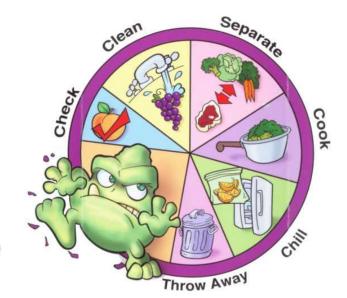
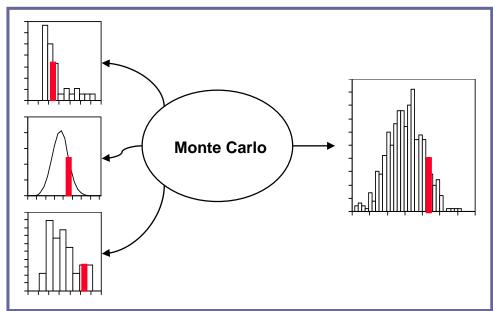
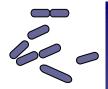
Appréciation quantitative des risques en microbiologie alimentaire







Contexte

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



Contexte international



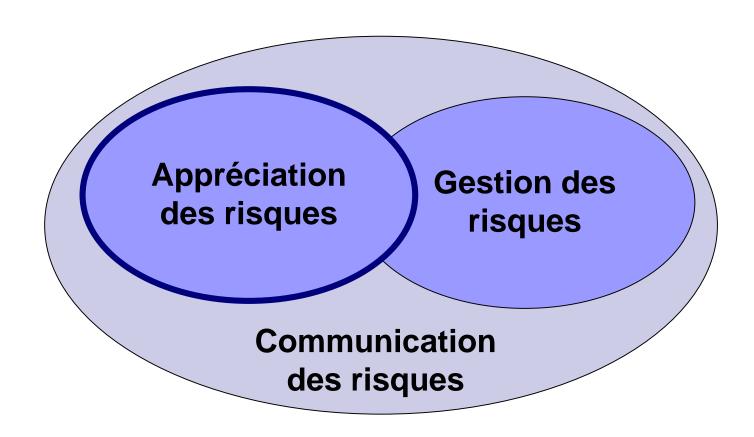


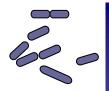


- Principes de base établis par un consensus international FAO/OMS, au sein du Codex Alimentarius
- Les missions du Codex Alimentarius (créé en 1963) : Établir des normes alimentaires et lignes directrices pour assurer
 - □ la protection de la santé des consommateurs,
 - des pratiques loyales dans le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



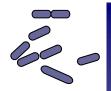
Analyse des risques





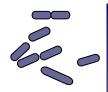
Objectifs pédagogiques

- 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



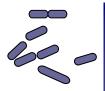
Plan

- 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



Plan

- 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



Appréciation des risques

(ou évaluation des risques)

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)



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»

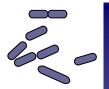


Identification des dangers

- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthod
- 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 »





Identification des dangers en pratique

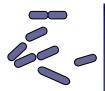
- . Structure
- Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications

Produit - Micro-organisme - Environnement

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

Effets non cumulatifs et à court terme des microorganismes pathogènes

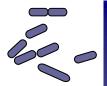
- dangers relativement faciles à identifier à partir:
 - des causes identifiées de toxi-infections alimentaires antérieures
 - de l'étude des possibilités de contamination du produit
 - de la composition du produit et de son environnement
 ⇒ aptitudes de développement ou de survie des microorganismes



Appréciation des effets

- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthod
- 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.»





en pratique

2. Exemple

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, ...



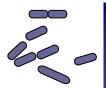
Appréciation de l'exposition

- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthod
- 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 »







en pratique

3. Méthode

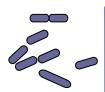
4. Applications

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

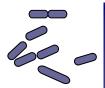


Estimation des risques

- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthod
- 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 »





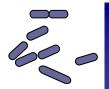
en pratique

2. Exemple

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



Nécessaire mise en commun de nombreuses compétences

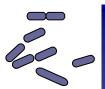
- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications

Compétences nécessaires :

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

Partenaires nécessaires :

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



A retenir

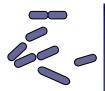


- Principes établis par le Codex Alimentarius (FAO/OMS)
- Les 4 étapes de l'appréciation des risques:
 - Identification des dangers
 - □ Appréciation des effets
 - Appréciation de l'exposition
 - □ Estimation des risques
- Démarche nécessitant de très nombreuses informations (interdisciplinaire, multipartenaire)



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



Etude d'un cas simplifié

. Structure 2. Exemple

3. Wethode
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





Identification des dangers

- 1. Structure
 2. Exemple
 3. Méthode
- 4. Applications
- Escherichia coli O157:H7 : pathogène connu?
 - cause diagnostiquée de nombreuses infections d'origine alimentaire (notamment aux USA)
- Contamination ?
 - Contamination des carcasses par les fèces des bovins
- Survie et développement au cours des procédés (surgélation, cuisson) ?
 - peu ou pas de destruction par surgélation
 - pas de destruction totale si cuisson imparfaite (fréquente pour des steaks surgelés cuits à la poêle sans décongélation préalable)

Vendredi 04 Novembre 2005

Cette semaine sur France Télévisions

Rechercher sur no

France 3 > Régions > Ouest > Info

Régions

Alsace

Aquitaine

Bourgogne

Franche-Comté

Corse

Limousin

Poitou-

Charentes

Lorraine

Champagne-

Ardenne

Méditerranée

Nord Pas-de-

Calais Picardie

Normandie

Quest

Paris Ile-de-

France Centre

Rhône-Alpes

Auverane



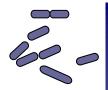
Le steak haché infecté venait du Lion d'Angers



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-



Appréciation des effets

1. Structure 2. Exemple 3. Méthode

4. Applications

Effets connus

Diarrhées éventuellement sanglantes avec complication possible vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) (atteinte sévère des reins, coma ...)

 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:

$$p(N) = 1 - (1-r)^{N}$$

■ **Données épidémiologiques** recueillies lors de l'épidémie française de novembre 2005 r estimé à 0.0012 (IC à 95% : [0.00053 ; 0.0023])



Appréciation de l'exposition

Structure
 Exemple
 Méthode

Informations utiles:

- Niveau de contamination initiale de la viande surgelée : C (UFC.g⁻¹)
- Taille de la portion ingérée : S (g)
- Cuisson

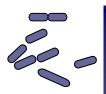
Préférence de cuisson : CP

⇒ Réduction décimale liée à la cuisson : R

Modèle d'exposition

□ Dose moyenne : $D = C \times S \times 10^{-R}$

Dose pour une portion (N): loi de Poisson de moyenne D



Niveau de contamination initial

1. Structure
2. Exemple
3. Méthode

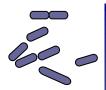
Niveau observé lors de l'épidémie française de novembre 2005 sur des échantillons de viande surgelée provenant du lot incriminé

 $C = 6 \text{ UFC.g}^{-1}$ (IC à 95% : [3 ; 9])



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)



Préférence de cuisson : CP

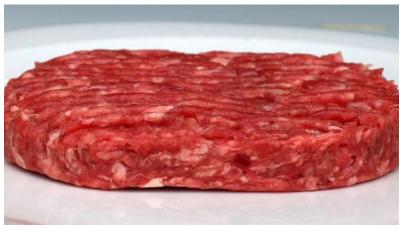
- 1. Structure
 2. Exemple
 3. Méthode
 4 Applications
- Résultats d'une enquête menée par l'AFSSA auprès de parents de jeunes enfants sur la préférence de cuisson des steaks hachés à partir de photos
- Répartition observée:

□ Cru: 0%

☐ Saignant: 9.7%

□ Rosé : 41%

□ Bien cuit : 49.3%





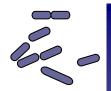


cru rosé





saignant bien cuit



Réduction décimale liée à la cuisson

. Structure

2. Exemple

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]

Appréciation des risques

I. Structure

. Exemple 8. Méthode

4. Applications

Résumé des paramètres à prendre en compte et des modèles:

exposition

C, S, CP ⇒ R

□ dose moyenne : $D = C \times S \times 10^{-R}$

□ dose individuelle : N ~ 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

$$p(N) = 1 - (1-r)^{N}$$



Méthode de calcul?

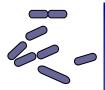
1. Structure
2. Exemple
3. Méthode
4. Applications

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!



Estimation dans le pire des cas

- 1. Structure
 - Méthode
- 4. Applications

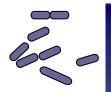
- Paramètres supposés non variables :
 - \Box **C** = 6 UFC.g⁻¹
 - \Box r = 0.0012
- Paramètres supposés variables :
 - □ **S** = 200 g
 - □ CP = « saignant »
 - \square R = 0 log₁₀UFC.g⁻¹
- Dose moyenne ingérée :

$$D = C \times S \times 10^{-R} = 1200 \text{ cell.}$$

■ Risque de SHU associé :

$$p(D) = 1 - exp(-r \times D) = 0.76$$

76%



Estimation dans le meilleur des cas

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

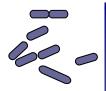
- Paramètres supposés non variables :
 - \Box **C** = 6 UFC.g⁻¹
 - \Box r = 0.0012
- Paramètres supposés variables :
 - \square **S** = 10 g
 - □ CP = « bien cuit »
 - \Box R = 2.8 log₁₀UFC.g⁻¹
- Dose moyenne ingérée :

$$D = C \times S \times 10^{-R} = 0.0951$$
 cell.

■ Risque de SHU associé :

$$p(D) = 1 - exp(-r \times D) = 0.00011$$

0.011%



Estimation dans le cas moyen

- 1. Structure 2. Exemple
- 4. Applications

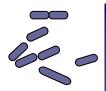
- Paramètres supposés non variables :
 - \Box **C** = 6 UFC.g⁻¹
 - \Box r = 0.0012
- Paramètres supposés variables :
 - □ S = 74 g
 - □ CP = 0.097 x « saignant » + 0.41 x « rosé » + 0.497 x « bien cuit »
 - \square R = 0.097 x 0.45 + 0.41 x 0.8 + 0.497 x 2 = 1.36 \log_{10} UFC.g⁻¹
- Dose moyenne ingérée :

$$D = C \times S \times 10^{-R} = 19.5 \text{ UFC}$$

Risque de SHU associé :

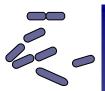
$$p(D) = 1 - exp(-r \times D) = 0.023$$

2.3%



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



A retenir

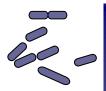


- 1. Structure 2. Exemple 3. Méthode
- 4. Applications
- On ne peut pas mener une appréciation quantitative des risques à partir d'estimations ponctuelles des paramètres d'intérêt
- Il est difficile de tenir compte de la variabilité sur les paramètres en « bricolant » un calcul simple



Plan

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



Appréciation quantitative

- . Structure
- 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 »



Incertitude et variabilité

- 1. Structure
- 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 ...

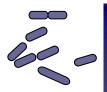


Utilisation du Monte Carlo

- . Structure
- 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



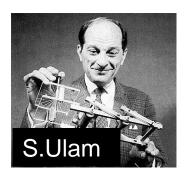
Méthode de Monte Carlo

Structure

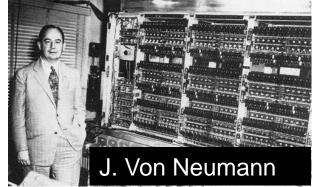
3. Méthode

4. Applications

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



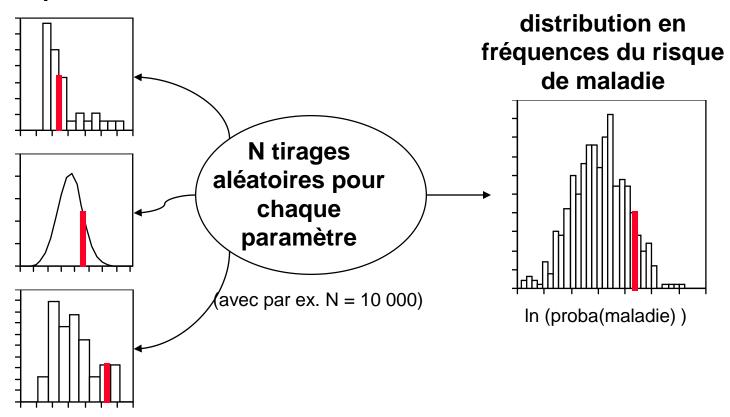


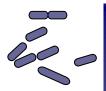


- Méthode basée sur des tirages aléatoires
- Objectif en AQR: obtenir un échantillon de la distribution du risque à partir d'échantillons de chaque paramètre

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

distributions en fréquences des paramètres





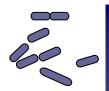
Revenons à notre exemple

I. Structure
2. Exemple

3. Méthode

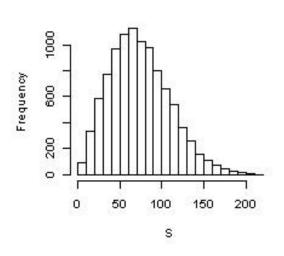
 Utilisation de la méthode de Monte Carlo pour prendre en compte les sources de variabilité dans l'exemple simplifié

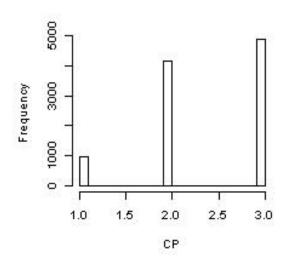
> Appréciation des risques liés à la consommation, par de jeunes enfants (< 5 ans), en restauration familiale, de steaks hachés de bœuf surgelés contaminés par *Escherichia coli* O157:H7

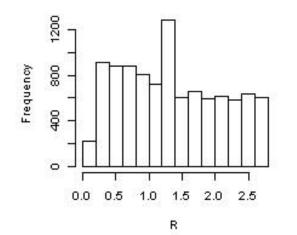


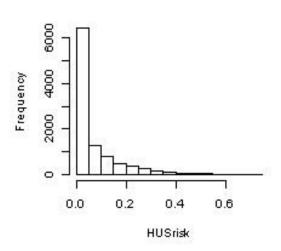
Histogrammes des entrées et sortie du modèle

- Structure
 Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications











Distribution du risque

3. Méthode

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

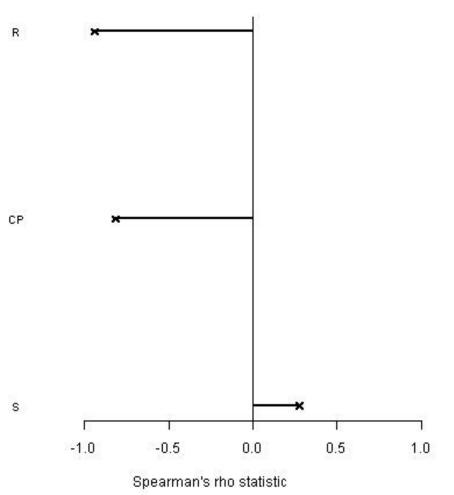


Analyse de sensibilité

Structure
 Exemple

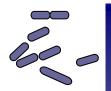
3. Méthode

4. Applications



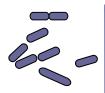
« Tornado chart »

Calcul des coefficients de corrélation de rang entre la sortie et chaque entrée du modèle



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

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



MC 2D sur notre exemple

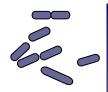
- 1. Structure 2. Exemple
- 3. Méthode

- 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

A retenir

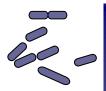


- 3. Méthode
- Nécessaire prise en compte des sources d'incertitude et de variabilité
- Méthode classiquement utilisée : simulation des Monte Carlo
 - Monte Carlo 1D : prise en compte uniquement de la variabilité (ou uniquement de l'incertitude)
 - Monte Carlo 2D : prise en compte de la variabilité et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



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

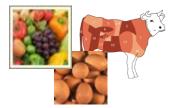


De la fourche à la fourchette

- 1. Structure
- 3. Méthode
- 4. Applications
- Appréciation quantitatives des risques (AQR) de la fourche à la fourchette

→ aide à la gestion des risques



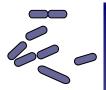












Pathogènes faisant l'objet d'AQR

- . Structure
- 2. Exemple
- 4. Applications

Listeria monocytogenes



Salmonelles



Escherichia coli O157:H7



Campylobacter spp.



Vibrio spp.



Enterobacter sakazakii



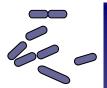
...



Publications de l'OMS

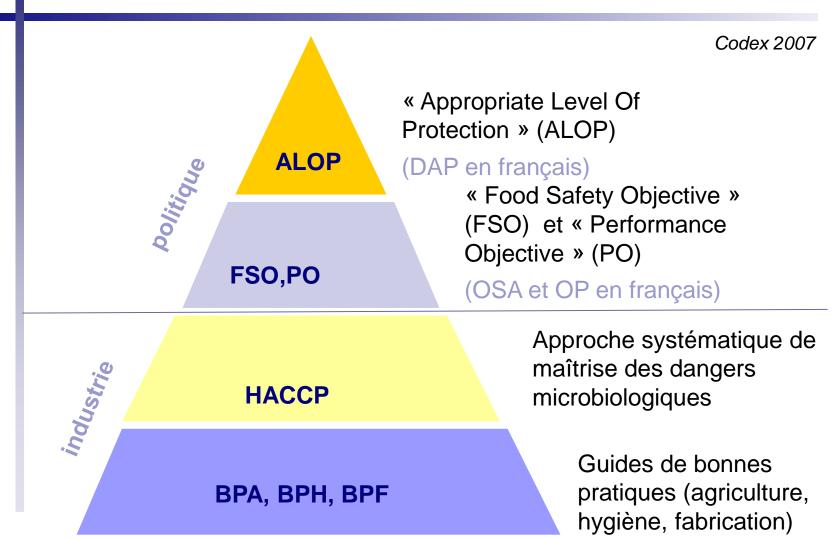
http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/

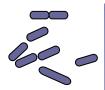




Gestion des risques

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





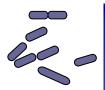
ALOP (ou DAP)

. Structure

2. Exemple

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



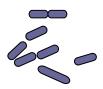
FSO (ou OSA)

. Structure

2. Exemple

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

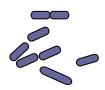


PO (ou OP)

2. Exemple

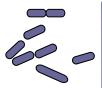
4. Applications

■ 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.



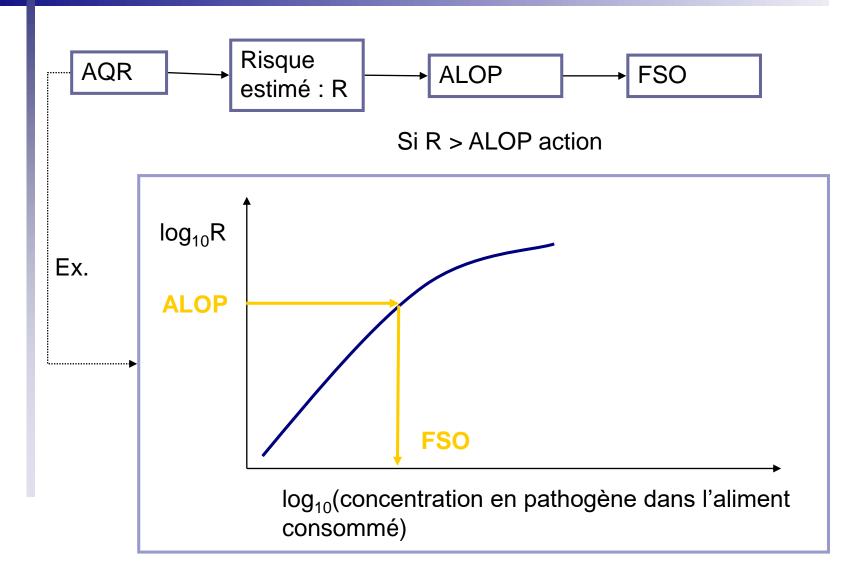
Autres définitions

- Structure 5
- 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.

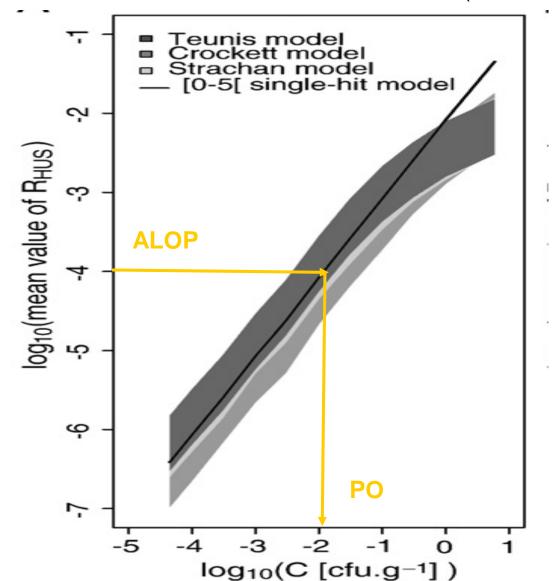


Rôle de l'AQR

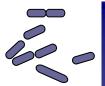
- 1. Structure
- 2. Exemple
- 3. Méthode
- 4. Applications



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)

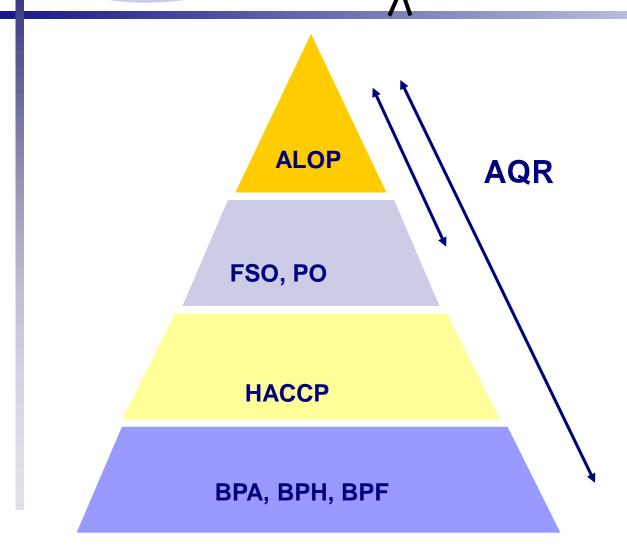


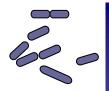
Extrait de Delignette-Muller et Cornu, 2008



A retenir

- Structure
 Exemple
 Méthode
 Applications

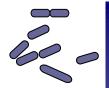




Conclusions

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
- □ complétude



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.)

