articles en préparation pour des revues à comité de lecture

Cornu M. et al. « Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in French cold-smoked salmon. II. Risk characterization. »

Kerouanton A. et al. « Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cold-smoked salmon »

Bergis H. et al. « Growth of *L. monocytogenes* in cold-smoked salmon. Thermal history and lag times. »

Derens E., E. Morelli, J. Guilpart, A.L. Afchain. « Study of comparison between two experimental protocols on thermal history of chilled products ».

5.4. Communications orales et affichées (posters) en congrès

Gnanou Besse N., N. Audinet and B. Lombard (2002). « A Contribution to the improvement of *L. monocytogenes* enumeration method. » The world of Microbes , 27 juillet-1 août 2002, Paris, France.

Gnanou Besse N, N. Audinet and B. Lombard (2002). « Development of a membrane filtration method for enumeration of *L. monocytogenes* in low concentration in smoked salmon. » Food Micro 2002, 18-23 août 2002, Lillehammer, Norvège.

Beaufort A, H. Bergis, A. Brisabois, M. Cornu, M.L. Delignette-Muller, N. Gnanou-Besse, L. Laloux, P. Malle, E. Morelli, R. Pouillot, G. Salvat (2002). « On-going project: towards an interdisciplinary description of the factors affecting exposure to *L. monocytogenes* in chilled products. » Working Group 3, COST 920, 7 et 8 mars 2002, RIVM, Netherlands. Poster.

Kérouanton A., M. Marault, A. Beaufort, J. Thibaudeau, M. Mével, A. Brisabois A. (2002). « Occurrence and Subtyping of *Listeria monocytogenes* isolates in smoked salmon. » FEMS Symposium on « The versatility of *Listeria* species », 10-11 octobre 2002, Izmir, Turquie.

Miconnet N., Cornu M, Denis J.B. et Rosso L. (2003). « Distribution d'incertitude d'une proportion. » Journées 2003 de la Société Française de Statistique, mai 2003. Communication orale.

Cornu M., Beaufort A., Rudelle S., Bergis H., Miconnet N., Serot T., Delignette-Muller M.L. (2003). « Growth of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. Comparison and validation of predictive models. » Fourth International Conference on Predictive Modelling in Foods, Quimper, juin 2003. Communication orale.

Delignette-Muller M.L., Baty F., Cornu M., Bergis H. (2003). « The effect of the temperature shift on the lag phase of *Listeria monocytogenes* ». Fourth International Conference on Predictive Modelling in Foods, Quimper, juin 2003. Communication orale.

Miconnet N., Delignette Muller M.L., Rosso L. and Cornu M. (2003). « Growth rate uncertainty and variability in quantitative risk assessment. » Fourth International Conference on Predictive Modelling in Foods, Quimper, juin 2003. Poster.

Kerouanton-Le Gall A., Marault M., Beaufort A., Cornu M., Rudelle S., Brisabois A. (2003). « Détection et caractérisation moléculaire de souches de *Listeria monocytogenes* isolées de saumon fumé en France. » Colloque de la Société Française de Microbiologie, Paris, 13-14 novembre 2003. Communication orale.

Cornu M., Pouillot R. (2004). « Taking into account variability and uncertainty in exposure assessment ». 5th ASEPT International Conference: *Listeria monocytogenes* and Risk Analysis, Laval, 17-18 mars 2004. Communication orale invitée.

Bergis H., Beaufort A., Cornu M., Rudelle S. (2004). « Variability of growth of *Listeria monocytogenes* in artificially contaminated cold-smoked salmon ». 5th ASEPT International Conference: *Listeria monocytogenes* and Risk Analysis, Laval, 17-18 mars 2004. Poster.

Delignette-Muller M.L., Cornu M., Pouillot R., Denis J.-B. (2004). « Use of Bayesian inference in risk assessment: application to *Listeria monocytogenes* growth in cold-smoked salmon ». COST Action 920 (Foodborne zoonoses: a co-ordinated foodchain approach), Working Group 3 (Quantitative risk assessment). Second meeting: Workshop on Data Needs in Risk Assessment. Pamplune, Espagne, 28-30 juin 2004. Poster.

Beaufort A., Rudelle S., Gnanou-Besse N., Toquin M.T., Bergis H., Cornu M. (2004). « Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon ». ISOPOL XV: International Symposium on Problems of Listeriosis. Uppsala, Suède, 12-15 septembre 2004. Poster.

Afchain A.L. , M. Cornu, E. Derens, J. Guilpart. (2005). « Statistical modelling of cold-smoked salmon thermal profiles for risk assessment of *Listeria monocytogenes* ». MODEL-IT: International Symposium on the application of modelling as an innovative technology in the agri-food chain. Leuven, Belgique, mai-juin 2005. Poster.

Cornu M., A. Beaufort et le comité du projet LmPR (2005). « Methodological developments in exposure assessment of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon ». MODEL-IT: International Symposium on the application of modelling as an innovative technology in the agri-food chain. Leuven, Belgique, mai-juin 2005. Poster

Beaufort A., Bergis H., Garry P, Cornu M. (soumis). « Appréciation quantitative du risque de listériose lors de la consommation de rillettes industrielles ». Soumis pour le Congrès de la SFM Mai-Juin 07.

6. Liste des membres du comité de projet

Anne-Laure AFCHAIN, Cemagref (actuellement Institut National de la Recherche Agronomique, Paris)

Annie BEAUFORT, Afssa Maisons-Alfort

Hélène BERGIS, Afssa Maisons-Alfort

Anne BRISABOIS, Afssa Maisons-Alfort

Graziella BOURDIN, Afssa Boulogne sur Mer

Marie CORNU, Afssa Maisons-Alfort

Marie Laure DELIGNETTE MULLER, Ecole Vétérinaire de Lyon, Marcy l'Etoile

Evelyne DERENS, Cemagref Antony

Jean-Baptiste DENIS, Institut National de la Recherche Agronomique Jouy-en-Josas

Philippe FRAVALO, Afssa Ploufragan

Nathalie GNANOU-BESSE, Afssa Maisons-Alfort

Annaëlle KEROUANTON, Afssa Maisons-Alfort

Laurent LALOUX, Afssa Maisons-Alfort

Pierre MALLE, Afssa Boulogne sur Mer

Elisabeth MORELLI, Afssa Maisons-Alfort

Régis POUILLOT, Afssa (actuellement centre Pasteur de Yaounde, Cameroun)

Laurent ROSSO, Afssa Maisons-Alfort

Gilles SALVAT, Afssa Ploufragan

Remerciements à l'ensemble des collègues, partenaires et étudiants ayant de près ou de loin contribué à ce projet.

7. Liste des annexes

1. Cornu M., Bergis H., Miconnet N., Delignette-Muller M.L., Beaufort A. (2003). « Appréciation des risques microbiologiques : présentation générale et applications. » <i>Revue générale du froid.</i> 1032:33-42.	13
2. Cornu M., Beaufort A., and the steering committee of the research project (2005). « Methodological developments in exposure assessment of <i>Listeria monocytogenes</i> in cold-smoked salmon. » <i>Acta Horticulturae.</i> 674 :391-395.	23
3. Beaufort A., Rudelle S., Gnanou-Besse N., Toquin M.T., Kerouanton A., Bergis H., Salvat G, Cornu M. (sous presse). « Prevalence and growth of <i>Listeria monocytogenes</i> in naturally-contaminated cold-smoked salmon ». <i>Letters in applied microbiology.</i>	28
4. Miconnet N., Cornu M, Denis J.B. et Rosso L. (2003) « Distribution d'incertitude d'une proportion. » Journées 2003 de la Société Française de Statistique, mai 2003. pp. 705-708.	36
5. Gnanou Besse N., Audinet N., Beaufort A., Colin P., Cornu M., Lombard B. (2004). « A contribution to the improvement of <i>Listeria monocytogenes</i> enumeration method in smoked salmon. » <i>International Journal of Food Microbiology.</i> 91:119-127.....	40
6. Kerouanton-Le Gall A., Marault M., Beaufort A., Cornu M., Rudelle S., Brisabois A. (2003). « Détection et caractérisation moléculaire de souches de <i>Listeria monocytogenes</i> isolées de saumon fumé en France. » Colloque de la Société Française de Microbiologie, Paris, 13-14 novembre 2003. Communication orale.	49
7. Annexe relative au suivi de la température, d'Anne-Laure Afchain (2005)	50
8. Afchain A.L., Cornu M., Derens E., Guilpart J. (2005). « Statistical modelling of cold-smoked-salmon thermal profiles for risk assessment of <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> ». <i>Acta Horticulturae.</i> 674: 383-388.....	54
9. Bergis H. (2002). «Technologie de préparation du saumon fumé : incidence du froid sur le développement microbien » <i>Revue Générale du Froid.</i> 1028:30-34.	60
10. Cornu, M., Beaufort, A., Rudelle S., Laloux L., Bergis H, Miconnet N., Serot T., Delignette-Muller M.L. (2006). « Effect of temperature, water-phase salt and phenolic contents on <i>Listeria monocytogenes</i> growth rates on cold-smoked salmon and evaluation of secondary models. » <i>International Journal of Food Microbiology.</i> 106: 159-168.....	65
11. Delignette-Muller, M.L., Baty, F., Cornu, M., Bergis, H. (2005). « Modelling the effect of a temperature shift on the lag phase duration of <i>Listeria monocytogenes</i> » <i>International Journal of Food Microbiology.</i> 100:77-84.....	75
12. Miconnet, N., Geeraerd, A., Van Impe, J., Rosso, L., Cornu M. (2005). « Reflections on the application of primary models to describe challenge tests conducted in/on food products. » <i>International Journal of Food Microbiology.</i> <i>International Journal of Food Microbiology.</i> 104:161-177.....	83
13. Gnanou Besse N., Audinet N., Barre L., Cauquil A., Cornu M., Colin P. (2006). « Effect of the inoculum size on <i>Listeria monocytogenes</i> growth in structured media ». <i>International Journal of Food Microbiology.</i> 110:43-51.	100
14. Bergis H., Beaufort A., Cornu M., Rudelle S. (2004). « Variability of growth of <i>Listeria monocytogenes</i> in artificially contaminated cold-smoked salmon ». <i>5th ASEPT International Conference: Listeria monocytogenes and Risk Analysis</i> , Laval, 17-18 mars 2004. Poster.....	109
15. Delignette-Muller ML, Cornu M, Pouillot R, Denis J.-B. (2006). « Use of Bayesian inference in risk assessment : application to growth of <i>Listeria monocytogenes</i> and food flora in cold-smoked salmon. » <i>International Journal of Food Microbiology.</i> 106: 195-208	110

> Sommaire

16. Pouillot R. (2006).	
« Chapitre IV : Appréciation quantitative de l'exposition à <i>Listeria monocytogenes</i> par consommation de saumon fumé à froid en France ». In Pouillot R. « Appréciation quantitative des risques en hygiène des aliments : développements et mises en œuvre pour la prise en compte des recommandations internationales. »	
Thèse de doctorat de la Faculté de médecine Paris Sud, Université Paris XI. 29 septembre 2006.....	124
17. Midelet-Bourdin, G., Leleu, G., Copin, S., Roche, S. M., Velge, P., & Malle, P. (2006).	
« Modification of the virulence-associated phenotype after growth of <i>Listeria monocytogenes</i> on food ». <i>Journal of Applied Microbiology</i> . 101:300-308.	155
18. Cornu M., Damerdjy Y., Beaufort A. (2006).	
« Évaluation de l'exposition à <i>L. monocytogenes</i> : exemple du calcul de la fréquence d'exposition liée aux rillettes ». <i>Bulletin épidémiologique de l'Afssa</i> . 18:4-5.....	164
19. Beaufort A., Bergis H., Garry P, Cornu M. (soumis).	
« Appréciation quantitative du risque de listériose lors de la consommation de rillettes industrielles ». Soumis pour le Congrès de la SFM Mai-Juin 07.....	166

Nous remercions les éditions Elsevier, Blackwell Publishing, the Society for Applied Microbiology, l'Association Française du Froid, la Société Française de Microbiologie, la Société Française de Statistique, et l'ASEPT de nous avoir autorisés à reproduire dans ce rapport les articles mentionnés ci-dessus.

27-31, avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS-ALFORT cedex
www.afssa.fr

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE