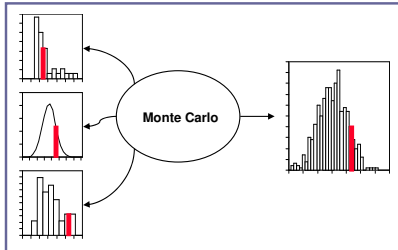
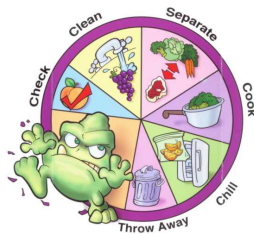


Appréciation quantitative des risques en microbiologie alimentaire



Marie Laure Delignette-Muller, VetAgro Sup, Janvier 2011



Contexte historique

- Nouvelle priorité pour
 - les pouvoirs publics
 - les industriels
- Discipline jeune
 - réel développement depuis les années 1995
 - Consensus international depuis 1999

2



Contexte international

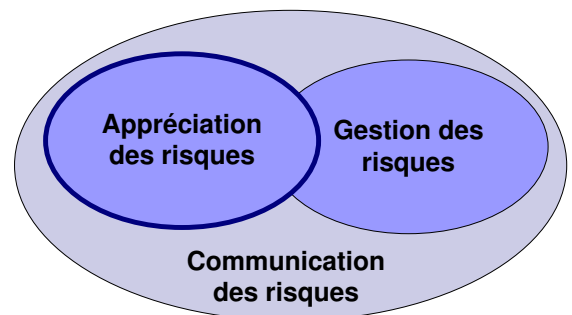


- Principes de base établis par un consensus international FAO/OMS, au sein du Codex Alimentarius
- Les missions du Codex Alimentarius (créé en 1963) : Établir des normes alimentaires et lignes directrices pour assurer
 - la protection de la santé des consommateurs,
 - des pratiques loyales dans le commerce des aliments

3



Analyse des risques



4



Objectifs pédagogiques

- **Connaître la structure générale** d'une appréciation des risques et **citer les informations requises**
- **Découvrir la méthodologie** utilisée pour mener à bien une appréciation quantitative des risques

5



Plan

1. **Structure** d'une appréciation des risques en microbiologie alimentaire
2. Présentation d'un **exemple simplifié**
3. **Méthode quantitative** d'appréciation des risques
4. **Applications** de l'appréciation quantitative des risques

6



Plan

1. **Structure** d'une appréciation des risques en microbiologie alimentaire
2. Présentation d'un **exemple simplifié**
3. **Méthode quantitative** d'appréciation des risques
4. **Applications** de l'appréciation quantitative des risques

7



Appréciation des risques

(ou évaluation des risques)

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- **Identification des dangers**
(hazard identification)
- **Appréciation des effets**
ou caractérisation des dangers
ou estimation de la loi dose-réponse
(hazard characterization ou dose-response assessment)
- **Appréciation de l'exposition**
(exposure assessment)
- **Estimation des risques**
(risk characterization)

8



Définitions du Codex Alimentarius

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- **Danger (hazard)** : « agent biologique, chimique ou physique présent dans un aliment ou état de cet aliment pouvant avoir un effet adverse sur la santé »
- **Risque (risk)** : « fonction de la probabilité d'un effet adverse pour la santé et de sa gravité, du fait de la présence d'un ou de plusieurs dangers dans un aliment »



9



Identification des dangers

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

« identification des agents biologiques, chimiques et physiques susceptibles de provoquer des effets adverses pour la santé et qui peuvent être présents dans un aliment donné ou un groupe d'aliments »



10



Identification des dangers en pratique

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Produit - Micro-organisme - Environnement

Existe-t-il un danger associé à ce triplet ?

Effets non cumulatifs et à court terme des micro-organismes pathogènes

- dangers relativement faciles à identifier à partir:
 - des causes identifiées de toxi-infections alimentaires antérieures
 - de l'étude des possibilités de contamination du produit
 - de la composition du produit et de son environnement
- ⇒ aptitudes de développement ou de survie des micro-organismes

11



Appréciation des effets

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

« Evaluation qualitative et/ou quantitative de la nature des effets adverses pour la santé associés au danger.
Aux fins d'évaluation des risques microbiologiques, seuls les micro-organismes et/ou leurs toxines font l'objet de cette étude. »



12



en pratique

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Dose → Réponse

Relation entre la dose ingérée et la réponse des consommateurs

Relation souvent mal connue

- Existence de sous-groupes à risque (suivant les pathogènes: enfants, personnes âgées, immunodéprimés, femmes enceintes)
- Expériences sur l'homme éthiquement impossibles ou non concluantes
- Peu de données épidémiologiques quantitatives
- Autres difficultés: virulence variable entre souches pathogènes d'une même espèce, effet de la matrice alimentaire sur la virulence, immunité des consommateurs variable entre les pays, ...

13



Appréciation de l'exposition

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

« Evaluation qualitative et/ou quantitative de l'ingestion probable d'agents biologiques, chimiques et physiques par le biais des aliments, ainsi que par suite de l'exposition à d'autres sources, le cas échéant »



14



en pratique

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Probabilité d'ingestion et dose ingérée ?

Difficulté majeure : évolution du nombre de micro-organismes au cours du temps

Informations utiles

- Contamination initiale du produit (fréquence et niveau)
- Modes de conservation et de préparation (cuisson)
- Evolution de la flore entre la contamination et la consommation (**modèles de la microbiologie prévisionnelle** : effet de T°C, pH, ...)
- Données de consommation : fréquence de consommation et portion ingérée

15



Estimation des risques

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

« Estimation qualitative et/ou quantitative, compte tenu des incertitudes inhérentes à l'évaluation, de la gravité et de la fréquence des effets néfastes connus ou potentiels sur la santé susceptibles de se produire dans une population donnée, sur la base de l'identification des dangers, de la caractérisation des dangers et de l'évaluation de l'exposition »



16



en pratique

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Etape finale, combinant les 3 précédentes

- Résumé clair de tous les paramètres pris en compte et de leur connaissance
- Estimation du risque final (pour une population donnée = nombre de cas attendu) et de son incertitude
- **Analyse de la sensibilité** visant la mise en évidence :
 - des lacunes importantes
 - des facteurs contrôlables influents
- **Evaluation de scénarios de prévention**

17



Nécessaire mise en commun de nombreuses compétences

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Compétences nécessaires :

- technologie alimentaire
- microbiologie
- génie des procédés frigorifiques
- épidémiologie
- sociologie
- statistique et modélisation
- ...

Partenaires nécessaires :

- producteurs
- transporteurs
- distributeurs
- pouvoirs publics
- scientifiques
- sociologues
- consommateurs
- ...

18



A retenir

- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications

- Principes établis par le Codex Alimentarius (FAO/OMS)
- Les 4 étapes de l'appréciation des risques :
 - Identification des dangers
 - Appréciation des effets
 - Appréciation de l'exposition
 - Estimation des risques
- Démarche nécessitant de très nombreuses informations (interdisciplinaire, multipartenaire)

19



Plan

1. Structure d'une appréciation des risques en microbiologie alimentaire
2. Présentation d'un **exemple simplifié**
3. Méthode quantitative d'appréciation des risques
4. Applications de l'appréciation quantitative des risques

20



Etude d'un cas simplifié

- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications

Appréciation des risques liés à la consommation, par de jeunes enfants (< 5 ans), en restauration familiale, de steaks hachés de bœuf surgelés contaminés par *Escherichia coli* O157:H7

Exemple simplifié pour aborder la méthode



21



Identification des dangers



- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications

- *Escherichia coli* O157:H7 : pathogène connu?
- Contamination ?
- Survie et développement au cours des procédés (surgélation, cuisson) ?

22

Contacteur France 3 | Tout savoir sur France 3 ▶ France 2 ▶ France 4

Vendredi 04 Novembre 2005 ▶ Cette semaine sur France Télévisions Rechercher sur no

France 3 > Régions > Ouest > Info

| | | | | | |
|-----------------------------|---|-------|-----|-----------|-----|
| Régions |  | | | | |
| Alsace | <table border="1"> <tr> <td>Infos</td> <td>Dos</td> </tr> <tr> <td>Emissions</td> <td>Gui</td> </tr> </table> | Infos | Dos | Emissions | Gui |
| Infos | Dos | | | | |
| Emissions | Gui | | | | |
| Aquitaine | | | | | |
| Bourgogne | | | | | |
| Franche-Comté | | | | | |
| Corse | | | | | |
| Limousin | | | | | |
| Poitou-Charentes | | | | | |
| Lorraine | | | | | |
| Champagne-Ardenne | | | | | |
| Méditerranée | | | | | |
| Nord Pas-de-Calais Picardie | | | | | |
| Normandie | | | | | |
| Ouest | | | | | |
| Paris Ile-de-France Centre | | | | | |
| Rhône-Alpes Auvergne | | | | | |

L'INFO

Le steak haché infecté venait du Lion d'Angers

L'abattoir de la SOVIBA, fournisseur du groupe Leclerc, est au coeur de cette affaire de sécurité alimentaire

Dix-huit personnes ont été intoxiquées, pour la plupart des enfants. Toutes ont pour point commun d'avoir consommé des steaks hachés surgelés distribués par les magasins E.Leclerc, qui ont rappelé dimanche les lots suspects. Ces lots, de la marque Chantegril, ont été fabriqués entièrement par la SOVIBA, basée au Lion d'Angers.




Appréciation des effets



- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications

- Effets connus
 - **Modèle dose-réponse pour le SHU**
action indépendante des bactéries
1 bactérie unique peut infecter l'hôte, mais la probabilité de cet événement est très faible (r)
- modèle :
- $$p(N) =$$
- **Données épidémiologiques** recueillies lors de l'épidémie française de novembre 2005
r estimé à 0.0012 (IC à 95% : [0.00053 ; 0.0023])

24



Appréciation de l'exposition ?

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Informations utiles :

- Niveau de contamination initiale de la viande surgelée : C (UFC.g⁻¹)
- Taille de la portion ingérée : S (g)
- Cuisson
 - Préférence de cuisson : CP
 - ⇒ Réduction décimale liée à la cuisson : R
- Modèle d'exposition
 - Dose moyenne : **D =**
 - Dose pour une portion (N) : loi de Poisson de moyenne D

25



Niveau de contamination initial

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Niveau observé lors de l'épidémie française de novembre 2005 sur des échantillons de viande surgelée provenant du lot incriminé

$$C = 6 \text{ UFC.g}^{-1}$$

(IC à 95% : [3 ; 9])

26



Taille de la portion ingérée

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Résultats de grandes enquêtes de consommation réalisées en France en 2005
- S (g) pour les enfants de moins de 5 ans :
 - min : 10 g
 - max : 200 g
 - moyenne : 74 g
 - médiane : 79 g
- Loi de distribution ajustée : Weibull(shape=2.2,scale=83.3)

27



Préférence de cuisson : CP

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Résultats d'une enquête menée par l'AFSSA auprès de parents de jeunes enfants sur la préférence de cuisson des steaks hachés à partir de photos
- Répartition observée:
 - Cru : 0%
 - Saignant : 9.7%
 - Rosé : 41%
 - Bien cuit : 49.3%

28



cru



rosé



saignant



bien cuit



Réduction décimale liée à la cuisson

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Expériences de cuisson de steaks surgelés réalisées à l'AFSSA (à la poêle avec un retournement à mi-cuisson)

Valeurs de R observées :

- Saignant : [0 ; 0.9]
- Rosé : [0.2 ; 1.4]
- Bien cuit : [1.2 ; 2.8]

30



Appréciation des risques

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Résumé des paramètres à prendre en compte et des modèles:

- exposition
C, S, CP \Rightarrow R
 - dose moyenne : $D = C \times S \times 10^{-R}$
 - dose individuelle : $N \sim \text{Poisson}(D)$
- loi dose - réponse
r
 - Risque de SHU pour dose moyenne
 $p(D) = 1 - \exp(-r \times D)$
 - Risque de SHU pour dose individuelle
 $p(N) = 1 - (1 - r)^N$

31



Méthode de calcul ?

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Estimation du risque final = probabilité de développer un SHU lors d'une consommation de steak haché

en prenant en compte la variabilité

- ❖ Estimation dans le pire des cas ?
en fixant les paramètres aux valeurs maximisant le risque
- ❖ Estimation dans le meilleur des cas ?
en fixant les paramètres aux valeurs minimisant le risque
- ❖ Estimation dans le cas moyen ?
en fixant les paramètres aux valeurs moyennes

A vous d'essayer !

32



Estimation dans le pire des cas



1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Paramètres supposés non variables :
 - $c = 6 \text{ UFC.g}^{-1}$
 - $r = 0.0012$
- Paramètres supposés variables :
 - S =
 - CP =
 - R =
- Dose moyenne ingérée :
 $D = C \times S \times 10^{-R} =$
- Risque de SHU associé :
 $p(D) = 1 - \exp(-r \times D) =$

33



Estimation dans le meilleur des cas



1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Paramètres supposés non variables :
 - $c = 6 \text{ UFC.g}^{-1}$
 - $r = 0.0012$
- Paramètres supposés variables :
 - S =
 - CP =
 - R =
- Dose moyenne ingérée :
 $D = C \times S \times 10^{-R} =$
- Risque de SHU associé :
 $p(D) = 1 - \exp(-r \times D) =$

34



Estimation dans le cas moyen



1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Paramètres supposés non variables :
 - $c = 6 \text{ UFC.g}^{-1}$
 - $r = 0.0012$
- Paramètres supposés variables :
 - S =
 - CP =
 - R =
- Dose moyenne ingérée :
 $D = C \times S \times 10^{-R} =$
- Risque de SHU associé :
 $p(D) = 1 - \exp(-r \times D) =$

35



Critique de l'approche

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- ❖ Même sur un cas aussi simple il est difficile de prendre en compte toutes les sources de variabilité
Difficile dans notre exemple de calculer le nombre de cas attendu pour une population
- ❖ une estimation unique du risque est donnée sans indication de son imprécision
interprétation délicate du résultat numérique

36



A retenir

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications



- On ne peut pas mener une appréciation quantitative des risques à partir d'estimations ponctuelles des paramètres d'intérêt
- Il est difficile de tenir compte de la variabilité sur les paramètres en « bricolant » un calcul simple

37



Plan

1. **Structure** d'une appréciation des risques en microbiologie alimentaire
2. Présentation d'un **exemple simplifié**
3. **Méthode quantitative** d'appréciation des risques
4. **Applications** de l'appréciation quantitative des risques

38



Appréciation quantitative

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- « **Evaluation quantitative des risques** : Evaluation des risques exprimée numériquement et indication des incertitudes concomitantes »
- « L'expression de l'**incertitude** ou de la **variabilité** dans le résultat de l'estimation des risques doit être quantifiée dans la mesure où cela est scientifiquement réalisable »



39



Incertitude et variabilité

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Incertitude :
 - manque de connaissance liée
 - aux erreurs de mesures
 - aux erreurs d'échantillonnage
 - à l'absence de données
 - ...
- Variabilité :
 - hétérogénéité naturelle liée
 - aux diversités entre hôtes, micro-organismes, produits, conditions de conservation ou de préparation ...

40



Utilisation du Monte Carlo

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Méthode de simulation par échantillonnage permettant
- la prise en compte de toutes **les sources de variabilité (et/ou d'incertitude)**
 - la génération d'une analyse de sensibilité du risque final à la variabilité (ou l'incertitude) de chaque paramètre

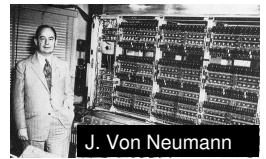
41



Méthode de Monte Carlo

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Méthode inventée par S. Ulam et J. Von Neumann lors de la mise au point de la bombe H

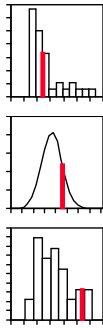


- Méthode basée sur des tirages aléatoires
- Objectif en AQR: obtenir un échantillon de la distribution du risque à partir d'échantillons de chaque paramètre

42

Schéma d'utilisation de la méthode de Monte Carlo 1D

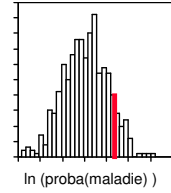
distributions en fréquences des paramètres



N tirages aléatoires pour chaque paramètre

(avec par ex. N = 10 000)

distribution en fréquences du risque de maladie



Revenons à notre exemple

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Utilisation de la méthode de Monte Carlo pour prendre en compte les sources de variabilité dans l'exemple simplifié

Appréciation des risques liés à la consommation, par de jeunes enfants (< 5 ans), en restauration familiale, de steaks hachés de bœuf surgelés contaminés par *Escherichia coli* O157:H7

44



Distribution du risque

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

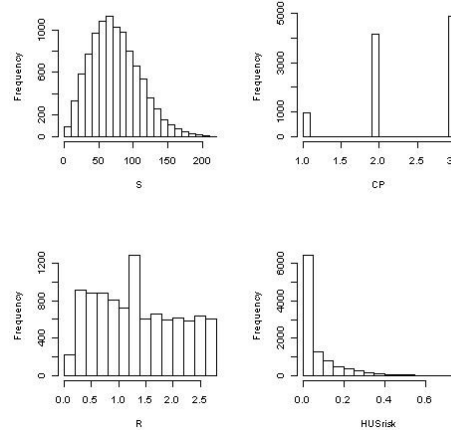
- Risque individuel moyen estimé à 0.065
- Intervalle de variabilité à 95% sur le risque individuel : [0.0048 ; 0.34]
- Nombre de cas attendu pour 1000 consommations en prenant en compte la variabilité du risque individuel : 65

45



Histogrammes des entrées et sortie du modèle

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

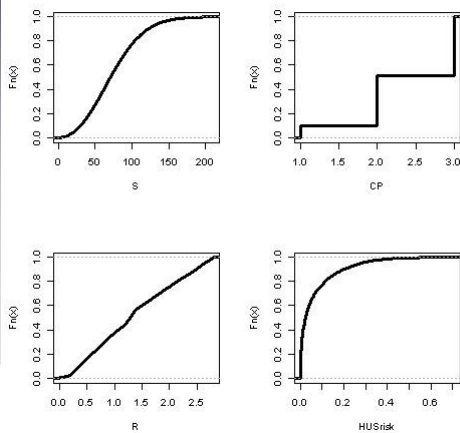


46



Fréquences cumulées des entrées et sortie du modèle

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

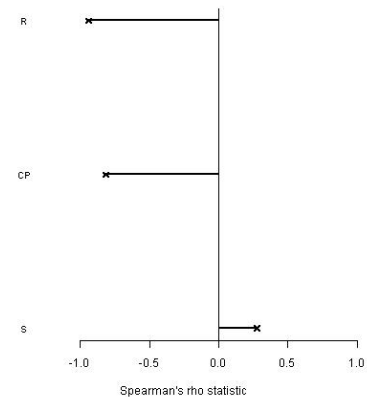


47



Analyse de sensibilité

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications



« Tornado chart »
Calcul des coefficients de corrélation de rang entre la sortie et chaque entrée du modèle

48



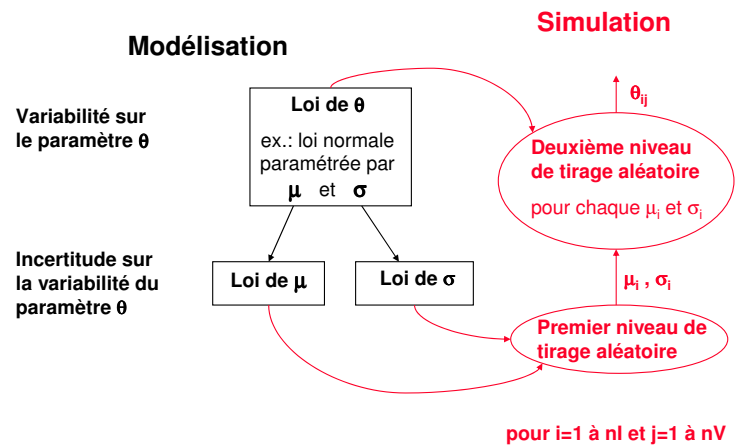
Prise en compte de l'incertitude: Monte Carlo 2D

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Séparation de l'incertitude et de la variabilité recommandée
- Méthode: modélisation hiérarchique
 1. Variabilité
lois de distribution sur l'entrée caractérisée par des paramètres
 2. Incertitude
loi de distribution caractérisant l'incertitude sur chaque paramètre
- Simulations de Monte Carlo à 2 dimensions (2D)

49

Principe du Monte Carlo 2D



MC 2D sur notre exemple

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

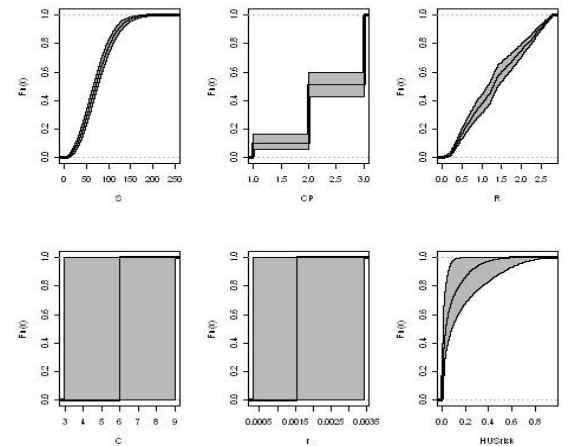
- Risque moyen estimé à 0.080
- Incertitude à 95% sur ce risque moyen : [0.016 ; 0.18]
- Nombre de cas attendu pour 1000 consommations en prenant en compte la variabilité du risque individuel : entre 16 et 180

51



Fréquences cumulées avec bandes d'incertitude

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications



52



A retenir

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Nécessaire prise en compte des sources d'incertitude et de variabilité
- Méthode classiquement utilisée : simulation des Monte Carlo
 - Monte Carlo 1D : prise en compte uniquement de la variabilité (ou uniquement de l'incertitude)
 - Monte Carlo 2D : prise en compte de la variabilité et de l'incertitude de façon hiérarchique

53



Plan

1. **Structure** d'une appréciation des risques en microbiologie alimentaire
2. Présentation d'un **exemple simplifié**
3. **Méthode quantitative** d'appréciation des risques
4. **Applications** de l'appréciation quantitative des risques

54



De la fourche à la fourchette

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Appréciation quantitatives des risques (AQR) de la fourche à la fourchette

→ aide à la gestion des risques



55



Pathogènes faisant l'objet d'AQR

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- *Listeria monocytogenes*
- Salmonelles
- *Escherichia coli* O157:H7
- *Campylobacter* spp.
- *Vibrio* spp.
- *Enterobacter sakazakii*
- ...



56



Publications de l'OMS

<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/>

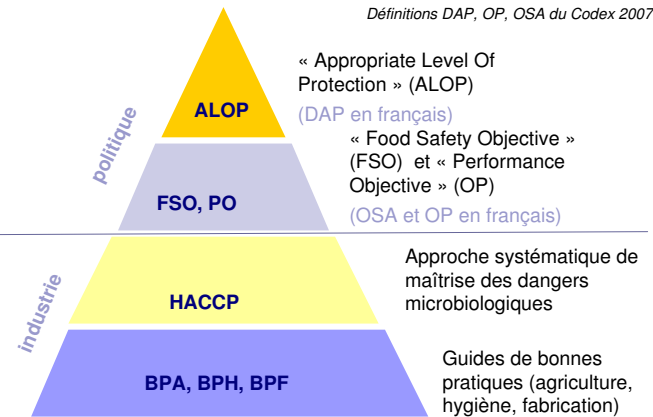
57



Gestion des risques

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

Définitions DAP, OP, OSA du Codex 2007



58



ALOP (ou DAP)

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- Le degré de protection que le pays membre juge adéquat lors de l'établissement de mesures sanitaires et phytosanitaires pour protéger la vie humaine, animale ou végétale ou assurer la santé sur son territoire

59



FSO (ou OSA)

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- La fréquence et/ou la concentration maximale d'un danger dans un aliment au moment de la consommation, qui offre le degré approprié de protection de la santé publique

60



PO (ou OP)

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

- La fréquence maximale et/ou concentration maximale d'un risque présenté par un aliment à une étape donnée de la chaîne alimentaire précédant la consommation et qui assure la réalisation d'un FSO ou de l'ALOP, selon le cas.

61



Autres définitions

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

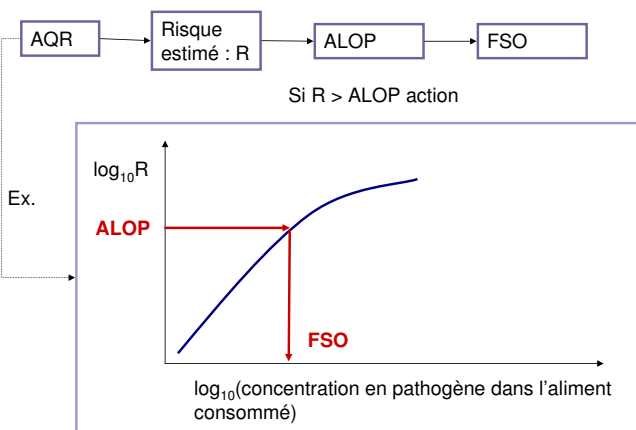
- **Mesure de maîtrise** : toute intervention et activité à laquelle on peut avoir recours pour prévenir ou éliminer un danger qui menace la sécurité de l'aliment ou le ramener à un niveau acceptable.
- **Critère de performance (CP)** : la fréquence et/ou la concentration d'un danger dans un aliment qui doit être atteint lors de l'application d'une ou de plusieurs mesures de maîtrise pour contribuer à un PO ou à un FSO.

62



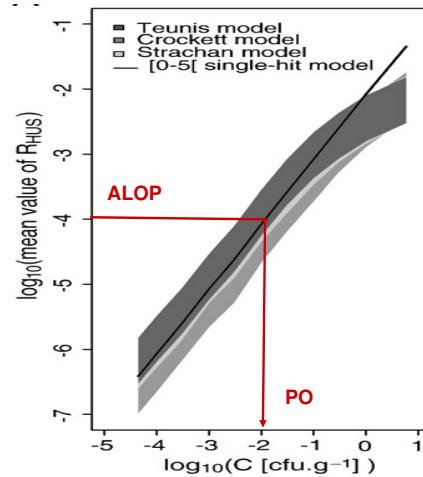
Rôle de l'AQR

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications



63

Exemple de figure donnant le risque moyen de SHU en fonction du niveau de contamination de la viande avant cuisson (enfants de moins de 5 ans)

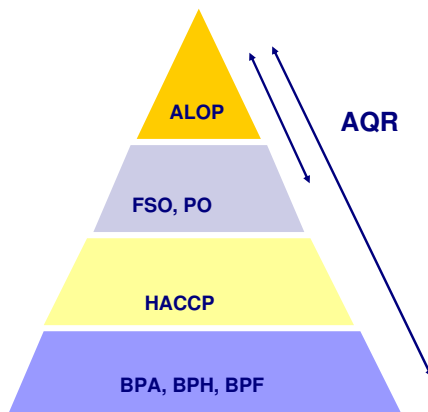


Extrait de Delignette-Muller et Cornu, 2008



A retenir

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications



65



Conclusions

Les AQR sont d'un grand intérêt pour l'aide à la gestion des risques à conditions qu'elles respectent les principes :

- démarche commune structurée
- méthode rigoureuse
- transparence
- objectivité
- ⇒ séparation entre AQR et gestion des risques
- complète

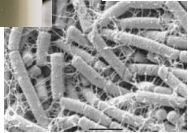
66



Exemple 2

***Bacillus cereus* dans du lait pasteurisé**

inspiré de «A risk assessment study of *Bacillus cereus* present in pasteurized milk » Notermans *et al.*, 1997 (Food Microbiol.)



à vous de jouer !