

## **ÉCOLOGIE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* DANS LES ATELIERS DE TRANSFORMATION DE PRODUITS CARNES. ÉTABLISSEMENT DE PROFILS ASSOCIÉS À LA PRÉSENCE DE LA BACTÉRIE.**

**Pascale Gérault<sup>(1)</sup>, G. Salvat<sup>(1)</sup>, F. Madec<sup>(1)</sup>**

*Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, BP 53, 22440 Ploufragan*

**Elise Chasseignaux<sup>(2)</sup>,**

*Institut Pasteur, 1 rue Professeur Calmette, 59000 Lille*

**J. Chaperon<sup>(3)</sup>,**

*Univ. Rennes 1, Département de Santé Publique, 2 av. Prof Léon Bernard, 35000 Rennes*

**Résumé :** *La listériose est une maladie alimentaire due à la bactérie ubiquiste *Listeria monocytogenes*. Très présente dans l'environnement, elle contamine les surfaces dans les abattoirs et les entreprises de transformation de produits carnés, augmentant ainsi le risque de contamination des produits finis.*

*La lutte contre cette bactérie est actuellement très active : connaître les caractéristiques écologiques de son implantation dans les entreprises en est la première étape. L'étude présentée ici a pour objectif de déceler, à partir de données collectées dans 3 sites de transformation de produits carnés, les caractéristiques physico-chimiques, microbiologiques de l'environnement et les conditions de production associées à la présence de *Listeria monocytogenes*.*

*Trois outils d'analyse de données ont été utilisés pour l'établissement de profils à risque : l'analyse factorielle des correspondances multiples, la classification ascendante hiérarchique et la construction d'arbre de décision binaire. Même si ces méthodes ne revêtent pas, en tant que telles, de caractère de nouveauté, leur utilisation dans le domaine vétérinaire et plus particulièrement dans celui de l'hygiène alimentaire est très récente et appelée à se développer lors de nouvelles enquêtes.*

## 1. Présentation du sujet

*Listeria monocytogenes* est, parmi les espèces de *Listeria* connues, la bactérie majoritairement responsable de la listériose chez l'Homme ([LAR95]). Cette maladie passe le plus souvent inaperçue chez les adultes sains. Ailleurs, même si elle se traduit par des signes classiques de pseudo-grippe, fièvre, elle peut avoir des conséquences graves. Chez les adultes immuno-déprimés (personnes âgées, greffées, malades du Sida...), les impacts de la maladie sont le plus souvent neurologiques et peuvent conduire au décès. Chez les femmes enceintes, quand la maladie intervient au 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse, la transmission au fœtus peut entraîner un avortement spontané, la naissance d'un enfant mort né, des infections respiratoires et/ou neurologiques sur l'enfant laissant des séquelles définitives. Les conséquences économiques à long terme peuvent être très importantes ([ROB90]).

La transmission de *Listeria monocytogenes* à l'Homme se fait essentiellement par l'ingestion de nourriture contaminée. Les produits incriminés lors des dernières bouffées épidémiques sont d'origine animale (produits laitiers, charcuterie...). La limitation du nombre de cas de listériose passe donc par une prévention sans faille à tous les maillons de la chaîne alimentaire (de l'élevage à l'assiette du consommateur). Les industriels entendent aujourd'hui prendre une part active à cette prévention. Ainsi le groupe UNIR (Ultra Propre Nutrition Recherche), regroupement d'industriels volontaires, et l'AFSSA se sont associés pour mener à bien une enquête sur l'écologie de *Listeria monocytogenes* dans des sites de transformation de produits carnés. Ces sites (ou lieux de production) ont pour activité principale la transformation des carcasses d'animaux en aliments directement destinés à la consommation humaine (saucissons, lardons, jambons...). A partir des données recueillies lors de différentes campagnes de prélèvement sur 3 sites, il s'agissait entre autres de découvrir les variables ayant un lien avec la présence de *Listeria monocytogenes*, d'établir des profils physico-chimique et microbiologique liés à la présence et à l'absence de la bactérie ([CHA99]). La mise en œuvre d'analyse factorielle des correspondances multiples, de classification ascendante hiérarchique, d'arbre de décision binaire ([LEB95]) a été privilégiée dans le cadre de cette étude. L'utilisation de ces méthodes dans le monde de la recherche vétérinaire ou de l'hygiène alimentaire est assez récente ([MAD82]) mais elles sont particulièrement adaptées à l'établissement de profils de risque de présence de bactéries dans des élevages ou entreprises par exemple. La conduite de cette étude a donc pour but de limiter la présence et la

propagation de la bactérie et de voir dans quelle mesure les méthodes de traitement de données utilisées peuvent s'adapter à ce type de situation et à ces domaines vétérinaire et alimentaire.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Lieux et modes de prélèvements

L'enquête a été menée dans 3 sites de transformation de produits carnés, tous situés dans le Grand Ouest de la France.

Site 1 : des plats cuisinés, nécessitant une nouvelle cuisson par les consommateurs, y sont fabriqués. 199 prélèvements y ont été réalisés à tous les stades de la production, de l'arrivée des matières premières au conditionnement du produit fini.

Site 2 : des produits cuits y sont fabriqués. Les 60 prélèvements ont été limités à deux ateliers en fin de chaîne de production, par décision de la direction de l'entreprise. Ces restrictions influenceront considérablement sur les résultats et leur exploitation sera très limitée.

Site 3 : il appartient au même groupe que le site 2. L'activité étudiée est la préparation de lardons, nécessitant d'être cuits par le consommateur. Les 119 prélèvements ont été effectués à tous les stades de la production, de l'arrivée des matières premières au conditionnement du produit.

Les prélèvements de surface sont effectués selon une procédure préétablie par les enquêteurs. Une trentaine de prélèvements sont réalisés à chaque visite, ceci pour permettre un traitement rapide et optimal en laboratoire. Un emplacement est aléatoirement déterminé dans la pièce visitée, un enquêteur frotte une chiffonnette sur une surface délimitée par un cadre métallique (chiffonnage). Cette chiffonnette est aussitôt remise dans un flacon stérile. Cette opération s'accompagne de prises de mesures concernant la température et le pH de la surface ainsi que la température et l'hygrométrie ambiantes. Des données d'environnement vont également être notées. Certaines peuvent être déterminées par une seule personne (fonction du point de prélèvement...) mais d'autres, plus subjectives (note de propreté...), sont définies après concertation entre plusieurs enquêteurs. Il y a ainsi une relative homogénéité dans la notation. Les traitements en laboratoire permettent d'établir la présence ou l'absence de *Listeria*

*monocytogenes* (pour laquelle les méthodes bactériologiques de quantification ne sont pas optimales). La recherche et quantification de diverses autres flores sont également réalisées.

Les données sont ensuite saisies sous Excel et traitées à l'aide des logiciels Systat 7.0 et Spad Version 3 en suivant des étapes préalablement établies.

## 2.2. Variables à expliquer et explicatives

LIST est la variable centrale de cette étude, codée selon que *Listeria monocytogenes* est présente ou absente de la surface prélevée. Les variables explicatives (24) sont réparties en deux groupes :

- Groupe 1 : variables physico-chimiques et d'environnement,
- Groupe 2 : variables de flores microbiennes variées.

Les variables du groupe 1 (au nombre de 17) sont utilisées pour établir des profils environnementaux et physico-chimiques liés à la présence de la bactérie alors que le traitement des variables du groupe 2 (au nombre de 7) a pour objectif de déceler des flores indicatrices (de la présence) ou de barrière (empêchant son implantation sur la surface) pour *Listeria monocytogenes*.

Le tableau suivant nous précise le groupe d'affectation de chacune de ces variables.

**Tableau 1 : Groupes d'affectation des variables**

<b>GROUPE 1</b>	<b>GROUPE 2</b>
date de prélèvement (a)	flore aérobic mésophile
nom de l'atelier (a)	<i>Pseudomonas</i>
étape de fabrication (a)	entérobactéries
point de prélèvement (a)	entérocoques
fonction du point de prélèvement (a)	<i>Brochothrix</i>
contact avec la production ? (a)	psychrotrophes
production en cours ? (a)	flore lactique bas pH
nature de la surface de prélèvement (b)	
humidité de la surface (b)	
propreté de la surface (b)	
état du papier filtre (note) (b)	
état visuel de la surface (b)	
note de l'état visuel (b)	
pH de la surface (b)	

température de la surface (b)  
hygrométrie ambiante (b)  
température ambiante (b)

---

L'exploitation des données a été faite pour chaque groupe de variables, et site par site, chacun d'entre eux ayant des caractéristiques spécifiques, tant en terme de moyens de production qu'en terme d'environnement.

### 2.3. Traitements statistiques

La même série d'étapes a été suivie, pour les variables du groupe 1 et celles du groupe 2.

Pour chaque groupe, à partir des variables disponibles, nous sélectionnons pas à pas celles qui sont liées à la présence ou à l'absence de *Listeria monocytogenes* afin d'en élaborer un modèle prédictif.

**Traitements univariés** : cette étape, indispensable et minutieuse, a pour buts de détecter les ultimes erreurs de frappe, de codage, et de connaître l'allure de la répartition des données (construction d'histogrammes pour les variables quantitatives, calcul de fréquences pour les variables qualitatives...).

**Mises en classes** : les traitements ultérieurs nécessitent d'avoir des données qualitatives ou quantitatives discrétisées. Des mises en classes sont réalisées, en s'appuyant sur l'allure des courbes de distribution et sur les connaissances des biologistes. Un effectif de 10% d'individus est requis dans chaque classe. Les données manquantes sont codées en tant que telles.

**Traitements bivariés** : l'étude des relations entre les variables prises 2 à 2 se fait à partir des tables de contingence (entre LIST et chacune des autres variables) accompagnées du test du  $\chi^2$  (seuil  $p \leq 0.15$ ). Les relations 2 à 2 entre toutes les variables sont également étudiées afin de mettre de côté les variables redondantes.

**Traitements multivariés** :

**Analyse factorielle des correspondances multiples et classification ascendante hiérarchique** : les variables du groupe 1 sont séparées en 2 sous-groupes. Le sous-groupe "a" contient les données de fonctionnement, sur lesquelles il est impossible d'agir (atelier de production, point

de prélèvement...). Le sous-groupe "b" concerne les données sur lesquelles des interventions pourront être effectuées (nature de la surface, propreté de la surface...). Le sous-groupe de chaque variable est noté dans le tableau 1 ((a) ou (b)). Le principe est d'effectuer des Analyses Factorielles des Correspondances Multiples (AFCM) successives, avec les variables du sous-groupe "b" en tant que variables actives, en éliminant ou en ajoutant un nombre restreint de variables à chaque fois ("screening"), jusqu'à ce que l'on trouve une représentation "optimale", c'est à dire avec les variables de base suivantes : nature de la surface de prélèvement, humidité de la surface, pH de la surface, hygrométrie de la salle, température de la salle (ou température de la surface de prélèvement) et les autres variables du sous groupe "b" qui apportent une information complémentaire à l'explication de la présence ou absence de *Listeria monocytogenes*, ceci par l'étude du pourcentage global d'inertie sur les premiers axes et pour chacune des modalités introduites dans l'analyse. Les proximités entre les modalités contribuant le mieux aux axes sont alors étudiées. Une classification ascendante hiérarchique (CAH) sur les individus complète l'interprétation des résultats. Les variables du sous-groupe "a" sont alors introduites en variables supplémentaires afin de préciser leurs positions vis à vis de LIST et de nous fournir des informations supplémentaires.

Pour les variables de flores (groupe 2), le principe est le même (AFCM successives accompagnées de CAH).

**Remarques :**

- Les analyses sont faites dans un premier temps avec les données manquantes qui pour diverses raisons (panne de sonde de mesure de la température et du pH...) peuvent être nombreuses pour certaines variables. Les traitements sont réitérés sans ces données (et sans les individus auxquels elles se rapportent) afin de vérifier la stabilité des résultats. Les individus correspondant sont ensuite réintroduits en éléments supplémentaires. Le même choix a été fait pour les classes de très faibles effectifs.
- Les prélèvements pour lesquels *Listeria* est absente sont logiquement beaucoup plus nombreux que ceux pour lesquels *Listeria* est présente. Dans l'analyse classique, chacun des individus a un poids égal à 1. Pour améliorer la lisibilité des résultats en mettant en évidence les prélèvements pour lesquels la bactérie est présente, une nouvelle pondération des individus a été choisie de façon à ce que les prélèvements positifs et les prélèvements négatifs aient au total le même poids (50% du poids total chacun). Sur n échantillons, n1 se sont

avérés positifs et  $n_2$  négatifs par rapport à *Listeria monocytogenes*. Le nouveau poids (coefficient de redressement) associé aux prélèvements positifs est  $(n/2)/n_1$ , et le poids associé aux prélèvements négatifs est  $(n/2)/n_2$ .

**Segmentation** : cette méthode n'est mise en œuvre que pour les données du groupe 1. A partir des variables sélectionnées précédemment par l'AFCM, nous construisons un arbre de décision binaire ([GUE88]), limitant le nombre de faux négatifs, sur lequel il suffit de glisser, selon les données relevées, jusqu'à un segment terminal permettant de prédire la présence ou l'absence de *Listeria monocytogenes* (à un taux d'erreur près). La méthode de validation croisée est utilisée pour construire ces arbres (l'effectif étant trop limité pour être découpé en un échantillon de base et un échantillon test).

### 3. Résultats

#### 3.1. Groupe 1

L'objectif ici n'est pas de donner des résultats sur chaque site mais de voir dans quelle mesure l'enchaînement des méthodes permet d'arriver à des conclusions sur notre objectif de départ. Nous ne présentons donc en détail que des résultats liés au site 1 (les méthodes utilisées sont strictement les mêmes pour chaque site).

90 (45%) prélèvements ont été effectués en nettoyage désinfection (en milieu de nuit) et 109 (55%) en cours de production (en milieu de matinée). 55 (28 %) échantillons ont permis l'isolement de *Listeria monocytogenes*, 12 en nettoyage désinfection et 43 en cours de production.

Les résultats plus détaillés des tables de contingence sont donnés dans le tableau suivant. Dans la colonne "Forte contamination par L.m." apparaissent la (les) modalité(s) pour laquelle (lesquelles) le pourcentage d'échantillons contaminés est le plus fort, dans la colonne "Faible contamination par L.m." apparaissent la (les) modalité(s) pour laquelle (lesquelles) le pourcentage d'échantillons contaminés est le plus faible. Le pourcentage donné est le pourcentage d'échantillons positifs pour la modalité donnée.

**Tableau 2 : modalités des variables ayant le pourcentage le plus élevé et le plus faible au vu de la contamination par *Listeria monocytogenes***

VARIABLE	FORTE CONTAMINATION PAR <i>Listeria monocytogenes</i>	% DE POSITIFS	FAIBLE CONTAMINATION PAR <i>Listeria monocytogenes</i>	% POSITIFS
Atelier de prélèvement	Réception de matières premières	44%	Fabrication du produit 1	9%
			Fabrication du produit 2	10%
Date de prélèvement	03/06/1996	80%	24/11/1996	0%
	07/10/1996	50%		
Etape de fabrication	Arrivée de matières premières crues et fraîches	64%	Etape en cuit	0%
Point de prélèvement	Parois et sols	41%	Autres tapis (≠mailles)	0%
			Tapis à mailles	11%
Contact avec la production ?	Sans contact avec la production	34%	Contact avec la production	22%
Production en cours ?	Production en cours	39%	Nettoyage désinfection	13%
Nature de la surface de prélèvement	Carrelage	75%	Métal	7%
	Résine	57%	Inox	19%
Humidité de la surface de prélèvement	Surface humide	59%	Surface sèche	12%
Propreté de la surface de prélèvement	Présence de débris organiques	52%	Débris organiques et graisse	8%
			Propre	11%
Etat du papier filtre	Papier filtre sale	45%	Papier filtre propre	12%
Aspect visuel de la surface	Surface granuleuse	53%	Mauvais aspect de la surface	13%
	Surface rayée	34%	Surface lisse	19%
pH de la surface de prélèvement	pH compris entre 6.5 et 8	49%	pH inférieur à 6	6%
Température de la surface de prélèvement	Température de surface de 7 à 10°C	36%	Température de surface > 13°C	4%
	Température de surface inférieure à 7°C	35%		
Hygrométrie de la salle	Hygrométrie supérieure à 80 %	45%	Hygrométrie inférieure à 70 %	3%
Température de la salle	Température ambiante inférieure à 8°C	44%	Température ambiante de 8 à 12°C	9%
Fonction du point de prélèvement	Transport	38%	Conditionnement	0%
			Avant et après transformation	13%
Note de l'état visuel de la surface de prélèvement	Très mauvais état visuel	35%	Mauvais état visuel	19%

Suite à l'étude des tables de contingence et des résultats des tests associés les variables suivantes sont mises de côté :

- Note de l'état visuel : indépendante de LIST ( $p=0.726$ ),
- Fonction du point de prélèvement : redondante avec étape de fabrication,
- Date de prélèvement : redondante avec nom de l'atelier (à une date donnée a été visité un seul atelier),
- Note du papier filtre : redondante avec propreté de la surface,
- Point de prélèvement : redondante avec étape de fabrication.

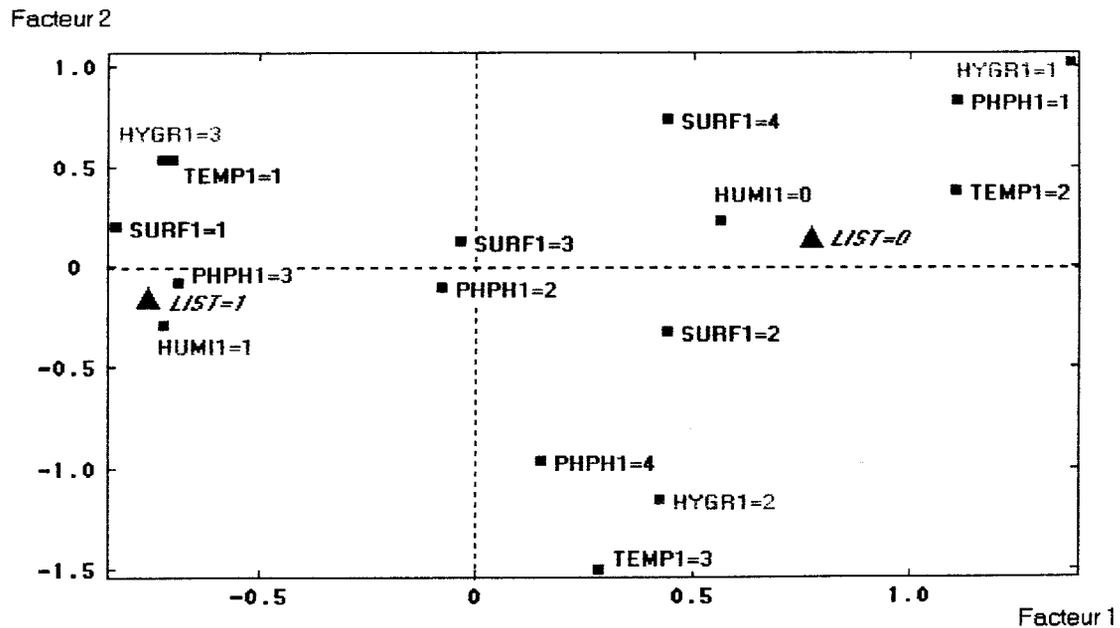
A l'issue de l'AFCM, la "meilleure représentation" est obtenue avec les cinq variables actives de base, à savoir nature de la surface de prélèvement, humidité de la surface de prélèvement, pH de la surface de prélèvement, hygrométrie ambiante, température ambiante (l'ajout des autres variables actives potentielles du sous groupe "b" n'apporte pas d'information complémentaire par rapport à la variable LIST). LIST a également été prise en compte en tant que variable active. La carte factorielle sur les axes 1 et 2 est présentée ici. L'étude de l'axe 3 n'apporte pas d'informations supplémentaires pour caractériser la variable LIST.

Les pourcentages d'inertie expliquée et les valeurs propres sur les premiers axes sont :

	Valeur propre	% d'inertie	% cumulé
Axe 1	0.4752	23.76	23.76
Axe 2	0.3151	15.76	39.52
Axe 3	0.2212	11.06	50.58

**Figure 1 : Carte factorielle (Plan 1-2). Variables physico-chimiques actives.**

Site 1 (199 individus)

**LEGENDE**LIST : *Listeria monocytogenes*

(0 : absence ; 1 : présence)

SURF1 : nature de la surface

(1 : résine ; 2 : inox ; 3 : plastique ; 4 : métal)

HUMI1 : humidité de la surface

(0 : surface sèche ; 1 : surface humide)

PHPH1 : pH de la surface

(1 : pH&lt;6 ; 2 : 6≤pH&lt;6.5 ; 3 : 6.5≤pH&lt;8 ; 4 : pH≥8)

HYGR1 : hygrométrie ambiante

(1 : hydr&lt;70 ; 2 : 70≤hydr&lt;80 ; 3 : hydr≥80)

TEMP1 : température ambiante

(1 : temp&lt;8 ; 2 : 8≤temp&lt;12 ; 3 : temp≥12)

L'axe 1 exprime plusieurs oppositions :

⇒ opposition entre les prélèvements contaminés par *Listeria monocytogenes* et les prélèvements non contaminés,

- ⇒ opposition entre les températures ambiantes inférieures à 8°C et les températures ambiantes supérieures à 8°C,
- ⇒ opposition entre les surfaces humides et les surfaces sèches,
- ⇒ opposition entre les surfaces rugueuses et les surfaces lisses,
- ⇒ opposition entre une hygrométrie ambiante supérieure à 80% et une hygrométrie inférieure à 80%,
- ⇒ opposition entre un pH proche de la neutralité (compris entre 6.5 et 8) et un pH faible (inférieur à 6).

Une classification Ascendante Hiérarchique sur les individus complète les premiers résultats issus de l'AFCM. Des classes homogènes d'individus ont été construites. La coupure optimale de l'arbre permet d'obtenir 6 classes. Leur description par les modalités de variables caractéristiques ont permis de mettre en évidence une classe caractérisée entre autres par LIST=0 et une autre caractérisée entre autres par LIST=1. L'étude des autres modalités associées à ces deux classes en parallèle avec les résultats de l'AFCM amène à l'élaboration de profils pour chacune des modalités de LIST :

**Modalités de variables les plus fortement associées à l'absence de *L. monocytogenes* :**  
surface en inox, hygrométrie ambiante inférieure à 70%, température ambiante comprise entre 8 et 12°C, pH inférieur à 6, absence d'humidité sur la surface.

**Modalités de variables les plus fortement associées à la présence de *L. monocytogenes* :**  
surface en résine, hygrométrie ambiante supérieure ou égale à 80%, température ambiante inférieure à 8°C, pH compris entre 6.5 et 8, présence d'humidité sur la surface.

Après l'ajout en variables illustratives des autres variables, les remarques suivantes peuvent être faites :

- ⇒ opposition entre les surfaces sur lesquelles subsistent des débris organiques proches de LIST=1 et les surfaces propres ou avec des débris organiques associés à de la graisse proches de LIST=0,

⇒ opposition entre les surfaces granuleuses proches de LIST=1 et les surfaces lisses ou présentant un "mauvais aspect" proches de LIST=0,

⇒ opposition entre les surfaces ayant une faible température (inférieure à 7°C) proches de LIST=1 et les surfaces ayant une température supérieure à 10°C proches de LIST=0.

⇒ opposition entre les ateliers où sont travaillées les matières premières, proches de LIST=1 et les ateliers de fabrication de produit proches de LIST=0,

⇒ opposition entre les étapes de début de chaîne de production proches de LIST=1 et les étapes de milieu et fin de chaîne proches de LIST=0,

⇒ opposition entre les prélèvements en nettoyage désinfection proches de LIST=0 et les prélèvements en cours de production proches de LIST=1,

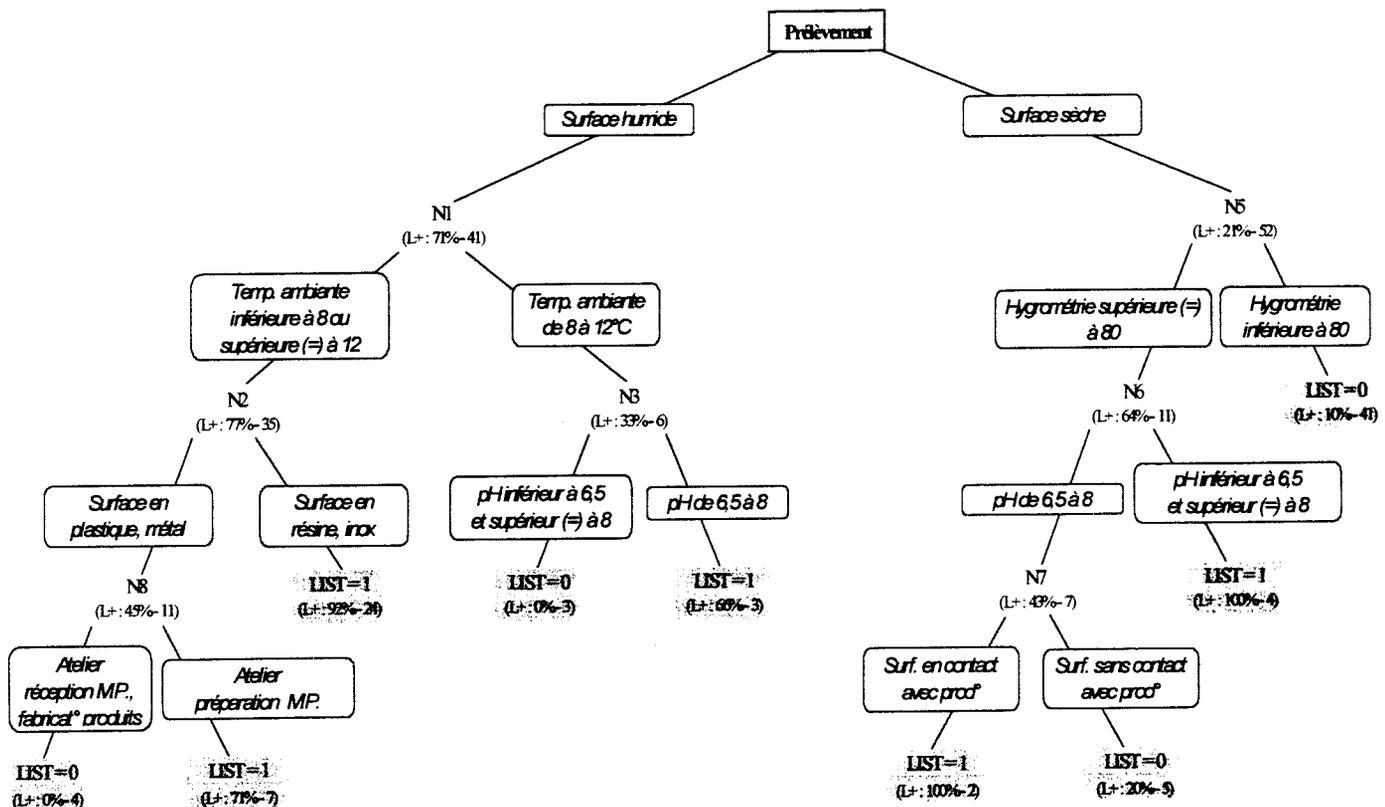
⇒ opposition entre les prélèvements sur une surface en contact avec la production proches de LIST=0 et ceux sur une surface sans contact avec la production (sols et murs) proches de LIST=1.

Les résultats précédents ont été obtenus avec l'ensemble de l'échantillon initial. Il semble prudent de les compléter par deux nouvelles études : une à partir des prélèvements réalisés en nettoyage désinfection, une à partir des prélèvements réalisés en cours de production. Ce sont en effet deux moments ayant des caractéristiques très particulières et une hétérogénéité de réponse n'est pas à exclure. A l'issue de ces derniers traitements, parmi les variables de base, les profils établis au niveau général pour LIST=1 ressortent en production et en nettoyage désinfection. Les modalités proches de LIST=0 sont les mêmes que dans l'étude générale en nettoyage désinfection. C'est un peu moins clair en ce qui concerne les prélèvements réalisés en cours de production : aucune surface n'est caractéristique de la présence de *Listeria monocytogenes*, il y a peu d'individus pour lesquels l'hygrométrie est faible et c'est alors une hygrométrie moyenne qui y est liée.

Au niveau des variables supplémentaires une seule différence est à noter : la variable "contact avec la production" n'apporte pas d'information sur la présence ou l'absence de la bactérie en cours de production (ses modalités sont très proches de l'origine). Pour les autres variables, les caractéristiques notées au niveau global influent également au niveau "individuel".

Les éléments obtenus avec ces AFCM sont forts pertinents sous l'angle de la description. L'élaboration d'un modèle décisionnel permet d'affiner nos remarques et de définir la probabilité de contamination d'une surface par *Listeria monocytogenes* selon les caractéristiques relevées. Ce modèle est réalisé sous forme d'arbre de décision binaire. Possédant les caractéristiques d'un individu, il suffira de glisser le long des branches de l'arbre, jusqu'à un segment terminal, pour affecter à l'individu l'une ou l'autre des modalités de LIST (à un taux d'erreur près). Nous ne présentons ici que l'arbre obtenu sur les échantillons prélevés en cours de production sur le site 1 (figure 2). Par construction de cet arbre, on détermine, à partir des caractéristiques d'un échantillon, les variables qui sont les plus discriminantes pour en déterminer la positivité ou non en *Listeria monocytogenes*. Sont introduites dans cet arbre les 5 variables retenues précédemment dans l'AFCM (température dans la salle, nature de la surface, pH de la surface, hygrométrie ambiante, humidité de la surface) et les variables de fonctionnement atelier de production et contact avec la production.

Figure 2 : arbre de décision binaire sur les prélèvements réalisés en cours de production.



(L+ : % de prélèvements positifs en *Listeria* parmi les échantillons à ce nœud – nombre total d'échantillons au nœud considéré)

(Taux théorique de bien classés : 83,87%)

LIST=0 : prélèvement prévu négatif pour *Listeria monocytogenes*

LIST=1 : prélèvement prévu positif pour *Listeria monocytogenes*

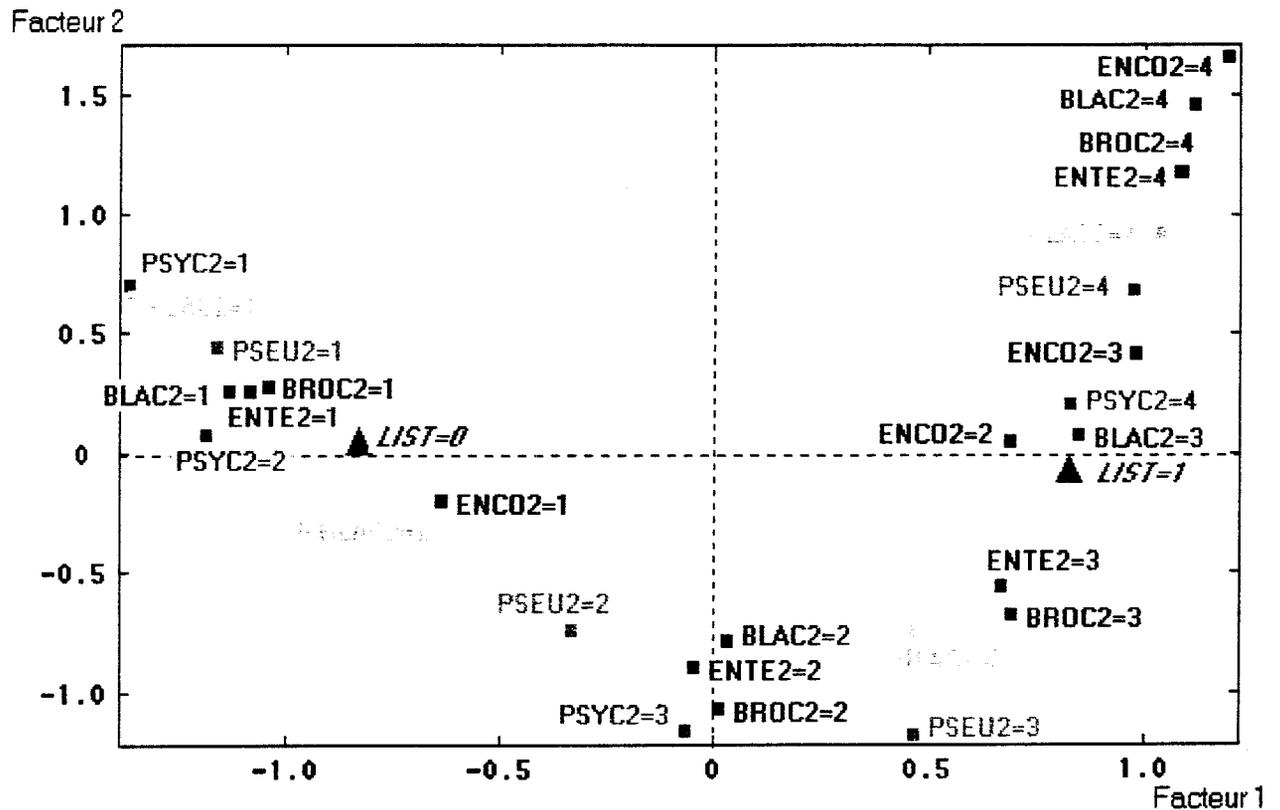
L'humidité de la surface apparaît dans ce cas comme étant la variable la plus discriminante. Les modalités des autres variables interviennent alors afin de classer au mieux les échantillons.

### 3.2. Groupe 2

Les variables de flores ont fait l'objet d'une étude séparée. La flore totale, reprenant en fait les résultats des autres flores, n'a pas été introduite dans notre analyse. Les valeurs des autres flores ont été ramenées en log<sub>10</sub> (conventionnel) et ce sont ces données qui ont été mises en

classes. Le premier plan factoriel, pour le site 1, est présenté figure 3. Les pourcentages d'inertie sur les premiers axes sont les suivants :

	Valeur propre	% d'inertie	% cumulé
Axe 1	0.7470	28.46	28.46
Axe 2	0.3869	14.74	43.20
Axe 3	0.2321	8.84	52.04

**Figure 3 : Carte factorielle (Plan 1-2). Variables de flores actives.****Site 1 (199 individus)****LEGENDE**LIST : *Listeria monocytogenes*

(0 : absence ; 1 : présence)

PSEU2 : pseudomonas

(1 : PSEU &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ PSEU &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ PSEU &lt; 4.5 ; 4 : PSEU ≥ 4.5)

ENTE2 : entérobactéries

(1 : ENTE &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ ENTE &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ ENTE &lt; 4.5 ; 4 : ENTE ≥ 4.5)

PSYC2 : flore psychrotrophe

(1 : PSYC &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ PSYC &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ PSYC &lt; 4.5 ; 4 : PSYC ≥ 4.5)

ENCO2 : entérocoques

(1 : ENCO &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ ENCO &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ ENCO &lt; 4.5 ; 4 : ENCO ≥ 4.5)

BLAC2 : flore lactique à bas pH

(1 : BLAC &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ BLAC &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ BLAC &lt; 4.5 ; 4 : BLAC ≥ 4.5)

BROCC2 : brochothrix

(1 : BROCC &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ BROCC &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ BROCC &lt; 4.5 ; 4 : BROCC ≥ 4.5)

HLAC2 : flore lactique à haut pH

(1 : HLAC &lt; 0.1 ; 2 : 0.1 ≤ HLAC &lt; 2.51 ; 3 : 2.51 ≤ HLAC &lt; 4.5 ; 4 : HLAC ≥ 4.5)

La variable LIST est très bien représentée sur le premier plan factoriel et en particulier sur le premier axe. L'étude des autres plans ne nous fournit pas d'information supplémentaire.

D'après l'étude des axes et des résultats numériques, il ressort que l'absence de *Listeria monocytogenes* sur ce site est liée à l'absence ou à la faible quantification des autres flores. La présence de *Listeria monocytogenes* semble par contre liée aux numérations fortes pour les autres flores.

Des trajectoires ont été tracées pour chaque variable, reliant les modalités dans l'ordre croissant. Il apparaît que les trajectoires des flores sont toutes globalement "semblables" (effet Guttman) sauf celle des entérocoques (ENCO2). En effet pour toutes les autres flores, une faible quantification est associée à l'absence de *Listeria monocytogenes* (modalités 1 proches de LIST=0), une zone floue pour les quantifications moyennes est mise en évidence dans le bas du schéma, et une forte quantification est liée à la présence de *Listeria monocytogenes*. Le comportement des entérocoques est différent. La modalité 1 est très proche de LIST=0 et les modalités 2, 3 et 4 se retrouvent nettement du côté de LIST=1. Ce résultat confirme les remarques notées à l'issue des traitements bivariés c'est à dire qu'il y aurait une valeur seuil (proche de 0) pour les entérocoques au-dessous de laquelle il y aurait absence de *Listeria monocytogenes* et au-delà de laquelle il y aurait présence de *Listeria monocytogenes*. Sur ce schéma apparaît également la proximité entre la trajectoire des *Brochothrix* (BROC2) et celle des entérobactéries (ENTE2).

### 3.3. Autres sites

**Site 2** : aucun prélèvement ne s'est avéré positif pour *Listeria monocytogenes*. Il faut cependant noter que les prélèvements avaient tous été réalisés dans deux ateliers de produits finis et cuits (par décision de la direction de l'entreprise).

**Site 3** : 20 échantillons sur 119 se sont révélés positifs pour *Listeria monocytogenes*, dont un seul en nettoyage désinfection. Sur l'ensemble des données relevées, les caractéristiques suivantes sont mises en évidence.

*Modalités de variables les plus fortement associées à l'absence de L. monocytogenes :*

pH inférieur à 6, température ambiante inférieure à 8°C, hygrométrie inférieure à 70%, surface en carrelage, ciment, inox, métal, présence d'humidité.

*Modalités de variables les plus fortement associées à la présence de L. monocytogenes :*

pH supérieur à 6, température ambiante comprise entre 8 et 12°C, hygrométrie comprise entre 70 et 80%, surface en plastique, surface sèche.

**Tous sites :** Même si les résultats diffèrent entre les sites 1 et 3, des remarques générales peuvent être faites pour limiter la propagation de la bactérie. Il faut maintenir une hygrométrie faible, un pH bas sur les surfaces, être très vigilants sur les surfaces en plastique ou résine (surfaces irrégulières pouvant être des "niches" à bactérie), éviter la présence de flaques, maintenir les surfaces propres (sans débris organiques), et être très strict sur les premières étapes des chaînes de production à savoir la réception et manipulation des matières premières.

#### **4. Discussion**

Cette étude, réalisée conjointement avec des équipes de biologistes et spécialistes de l'hygiène alimentaire, a permis d'établir des profils de facteurs de risque liés à la présence de *Listeria monocytogenes* site par site. Ces résultats concordent en partie avec ceux issus de campagnes de prélèvements précédentes ([LAH96]) dans des sites de transformation de volailles qui indiquaient que des surfaces froides, humides et souillées par de la matière organique étaient propices au développement de la bactérie. Même si des recommandations globales peuvent être faites, il n'a cependant pas été possible d'établir un profil précis pour l'ensemble des sites visités. Plusieurs explications peuvent être avancées, la première étant d'ordre industriel et la seconde d'ordre statistique.

Les produits fabriqués et les modes de production diffèrent entre les différents sites : produits cuits, semi-cuits ou crus, matériel différent, conditions hygrométriques et de température particulières... La confidentialité exigée par les industriels volontaires dans cette enquête est également un critère à prendre en compte. Ces remarques expliquent le fait que le plan de prélèvement n'ait pu être établi selon un échantillonnage précis. L'idéal aurait été qu'un plan d'expérience, imposant les niveaux des différentes variables potentiellement influentes et les combinaisons de celles ci, soit préparé. L'impossibilité de construction d'un tel plan pour les raisons exposées précédemment a rendu difficile l'exploitation globale des résultats.

Néanmoins cette étude a été positive quant à la nouveauté des traitements de données utilisés. En effet à ce jour aucune exploitation statistique approfondie de résultats d'échantillons prélevés directement sur les lieux de production n'avait été réalisée. Seuls des résultats en terme de fréquence de positivité pour *Listeria monocytogenes* étaient présentés, pour des surfaces ou ateliers de production particuliers. Cette étude est donc nouvelle à 2 niveaux :

- elle permet d'étudier l'écologie de *Listeria monocytogenes* dans les ateliers de transformation de produits carnés, avec l'aide d'industriels volontaires et de laboratoire de recherche en hygiène alimentaire fortement impliqués.
- elle utilise des méthodes statistiques d'analyse de données nouvelles dans ce domaine, pour établir des profils de facteurs de risque liés à la présence de la bactérie. Ces méthodes ont été très bien assimilées par les non-initiés. Et signe d'un grand intérêt de leur part et d'une bonne compréhension et lisibilité de ces méthodes, elles seront à nouveau, à leur demande, utilisées dans des études du même type réalisées en entreprises ou abattoirs. L'utilisation de modèles pouvait compléter les AFCM et CAH mais la segmentation par arbre de décision binaire a été préférée, tout d'abord pour une homogénéité des méthodes utilisées mais également pour permettre la sortie des résultats sous forme graphique (arbres) compréhensible par des non initiés. De plus, la régression logistique sur les données du site 1 en particulier n'apporte rien de plus si ce n'est l'influence prépondérante de l'humidité de la surface qui gomme à elle seule les effets des autres variables.

Il faut noter en conclusion que la réussite de cette étude passe bien sûr par les résultats obtenus, qui ont amené plusieurs industriels à remettre en cause une partie de leurs installations, mais également par un travail d'équipe très important : appréhension des données par le statisticien (bibliographie sur *Listeria*, prélèvement, suivi des traitements en laboratoire...), apprentissage des méthodes statistiques et des logiciels pour les biologistes, mise en commun des connaissances des spécialistes de *Listeria* et d'hygiène alimentaire, coopération des industriels impliqués.

**BIBLIOGRAPHIE :**

- [CHA99] Chasseignaux, E. Ecologie de *Listeria monocytogenes* dans les ateliers de transformation de viandes de volaille et de porcs. Lyon 1, Université Claude Bernard: 110, 1999.
- [GUE88] Gueguen, A. et Nakache, J. P. Méthode de discrimination basée sur la construction d'un arbre de décision binaire. *Revue de Statistique Appliquée* 36: 19-38, 1988.
- [LAH96] Lahellec, C., Salvat, G. et Brisabois, A.. Incidence des *Listeria* dans les denrées alimentaires. *Pathologie Biologie* 44: 808-815, 1996..
- [LAR95] Larpent, J. P. *Les Listeria*. Paris, 1995.
- [LEB95] Lebart, L., Morineau, A. et Piron, M. *Statistique exploratoire multidimensionnelle*. Paris, 1995.
- [MAD82] Madec, F., Josse, J. et Chantal, A. Evaluation d'une méthode multifactorielle dans l'analyse des troubles digestifs du sevrage". *Journées de la Recherche Porcine en France*, 1982.
- [ROB90] Roberts, T. et Pinner, R. Economic impact of disease caused by *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Listeriosis*: 137-149, 1990.