



Original paper

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Etude de l'impact de la variation de la température sur les activités microbiennes : application à une population de *Listeria monocytogenes* CIP 7831, *Listeria monocytogenes* Scott A CIP 103575 et *Escherichia coli* ATCC 25922

Ange Privat AHOUSSOU^{1*}, Solange LOKO² et Jean BIEMI³

¹Laboratoire de Chimie Physique, Université Félix HOUPHOUET, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Chimie et de Microbiologie, Université Technologique et Tertiaire LOKO (UTT LOKO), 05 BP 671 Abidjan 05, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Eau et de l'Environnement, Université Félix HOUPHOUET, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

* Auteur correspondant, E-mail : angeahoussou@hotmail.com; Tél. (+225)05995454.

RESUME

La sécurité sanitaire est un objectif incontournable pour les professionnels de l'agroalimentaire. Pour ce faire, ils doivent, pour chaque procédé de fabrication, pratiquer une démarche d'analyse des dangers et mettre en œuvre des mesures de prévention pertinentes. Cette approche, appliquée dans son intégralité, nécessite un travail long et fastidieux et demande des personnels hautement qualifiés. Il est désormais nécessaire de dépasser les approches descriptives et de renforcer les approches quantitatives et/ou de modélisation qui répondent donc à la fois aux évolutions internes à la science, au développement des technologies et à des demandes fortes de la société. C'est dans ce contexte que nous avons réalisé une étude de l'influence de la variation de la température sur les activités microbiennes. Elle concerne la réponse à une hausse de la température sur trois souches : *Listeria monocytogenes* CIP 7831, *Listeria monocytogenes* Scott A CIP 103575 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Elle consiste en la modélisation de la mortalité induite par une hausse de température. Les résultats ont permis de mettre en évidence la nécessité d'un contrôle strict de la température de stress choisie et de proposer une procédure graphique de choix d'une hausse modérée de la température à appliquer à *Listeria monocytogenes* CIP 7831, pour obtenir un nombre fixé de bactéries survivantes.

© 2013 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Microbiologie alimentaire, Sécurité alimentaire, Infections bactériennes, Modélisation mathématique, Biométrie.

INTRODUCTION

Les aliments destinés à la consommation humaine peuvent être à la fois de simples vecteurs de microorganismes, mais aussi des milieux favorables au

développement des bactéries (Haeghebaert et al., 2002). Ce développement peut avoir des conséquences redoutables par leur incidence sur la santé des consommateurs et par les pertes alimentaires occasionnées (Bourgeois et

© 2013 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v7i1i.25>

al., 1996 ; Cornu, 2003). Pour remédier à cela, des techniques ancestrales dont les principes reposent soit sur la destruction de microorganismes (par exemple la chaleur), soit sur l'inhibition de croissance (par exemple, par acidification ou par réduction de la teneur en eau) sont toujours utilisées (Roberts, 1995). Elles permettent de limiter à la fois l'altération des aliments et la croissance des microorganismes pathogènes. Aujourd'hui, l'évolution des pratiques d'élevage et de culture, les nouveaux procédés de fabrication, de distribution et de commercialisation ainsi que les nouveaux produits font apparaître de nouveaux dangers pour le consommateur (Cerf et al., 2006). Il est important de mettre en place une approche prédictive et/ou de modélisation permettant de prévoir la présence et l'influence d'agents pathogènes divers dans les produits alimentaires: bactéries, mycotoxines, xénobiotiques, spores, etc. (Baranyi et Roberts, 1995 ; Oscar, 2002 ; Ferrer et al., 2009). C'est dans cette optique que nous avons contribué à l'étude de l'impact de la variation de la température sur les activités microbiennes : application à une population de *Listeria monocytogenes* CIP 7831, *Listeria monocytogenes* Scott A CIP 103575 et *Escherichia coli* ATCC 25922. La présente étude vise à caractériser les effets d'une variation défavorable de température sur une population bactérienne. Plus spécifiquement, il s'agit de décrire l'effet d'un traitement modéré sur une population bactérienne en vue d'apporter une aide au microbiologiste alimentaire dans son choix d'un traitement thermique modéré le plus performant.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

L'étude de la réponse à une augmentation de température a été menée sur trois souches dont *Listeria monocytogenes* CIP 7831, *Listeria monocytogenes* Scott A CIP 103575 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ces souches ont été conservées à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans du bouillon cœur cerveau supplémenté par 10% v/v de glycérol. Deux pré-cultures de 24 h à $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ sur gélose columbia enrichies avec 5% sang de mouton ont été réalisées pour chaque souche avant chaque manipulation. Toutes les cinétiques de mortalité et de recroissance ont été réalisées dans du Bouillon Trypcase Soja (BTS). Les étalements permettant d'effectuer ultérieurement les dénombrements ont été réalisés sur milieu Columbia gélosé coulé en boîte de pétri de 9 cm de diamètre. L'application d'une hausse de la température à la population bactérienne a été réalisée en milieu liquide (BTS) dans un flacon de type erlenmeyer. Le doigt de gant de ce flacon a permis la mesure de sa température interne. La fermeture du flacon par un joint de silicone a facilité la mise en place d'aiguilles spinales garantissant la stérilité des ensemencements. La gestion de la température du BTS dans le flacon a été assurée par son immersion dans un bain-marie muni d'un thermostat Polystat µcropros avec une précision de $\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'agitation de la suspension bactérienne se fait à l'aide d'un agitateur magnétique placé sous le bain-marie. Les cinétiques de recroissance des survivants ont été suivies par mesure de la densité optique. L'augmentation de la biomasse microbienne accompagnant la croissance d'une population bactérienne entraîne l'opacification du milieu de culture de telle sorte que seule une partie de l'intensité du rayon lumineux incident est transmise par ce milieu. Pour cette étude, l'appareil URIMAT ATB 1350 a été utilisé. La longueur d'onde de la diode émettrice de cet appareil est de 950 nm. Cet appareil est constitué d'un microprocesseur et de deux étuves thermostatées avec une précision de $\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Le suivi de la cinétique de recroissance se fait dans des ampoules stériles contenant du BTS puis la suspension bactérienne. L'ampoule est ensuite placée dans une étuve.

Méthodes

L'inoculum a été préparé à partir des pré cultures incubées à la température avant stress (Tas). La phase stationnaire atteinte, ces colonies ont été mises en suspension dans du BTS placé à Tas. La densité bactérienne de l'inoculum est ajustée à 3.10^8 ufc/ml par néphélogéométrie. Pour garantir l'homogénéisation de la température de l'inoculum à Tas, 25 ml de celui-ci ont été injectés, à l'aide d'une aiguille spinale pré-installée, dans 225 ml de BTS maintenus à Tas dans un erlenmeyer. Dans cet erlenmeyer, la densité bactérienne était alors approximativement de 3.10^7 ufc/ml. Après cinq minutes d'agitation, 25 ml de la suspension bactérienne placée à Tas ont été injectés dans 225 ml de BTS maintenus à la température de stress Ts. Régulièrement, 4,5 ml de la suspension bactérienne placée à Ts ont été prélevés. Ces prélèvements ont permis de faire varier la durée de stress, c'est-à-dire la durée de séjour de la population bactérienne à la température de stress. La période de prélèvement, sur une durée de stress maximale de 120 minutes, a été choisie en fonction de la température de stress étudiée, à l'exception de trois manipulations où la durée de stress maximale est supérieure à 120 minutes pour permettre l'observation du phénomène dans sa globalité. La méthode du dénombrement sur boîtes de Pétri a été utilisée pour obtenir la cinétique de mortalité. Cette méthode consiste àensemencer du milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri par une dilution de l'aliquote prélevé. Les facteurs de dilution ont été choisis pour obtenir entre 30 et 300 colonies par boîte. C'est en effet dans cet intervalle que les erreurs de dénombrement dues à une confluence des colonies ou à l'échantillonnage sont minimisées (Caillon et Dugeon, 1990). L'hypothèse sous jacente à cette méthode de dénombrement est qu'un microorganisme déposé sur le milieu gélosé est à l'origine d'une colonie dénombrée. Pour chaque dilution, deux boîtes de Pétri ont été

ensemencées. Une fois ensemencées, ces boîtes ont été placées 72 heures dans une étuve à 35 °C. Les colonies ont été dénombrées, après 24 heures et 72 heures d'incubation, à l'aide d'un compteur de colonies. La quantité dénombrée est exprimée en unités formant colonie (ufc). Les 4 ml restants de l'aliquote prélevé ont été injectés dans une ampoule URIMAT stérile. De ces 4 ml, 2 ml ont été prélevés et dilués au demi dans une ampoule URIMAT contenant 2 ml de BTS. Cette opération de dilution au demi a été répétée quatre fois. Pour chaque durée de stress, cinq cinétiques de recroissance ont donc été obtenues :

- une pour l'aliquote non diluée, - une pour l'aliquote diluée au demi, -une pour l'aliquote diluée au quart, -une pour l'aliquote diluée au huitième, - une pour l'aliquote diluée au seizième.

Ces dilutions effectuées, les ampoules ont été placées à Tps dans l'URIMAT. La lecture périodique de la densité optique de la suspension bactérienne a permis la mesure de l'évolution de la biomasse des survivants. La période de lecture a été établie en fonction de la température de stress étudiée, le nombre de lectures étant fixé par le système (60 lectures).

La manipulation témoin a consisté à appliquer à une population bactérienne une hausse de température telle que les températures Tas, Ts et Tps soient identiques. Les phases de latence et de croissance exponentielle des survivants ont été suivies par lecture de la densité optique de la suspension bactérienne. Pour chaque température de stress et chaque durée de stress, la lecture par l'URIMAT de la croissance exponentielle des survivants, a permis l'estimation des paramètres de la droite reliant le logarithme népérien de la DO au temps. Cinq cinétiques de recroissance ont été suivies. Ainsi, pour chaque durée de stress, cinq estimations du temps de latence ont été réalisées. L'objectif de l'étude étant de décrire mathématiquement la réponse d'une

population bactérienne à une hausse de la température, en vue d'applications agroalimentaires, il semble plus intéressant de se placer dans le cas de la plus grande résistance des microorganismes, c'est-à-dire dans le cas d'un inoculum en phase stationnaire de croissance. La méthode statistique employée est celle du rééchantillonnage dénommée le Jackknife (Fox et al., 1980 ; Shao, 1995 ; Berger et Skinner, 2003; Berger et Skinner, 2005; Berger et Rao, 2006). Nous avons utilisé les logiciels SYSTAT et XLSTAT. Ces logiciels ont permis de faire la régression non-linéaire (Tomassone et al., 1993 ; Antoniadis et al., 1999), d'évaluer l'ajustement des modèles (Beale, 1960 ; Bates et Watts, 1988), ainsi que la régression segmentée (Hudson, 1966 ; Feder, 1975).

RESULTATS ET DISCUSSION

Effet de la durée du stress sur la mortalité microbienne induite par une hausse de la température

Il s'agit de décrire la mortalité des souches lorsqu'on les soumet à une température de stress pendant un temps donné (0 à 120 mn). La courbe de survie est obtenue en représentant le logarithme d'ufc/ml en fonction de la durée d'exposition à la condition environnementale non viable, température de stress T_s . Le logarithme d'ufc/ml a été estimé par la méthode de dénombrement sur boîte de Pétri. Les profils de courbe de survie observés pour chaque couple (souche, température de stress) ont été répertoriés dans le Tableau 1. Les résultats montrent que dans 19 cas sur 26, une courbe de survie non linéaire a été observée (Tableau 1). Pour les jeux de données de *Listeria monocytogenes* Scott A et CIP, une grande variabilité des profils de courbe de survie en fonction de la température de stress a été observée.

Les courbes de survie convexes sont biphasées et quatre paramètres semblent suffisants pour les décrire (Figure 1) :

- l'effectif de la population pour une durée de stress nulle,
- le taux de mortalité pendant la première phase,
- la longueur de la première phase,
- le taux de mortalité pendant la deuxième phase.

Les courbes de survie concaves sont également biphasées et trois paramètres semblent suffisants pour les décrire (Figure 2):

- l'effectif de la population pour une durée de stress nulle,
- le taux de mortalité pendant la première phase,
- la longueur de la première phase.

Les résultats indiquent qu'il est possible de décrire les courbes de survie sigmoïdes à l'aide de cinq paramètres qui correspondent à ceux cités pour la description des courbes concaves et convexes (Figure 3).

Etant donné le faible nombre de points expérimentaux par courbe de survie, un modèle complet discontinu d'ordre 1, inspiré du modèle de Buchanan et al. (1996) a été proposé :

$$Log_{10}x = \begin{cases} Log_{10}x_0 + k_0d_s & \text{si } d_s < \lambda_m \\ Log_{10}x_0 + k_0\lambda_m + k(d_s - \lambda_m) & \text{si } \lambda_m \leq d_s < d_m \\ Log_{10}x_0 + k_0\lambda_m + k(d_m - \lambda_m) & \text{si } d_s \geq d_m \end{cases} \dots\dots\dots (Eq.1)$$

avec λ_m : temps de latence à la mortalité ; k_0 : taux initial de mortalité ; k : taux maximal de mortalité ; d_m : durée de mortalité ; x_0 : inoculum ; d_s : durée de stress, variable de contrôle.

Le modèle complet (Eq.1) est non linéaire, et peut être décrit par le modèle statistique de régression non linéaire. Il comporte cinq paramètres détenant une signification biologique. Sous différentes contraintes appliquées au modèle (Eq.1), il en résulte des modèles dégénérés des courbes de survie (Tableau 2). L'ensemble des évaluations réalisées permet de considérer que le modèle (Eq.1) ainsi que ses formes dégénérées, malgré une description simpliste des transitions, a permis des descriptions

satisfaisantes des différentes courbes de survie observées après une hausse modérée de la température.

Effet de l'amplitude du stress sur les courbes de survie

Le modèle primaire (Eq.1) a permis la description de l'effet de la durée de stress sur la concentration bactérienne. L'influence de l'amplitude du stress est étudiée dans un premier temps par la construction de modèles secondaires de description des relations entre les paramètres des courbes de survie et l'amplitude du stress. Dans un deuxième temps l'effet de la durée de stress et de l'amplitude du stress sur la concentration bactérienne est décrit. Pour les trois jeux de données (*L. monocytogenes* CIP, T_s , *L. monocytogenes* Scott A, T_s et *E. coli* ATCC, T_s), la valeur du taux de mortalité estimé augmente en valeur absolue avec la température de stress. Bigelow et Esty (1920) ont proposé une relation exponentielle pour décrire l'évolution du taux de mortalité en fonction de hausses de température de forte amplitude. L'adéquation de ce modèle pour la description de la relation entre le taux de mortalité et la température de stress, dans le cas de hausses modérées de la température, a été évaluée. La grande variabilité interne au jeu de données (*E. coli* ATCC, T_s) (Figure 4) et le petit nombre de points du jeu de données (*L. monocytogenes* Scott A, T_s) ont conduit à ne tester l'adéquation du modèle proposé par Bigelow et Esty (1920) que pour le jeu de données (*L. monocytogenes* CIP, T_s):

$$k = a \times 10^{\frac{T_s}{Z}} \quad (\text{Eq.6})$$

L'ajustement du modèle (Eq.6) au jeu de données (*L. monocytogenes* CIP, T_s) est présenté sur la Figure 5. La qualité d'ajustement de ce modèle (Eq.6) a été évaluée visuellement comme satisfaisante (Figure 5).

Une diminution selon une tendance linéaire est observée (Figure 6).

L'ajustement d'une droite, modèle (Eq.7) au nuage de points a été réalisé :

$$\lambda_m = c_1 + c_2 T_s \quad (\text{Eq.7})$$

A l'issue de l'étape d'évaluation de l'ajustement et relativement aux nombres de points expérimentaux et à l'amplitude des intervalles de confiance sur le temps de latence à la mortalité, il a été considéré que le modèle (Eq.7) permet une description satisfaisante de la relation entre le temps de latence à la mortalité et la température de stress.

Application à la microbiologie alimentaire

L'application de hausses modérées de la température induit fréquemment des courbes de survie non linéaires pour lesquelles le taux de mortalité dépend de la température et de la durée de stress. Ainsi donc, la description mathématique de l'évolution du logarithme de la concentration bactérienne, permet de suggérer une méthode de choix des caractéristiques d'une hausse modérée de la température. Par conséquent, un petit écart de température suffit pour induire un écart important entre les logarithmes du nombre de survivants observé et théorique et ceci indépendamment du modèle utilisé pour décrire l'évolution de l'effectif bactérien en fonction de d_s et T_s . En effet, pour une durée de stress de 120 minutes, il y a un écart de 0,32 °C entre les courbes de niveau -6 et -5 et un écart de 0,37 °C entre les courbes de niveau -5 et -4 quel que soit le modèle considéré (Figure 7). L'écart de température entre les niveaux -6 et -5 d'une part et entre les niveaux -5 et -4 d'autre part apparaît constant quelle que soit la durée de stress (Figure 8).

Tableau 1: Répartition des profils de courbes de survie observés en fonction de la souche et des températures de stress (Ts) étudiées.

	Ts (°C)	Courbe convexe	Courbe concave	Courbe linéaire	Courbe sigmoïde
<i>L. monocytogenes</i> CIP 7831	50; 52; 53; 54; 55; 56; 56,5; 57; 57,5; 58; 58,5; 59; 60	53 à 58 °C sauf 57,5 °C		50; 52; 59; 60 °C	57,5 °C; 58,5 °C
<i>L. monocytogenes</i> Scott A CIP 103575	50; 54; 57; 59	50 °C	59 °C	46; 54; 57 °C	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	49; 50; 50,5; 51; 51,5; 52; 52,5; 53		49 à 53 °C		

Tableau 2: Modèles dégénérés des courbes de survie.

Courbe de survie	Contrainte	Modèle
Convexe	Max(ds) < d _m	$\text{Log}_{10}x = \begin{cases} \text{Log}_{10}x_0 + k_0d_s & \text{si } d_s < \lambda_m \\ \text{Log}_{10}x_0 + k_0\lambda_m + k(d_s - \lambda_m) & \text{si } d_s \geq \lambda_m \end{cases} \quad (\text{Eq.2})$
Convexe	Pas de décroissance de l'effectif pendant la première phase	$\text{Log}_{10}x = \begin{cases} \text{Log}_{10}x_0 & \text{si } d_s < \lambda_m \\ \text{Log}_{10}x_0 + k_0\lambda_m + k(d_s - \lambda_m) & \text{si } d_s \geq \lambda_m \end{cases} \quad (\text{Eq.3})$
concave	Le temps de latence à la mortalité, m, est fixé à 0	$\text{Log}_{10}x = \begin{cases} \text{Log}_{10}x_0 + kd_s & \text{si } d_s < d_m \\ \text{Log}_{10}x_0 + kd_m & \text{si } d_s \geq d_m \end{cases} \quad (\text{Eq.4})$
sigmoïde	Le taux de mortalité initial, k ₀ = 0	$\text{Log}_{10}x = \begin{cases} \text{Log}_{10}x_0 & \text{si } d_s < \lambda_m \\ \text{Log}_{10}x_0 + k(d_s - \lambda_m) & \text{si } \lambda_m \leq d_s < d_m \\ \text{Log}_{10}x_0 + k(d_m - \lambda_m) & \text{si } d_s \geq d_m \end{cases} \quad (\text{Eq.5})$

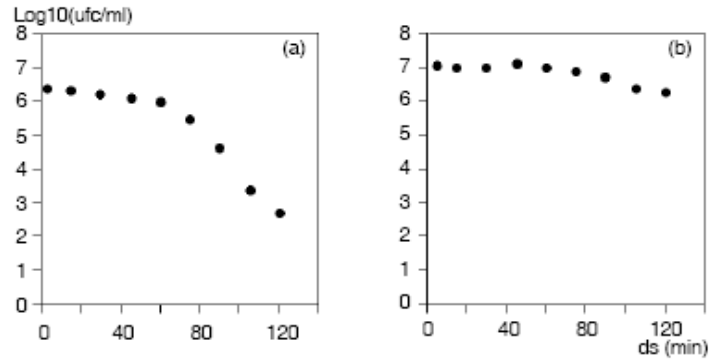


Figure 1: Courbes de survie convexes obtenues au laboratoire. (a): *L. monocytogenes* CIP 7831, Ts = 56,5 °C; (b): *L. monocytogenes* Scott A, Ts = 50 °C.

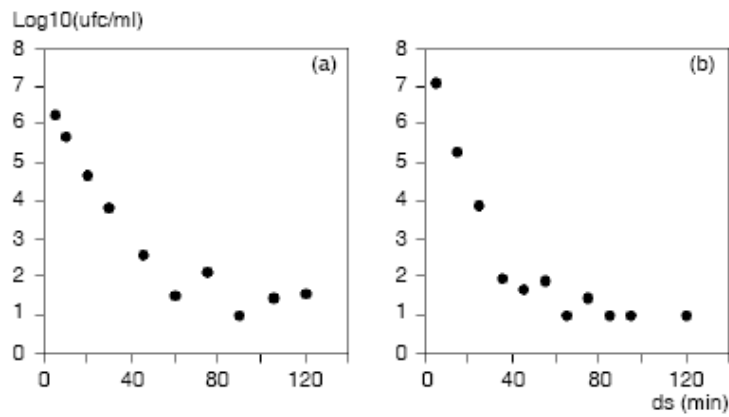


Figure 2 : Courbes de survie concaves induites par une hausse de la température, observées au laboratoire. (a): *E. coli* ATCC 2592 Ts = 50 °C. (b) : *L. monocytogenes* Scott A, Ts = 59 °C.

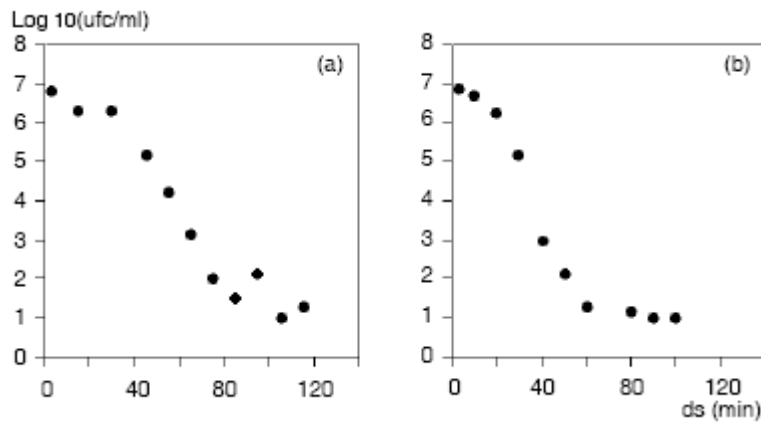


Figure 3: Courbes de survie sigmoïdes induites par une hausse de la température, observées au laboratoire. (a): *L. monocytogenes* CIP, Ts = 57,5 °C. (b) : *L. monocytogenes* CIP, Ts = 58,5 °C.

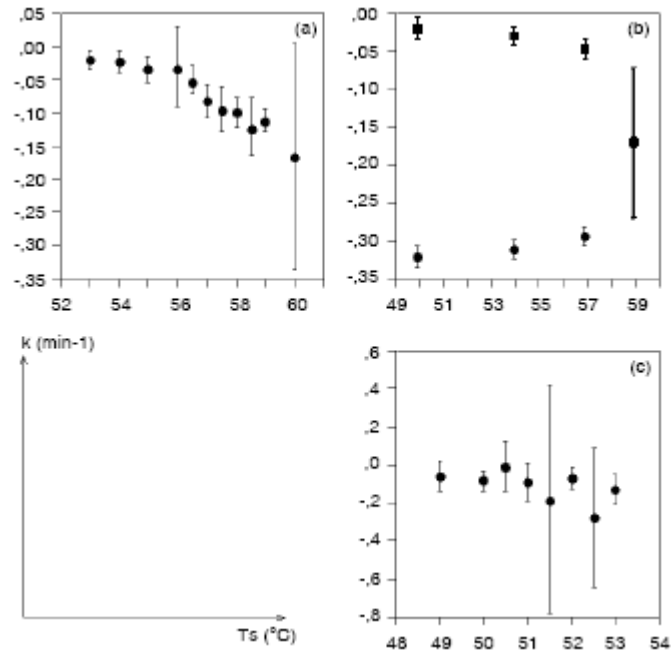


Figure 4: Evolution du taux de mortalité en fonction de la température de stress. (a) : *Listeria monocytogenes* CIP 7831. (b) : *Listeria monocytogenes* Scott A. (c) : *Escherichia coli* ATCC 25922. Les barres verticales symbolisent les intervalles de confiance à 95% calculés par la méthode du Jackknife.

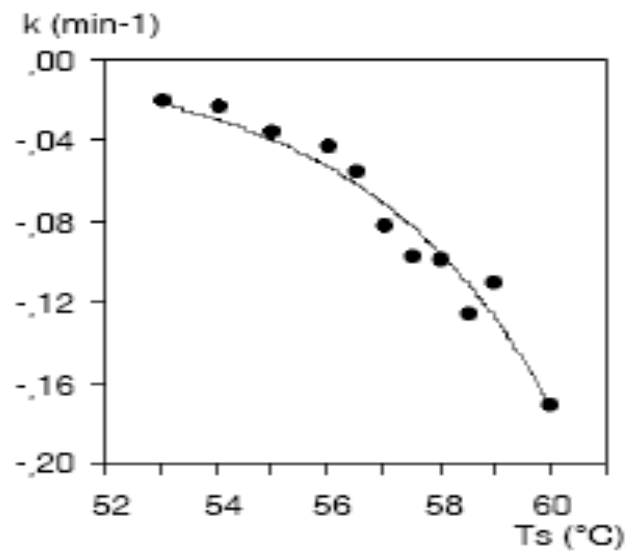


Figure 5: Ajustement du modèle (Eq.6) à l'évolution du taux de mortalité en fonction de la température de stress. Jeu de données (*L. monocytogenes* CIP, Ts).

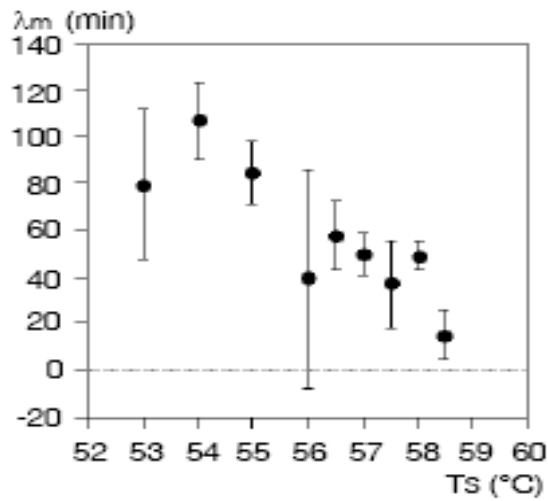


Figure 6: Evolution du temps de latence à la mortalité en fonction de la température de stress. Cas de *Listeria monocytogenes* CIP. Les barres verticales symbolisent les intervalles de confiance à 95%, calculés selon la théorie du Jackknife.

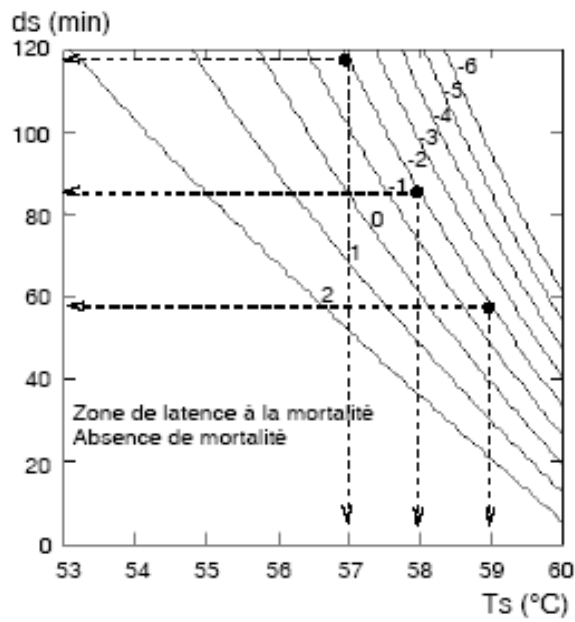


Figure 7: Courbes de niveau obtenues par coupe, selon les plans perpendiculaires à l'axe représentant $\text{Log}_{10}(\% \text{ survivants})$, de la surface simulée à l'aide du modèle [$\text{Log}_{10}(x)$ vs (ds, Ts)].

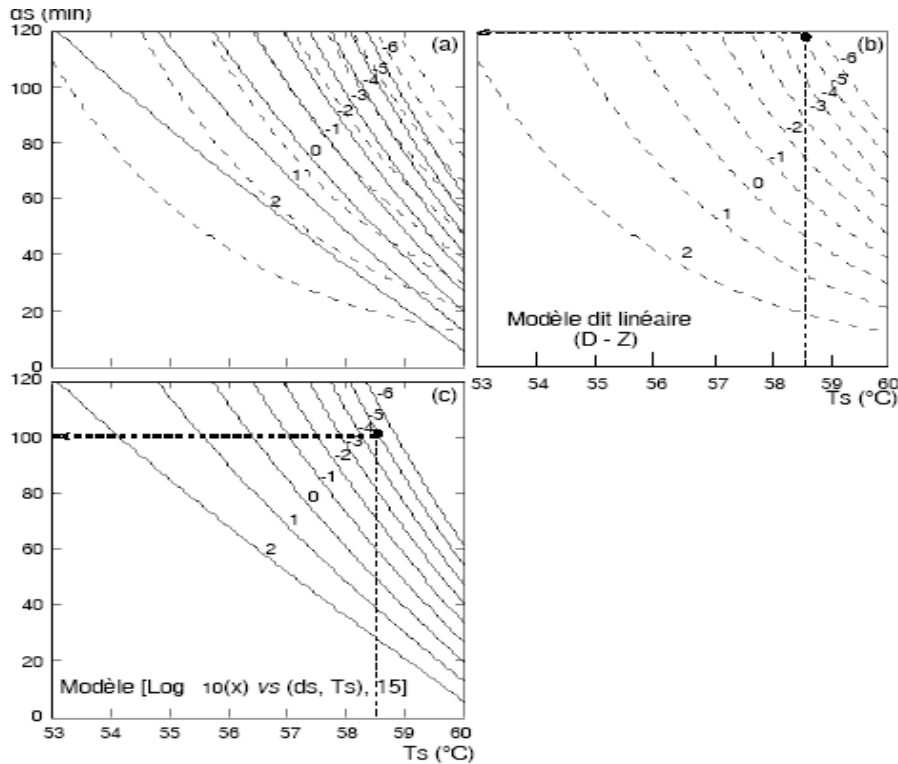


Figure 8: Superposition des courbes de niveau obtenues par coupe de la surface théorique simulée par le modèle $[\text{Log}_{10}(x) \text{ vs } (ds, Ts)]$ (trait plein) ou par coupe de la surface simulée par le modèle linéaire (trait pointillé).

Le niveau auquel la surface a été coupée est indiqué sur la courbe correspondante. Le passage d'une courbe à l'autre traduit la réduction d'un facteur 10 de l'effectif initial. Par exemple, si la cible d'un traitement thermique est de réduire de 4 unités Log l'effectif bactérien, à 58 °C, 85 minutes sont nécessaires ; réciproquement si la durée est fixée à 85 minutes une température de 58 °C est nécessaire. Cet objectif peut également être atteint en appliquant une hausse de température de caractéristiques 59 °C et 60 minutes ou 57 °C et 120 minutes. La Figure 8a indique que les niveaux (de -6 à 2) indiqués sur le graphe sont valables pour les courbes de niveau en pointillés et celles en trait plein. Pour une température de stress fixée à 58,5 °C, 120 minutes de traitement sont nécessaires pour diminuer l'effectif initial de 7 unités Log

si la non linéarité des courbes de survie n'est pas prise en compte (Figure 8b). Par ailleurs, la Figure 8c indique que 100 minutes de traitement à 58,5 °C sont nécessaires si la non linéarité des courbes de survie est prise en compte dans les modèles mathématiques (c). Considérons l'exemple de *Listeria monocytogenes* CIP qui à 4 °C, température de réfrigération, a un taux de croissance de l'ordre de 0,022 h⁻¹. En faisant l'hypothèse d'absence d'effet inoculum sur le temps de latence, un raccourcissement de l'ordre de quatre jours du temps de seuil pourrait être obtenu s'il existe un écart d'une unité, en logarithme de base dix d'ufc/ml, entre le nombre de survivants ciblé et observé. Le temps de seuil est le temps nécessaire à la population bactérienne pour atteindre un effectif seuil donné. Or en pratique, il semble

impossible de contrôler des écarts si minimes de température, d'autant plus qu'au sein d'un aliment la température n'est pas uniforme, notamment entre le cœur de l'aliment et sa surface. La modélisation de l'évolution du logarithme du nombre de survivants en fonction des durées et température de stress a ainsi permis de détecter le risque d'un écart important entre les nombres de survivants observé et théorique en l'absence d'un contrôle draconien de la température. Ce risque est une contrainte supplémentaire à prendre en compte lors du choix de la hausse de température la plus appropriée mais également lors du déroulement du procédé de fabrication. Il semble par exemple nécessaire d'utiliser des outils très sensibles de contrôle d'évolution de la température.

Conclusion

La sécurité sanitaire est un objectif incontournable pour les professionnels de l'agroalimentaire. Pour ce faire, ils doivent, pour chaque procédé de fabrication, pratiquer une démarche d'analyse des dangers et mettre en œuvre des mesures de prévention pertinentes. Cette approche, appliquée dans son intégralité, nécessite un travail important. Par conséquent, une nouvelle approche complémentaire mériterait d'être développée. C'est dans ce contexte, que nous proposons la modélisation de la mortalité induite par une hausse de la température. Ce travail a permis de mettre en évidence la nécessité d'un contrôle strict de la température de stress choisie. De légères variations de la température peuvent en effet provoquer un écart important entre le nombre réel de bactéries survivantes et le nombre désiré.

REFERENCES

- Antoniadis A, Berruyer J, Carmona R. 1999. *Régression Non Linéaire et Applications*. Economica: Paris.
- Baranyi J, Roberts TA. 1995. Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, **26**: 199-218.
- Bates DM, Watts DG. 1988. *Nonlinear Regression Analysis and its Applications*. John Wiley and Sons: New York.
- Beale EML. 1960. Confidence regions in nonlinear estimations. *Journal of the Royal Statistics Society*, **22B**: 41-88.
- Berger YG, Skinner CJ. 2003. Variance estimation for a low income proportion. *Applied Statistics*, **52**: 457-468.
- Berger YG, Skinner CJ. 2005. A jackknife variance estimator for unequal probability sampling. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, **67**: 79-89.
- Berger YG, Rao JNK. 2006. Adjusted jackknife for imputation under unequal probability sampling without replacement. *Journal of the Royal Statistical Society Series B*, **68**: 531-547.
- Bigelow WD, Esty JR. 1920. The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. *Journal of Infectious Diseases*, **27**: 602-617.
- Bourgeois C, Mescle JF, Zucca J. 1996. *Microbiologie Alimentaire* (Tome I). *Aspect Microbiologique de la Sécurité et de la Qualité des Aliments*. Ed Lavoisier: Paris.
- Buchanan RL, Whiting RC, Damert WC. 1996. When is simple good enough. Comparison of the Baranyi, the Gompertz and three linear models for fitting bacterial growth curves. International Conference on Predictive Microbiology, Hobart.
- Caillon J, Drugeon H. 1990. Dénombrement des bactéries vivantes. In *Bactéricidie*, Courvalin P, Drugeon H, Flandrois J-P, Goldstein F (eds). Maloine: Paris.
- Cerf O, Eliasiewicz M, Lahellec C. 2006. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire en France et dans les pays industrialisés. In *La Maîtrise des Maladies Infectieuses, un Défi de Santé Publique, une Ambition Médico-*

- Scientifique*. Edition EDP Sciences: Les Ulis; 171-189.
- Cornu M, Bergis H, Miconnet N, Delignette-Muller ML, Beaufort A. 2003. Appréciation des risques microbiologiques : présentation générale et applications. *Rev. Gén. Froid*, **1032**: 33-42.
- Feder PI. 1975. On asymptotic distribution theory in segmented regression problems-identified case. *The Annals of Statistics*, **3**: 49-83.
- Ferrer J, Prats C, López D, Vives-Rego J. 2009. Mathematical modelling methodologies in predictive food microbiology: a SWOT analysis. *International Journal of Food Microbiology*, **134**(1-2): 2-8.
- Fox T, Hinkley D, Larntz K. 1980. Jackknifing in Nonlinear Regression. *Technometrics*, **22**(1): 29-33.
- Haeghebaert S, Le Querrec F, Bouvet P, Gally A, Espie E, Vaillant V. 2002. Les toxi infections alimentaires collectives en France en 2001. *Bull. Epid. Hebdo.*, **50**: 249-253.
- Hudson DJ. 1966. Fitting segmented curves whose join points have to be estimated. *American Statistical Association Journal*, **61**: 1097-1129.
- Oscar TP. 2002. Development and validation of a tertiary simulation model for predicting the potential growth of *Salmonella typhimurium* on cooked chicken. *Int. Jour. Food Microbiol.*, **76**: 177-190.
- Roberts TA. 1995. Microbial growth and survival: developments in predictive modelling. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **36**(3-4): 297-309.
- Shao J. 1992. Consistency of least-squares estimator and its jackknife variance estimator in nonlinear models. *Canadian Journal of Statistics*, **20**(4): 415-428.
- Tomassone R, Dervin C, Masson JP. 1993. *Biométrie, Modélisation de Phénomènes Biologiques*. Masson: Paris.