



## ÉVALUATION DE L'EXPOSITION À *L. MONOCYTOGENES* : EXEMPLE DU CALCUL DE LA FRÉQUENCE D'EXPOSITION LIÉE AUX RILLETES

M. Cornu, Y. Damerjji, A. Beaufort

Afssa, laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires, 94706 Maisons Alfort Cedex. E-mail : a.beaufort@afssa.fr

### I. INTRODUCTION

L'analyse des risques regroupe trois composantes : une composante scientifique, l'appréciation des risques, une composante politique, la gestion des risques et une composante plus large, la communication liée aux risques. Dans la terminologie du Codex Alimentarius, la composante scientifique, l'appréciation des risques, se décompose elle-même en 4 étapes : l'identification du danger (étape préalable d'étude du danger considéré, le danger pouvant être un micro-organisme pathogène, une molécule toxique etc.), l'appréciation de l'exposition (qui vise à qualifier ou quantifier l'ingestion de ce danger, au travers de la consommation d'aliments contaminés), la caractérisation du danger (ou estimation de la relation dose-réponse, c'est-à-dire le lien entre exposition - ingestion d'un danger - et risque - probabilité d'un effet néfaste) et la caractérisation du risque (étape finale de compilation des étapes précédentes).

Le Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agroalimentaires de l'Afssa (situé à Maisons-Alfort), a conduit, entre 2001 et 2004, un projet de recherche auquel ont participé 9 équipes scientifiques (six équipes issues de trois laboratoires Afssa, une équipe du Cemagref, une équipe de l'école vétérinaire de Lyon, une équipe de l'Inra). L'objectif était d'établir des méthodes pour une approche fédérée, interdisciplinaire et intégrée d'évaluation de l'exposition à un danger microbien. Ce projet a été appliqué à un danger, *L. monocytogenes*, dans trois aliments réfrigérés : le saumon fumé, le Munster au lait pasteurisé et les rillettes.

Afin de présenter les principes méthodologiques sur un exemple relativement simple, ce document se limite à l'étude de la fréquence d'exposition, pour une des 3 études de cas : les rillettes.

### II. DÉFINITIONS

Dans cette étude, le danger considéré est donc *L. monocytogenes*, l'aliment considéré est la rilette de Mans pur porc conditionnée et vendue en libre-service et la population considérée est la population française. On définit la fréquence d'exposition au danger *L. monocytogenes* lié aux rillettes comme la fréquence à laquelle un consommateur français consomme une portion de rillettes contaminé par *L. monocytogenes*. La fréquence d'exposition est donc le produit de la fréquence de consommation de rillettes en France par la fréquence de contamination des rillettes par *L. monocytogenes* (ou prévalence). C'est donc un modèle très simple, une multiplication, avec seulement deux entrées (ou inputs) : la fréquence de consommation et la prévalence.

De plus, la sortie choisie (output) est le nombre d'expositions par an en France, ce qui permet de n'exprimer que la dimension d'incertitude. En effet, pour une année donnée, ce nombre est unique (au sens où il n'est pas variable, même si le calcul doit prendre en compte les variabilités inter-consommateurs, inter-produits, inter-usines, etc.). En revanche, puisque nos données ne sont ni exhaustives ni parfaitement précises, l'estimation de ce nombre est incertaine. C'est pourquoi le résultat est exprimé uniquement sous la forme d'une distribution d'incertitude sur ce nombre d'expositions par an en France, même si variabilité et incertitude sont bien toutes deux prises en compte.

Pour chaque aliment, la fréquence de consommation est évaluée d'après l'enquête INCA réalisée en France en 1999 (1). La fréquence de contamination (ou prévalence) est évaluée d'après des analyses réalisées au cours des contrôles libératoires de 7 industriels (représentant 66% du marché). L'incertitude d'échantillonnage sur chacune de ces fréquences est représentée par une loi statistique *ad hoc*, la loi Bêta. Le produit des deux distributions d'incertitudes est la fréquence d'incertitude sur la fréquence d'exposition.

### III. FRÉQUENCE DE CONTAMINATION (OU PRÉVALENCE)

Les prévalences de *Listeria monocytogenes* dans les rillettes de chaque usine sont calculées à partir des résultats des contrôles libératoires effectués au cours l'année 2003.

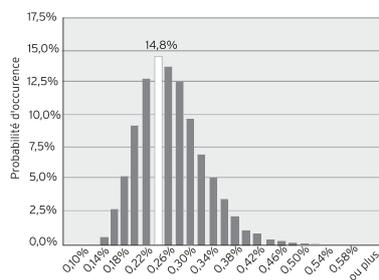
Afin de considérer l'incertitude sur l'échantillonnage pour l'estimation de la prévalence d'une usine, une loi Bêta est utilisée. S'il y a eu  $k_i$  échantillons positifs et  $n_i - k_i$  échantillons négatifs (parmi  $n_i$  échantillons analysés), alors l'incertitude sur l'estimation de la prévalence dans l'ensemble des pots analysés s'exprime par la loi Bêta ( $k_i + 0,5, n_i - k_i + 0,5$ ). Nous faisons l'hypothèse que la fréquence de contamination lors de ces contrôles libératoires est égale à la prévalence sur le marché. Cela revient à supposer que la fréquence de contamination dans l'ensemble de la production est égale à la fréquence de contamination dans les lots mis sur le marché (après exclusion des lots déclarés positifs). Cette hypothèse semble surprenante car elle remet totalement en cause l'utilité des contrôles libératoires. En effet, elle exclut le moindre « effet lot ». Elle est sécuritaire (la prévalence sur le marché est inférieure à la prévalence lors des contrôles libératoires s'il y a « effet lot », égale

s'il n'y en a pas). Elle nous a pourtant semblé relativement plausible, puisqu'elle correspond à l'hypothèse d'une source de contamination ponctuelle et aléatoire. En effet, étant données les précautions aujourd'hui prises dans les usines, un accident majeur de contamination (trémie totalement contaminée ayant pour conséquence la contamination d'un grand nombre de pots du même lot) semble rare. Il en résulte que la prévalence moyenne estimée à partir des contrôles libératoires est supposée égale à la prévalence du marché. On retient pour chaque usine la prévalence Bêta ( $k_i + 0,5, n_i - k_i + 0,5$ ).

Les parts de marché de chacune des 7 usines n'étant pas disponibles, nous avons fait l'hypothèse que le nombre d'analyses annuel de chaque usine était proportionnel à son tonnage de production et donc à sa part de marché. Le nombre total d'analyses effectuées par chaque usine ( $n_i$ ) rapporté au nombre total d'analyses effectuées par l'ensemble des usines ( $N = \sum_{i=1}^7 n_i$ ) est donc supposé représentatif de la part de marché de chaque usine (parmi les sept usines). En considérant une incertitude d'échantillonnage, l'incertitude sur cette part de marché est exprimée par la loi Bêta ( $n_i + 0,5, N - n_i + 0,5$ ).

La prévalence moyenne est égale à la moyenne des prévalences des sept usines pondérées par leurs parts de marché. En pratique, c'est la somme des produits des deux lois bêta définies antérieurement pour l'estimation de la prévalence et des parts de marchés de chaque usine.

La méthode de simulation de Monte Carlo repose sur des tirages au sort multiples dans des distributions. Elle permet d'obtenir un histogramme (ou distribution) représentant la confiance (ou l'incertitude) sur cette estimation (figure 1). Dans cette étude, la modélisation de la prévalence moyenne prend en compte : l'incertitude liée à l'échantillonnage pour l'estimation de la prévalence de chaque usine, la variabilité entre les usines liée aux parts de marché et à la prévalence de chaque usine. Le biais possible lié à un éventuel « effet lot » (la prévalence « sortie usine » telle qu'elle est observée lors des contrôles libératoires pourrait être inférieure à la prévalence sur le marché) n'est pas pris en compte.



**Figure 1 :** distribution d'incertitude sur la prévalence moyenne de *Listeria monocytogenes* dans les rillettes mises sur le marché. Histogramme des probabilités d'occurrence de chaque prévalence moyenne. Clé de lecture : il y a environ 14,6% de « confiance » que la prévalence moyenne soit comprise entre 0,20% et 0,22%. Il y a 99,9% de « confiance » que la prévalence moyenne soit comprise entre 0,10% et 0,50%.

### IV. FRÉQUENCE DE CONSOMMATION

La fréquence de consommation de rillettes de porc a été étudiée sur trois populations définies à partir de l'enquête INCA 99 (2) : les enfants (3-14 ans), les adultes (15-64 ans) ou les personnes âgées (65 ans et plus). Les données recueillies concernent 2492 individus dont : 1018 enfants, 1229 adultes et 245 personnes âgées, suivies chacune pendant 7 jours. La fréquence de consommation est égale au nombre moyen de prises de rillettes (par jour ou par an) par personne dans la population étudiée.

Afin de considérer l'incertitude sur l'échantillonnage pour l'estimation des fréquences de consommation des rillettes de chaque population, une loi bêta est utilisée.

S'il y a eu  $r_n$  prises de portions de rillettes pour chaque population définie parmi  $j_n$  jours testés, alors l'incertitude sur l'estimation des fréquences de consommation pour chaque population s'exprime par la loi Bêta ( $r_n + 0,5, j_n - r_n + 0,5$ ).

L'estimation du nombre de jours testés pour chaque population définie est égale au nombre de personnes composant la population multiplié par sept jours (chaque personne a été suivie pendant sept jours).

La fréquence d'exposition dans une population est supposée être égale à la prévalence moyenne multipliée par la fréquence de consommation de la population prise en compte.

De plus, des données INSEE du recensement de 1999 (3) ont été utilisées pour estimer le nombre de français dans chaque catégorie de population.

Les résultats des enquêtes sont reportés dans le tableau 1.

De même que pour la prévalence, ce ne sont que des estimations ponctuelles, le résultat exhaustif de l'estimation est en fait une distribution d'incertitude (ou de confiance).

Catégories de Populations	Effectif (INCA 99)	Nombre de prises enregistrées (INCA99)	Fréquence de consommation par personne et par jour	Fréquence de consommation par personne et par an	Effectif population française (INSEE 1999)	Fréquence de consommation par an dans la population française
Enfants	1018	97	$1,36 \cdot 10^{-2}$	4,97	8,9 millions	44 millions
Adultes	1229	157	$1,82 \cdot 10^{-2}$	6,66	38,3 millions	255 millions
Pers. âgées	245	42	$2,45 \cdot 10^{-2}$	8,94	9,8 millions	87 millions

**Tableau 1 :** résultats des estimations des fréquences de consommations réalisées à partir de l'enquête INCA 99 et redressement pour la population française en utilisant les données du recensement (INSEE 1999). La fréquence de consommation par personne et par jour est égale au nombre de prises enregistrées divisé par l'effectif et par le nombre de jours d'enregistrement (7 jours). La fréquence de consommation par an dans la population française est égale à la fréquence de consommation par personne et par jour multipliée par 365, et par l'effectif de chaque catégorie de population.

### V. ESTIMATION DE LA FRÉQUENCE D'EXPOSITION

L'aboutissement de la modélisation est une fréquence d'exposition (produit des fréquences de contamination et de consommation), qui peut être convertie en un nombre annuel d'expositions. Les distributions d'incertitude obtenues sont représentées sous la forme de fractiles (représentent une confiance cumulée) dans le tableau 2.

L'incertitude modélisée (essentiellement liée à l'échantillonnage) est de l'ordre d'un facteur de 1 à 3 entre les 2 bornes de l'intervalle de confiance à 95%. Cette incertitude là est déjà non négligeable. S'y ajoutent d'autres biais ou erreurs, non

Fractile	Enfants	Adultes	Personnes âgées
2,5%	$1,6 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 52 000/an	$2,2 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 308 000/an	$3,0 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 107 000/an
50%	$3,0 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 97 000/an	$4,0 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 560 000/an	$5,4 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 190 000/an
97,5%	$5,5 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 179 000/an	$7,1 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 990 000/an	$9,4 \cdot 10^{-5}$ /pers./jour 340 000/an

**Tableau 2 :** fractiles (2,5%, médiane ou fractile 50%, et 97,5%) de la fréquence d'exposition pour les enfants, les adultes et les personnes âgées et conversion en nombre annuel d'expositions.

Clé de lecture : Il y a 50% de « confiance » que la fréquence d'exposition des adultes soit inférieure à  $4 \cdot 10^{-5}$  par personne et par an (fractile 50% ou médiane). Il y a 95% de « confiance » que la fréquence d'exposition des enfants (3-14 ans) soit comprise entre  $1,6 \cdot 10^{-5}$  (fractile 2,5%) et  $5,5 \cdot 10^{-5}$  (fractile 97,5%) par enfant et par an.

pris en compte dans la modélisation de l'incertitude. Comme pour toute modélisation, la pertinence de l'estimation de la fréquence d'exposition d'une population définie à *Listeria monocytogenes* lors de la consommation des rillettes dépend de la qualité et de la quantité des données.

En ne retenant que les médianes, l'estimation du nombre annuel d'expositions à *L. monocytogenes* lié aux rillettes en France est d'environ 850 000 (= 97 000 + 560 000 + 190 000). Or le nombre annuel de listérioses (toutes origines confondues) est actuellement d'environ 200 en France (4). Il est donc évident que seule une infime minorité (au plus 200/850 000 = 0,02%, vraisemblablement beaucoup moins, puisque les rillettes ne sont pas la seule source de listériose) de ces expositions à *L. monocytogenes* conduisent à une listériose.

### 6. CONCLUSION

L'aboutissement d'une telle étude serait de quantifier la double distribution de variabilité et d'incertitude des niveaux d'exposition (nombres de cellules de *L. monocytogenes* ingérées à chaque exposition, ou consommation de rillettes contaminées) puis d'y associer une distribution d'incertitude du risque de listériose liée aux rillettes (exprimé sous la forme d'une probabilité de maladie, ou de décès, par prise alimentaire de rillettes, ou d'une probabilité de maladie, ou de décès, par personne et par an, ou d'un nombre attendu de cas, ou de décès, annuel en France). Ce calcul requiert de nombreuses données et un travail beaucoup plus important de modélisation que l'exemple partiel présenté ci-dessus. En effet, il est alors nécessaire de quantifier le niveau de contamination des rillettes à l'instant de leur consommation. Un modèle de microbiologie prévisionnelle doit alors être développé pour prédire la croissance de *L. monocytogenes* entre un point initial (par exemple la contamination post-cuisson) et le point final de l'ingestion du produit par le consommateur. Ce modèle, fondé sur des expériences de croissance en milieu liquide et/ou dans l'aliment (challenge tests ou tests de croissance) doit, si possible, être validé par des données en contamination naturelle (tests de vieillissement). Il requiert une caractérisation la plus exhaustive possible de la variabilité et de l'incertitude sur les niveaux de contamination en *L. monocytogenes* dans les rillettes et l'état de « stress » des cellules au point initial, les caractéristiques des rillettes autorisant la croissance de *L. monocytogenes*, l'aptitude des souches de *L. monocytogenes* à se développer dans les rillettes, les conditions (en particuliers thermiques) de conservation des rillettes entre la production et la consommation, les durées de conservation des rillettes avant consommation. Il est également nécessaire de quantifier les quantités de rillettes consommées par prise alimentaire et de disposer d'une loi dose-réponse, pour convertir l'exposition en risque.

Dans le cas des rillettes, les données disponibles ne nous permettent pas, à ce jour, de finaliser de façon satisfaisante ce type de calcul. En revanche, un tel exemple a été développé pour l'étude de cas sur le saumon fumé. Ce travail est en cours de publication (5).

### RÉFÉRENCES

- (1) CREDOC-AFSSA-DGAL, 2000. Enquête nationale sur les consommations alimentaires, Editions Tec & Doc.  
*L'enquête INCA a été réalisée par le CREDOC en 1998-99. Elle recueille toutes les prises alimentaires des individus pendant une semaine entière. Les données de consommation alimentaire ont été obtenues à partir de carnets de consommation, renseignés sur une période de 7 jours consécutifs, l'identification des aliments et des portions étant facilitée par un cahier photographique. L'enquête a été réalisée auprès de 3003 individus, enfants et adultes, représentatifs de la population française. La représentativité nationale a été assurée par stratification (âge, sexe, PCS individuelle et taille du ménage). L'échantillon des adultes comprend 1985 individus de 15 ans et plus. Les calculs ne portent que sur les adultes normo-évaluants. Cet échantillon comprend 1474 individus. L'échantillon des enfants regroupe 1018 individus âgés de 3 à 14 ans. Ne disposant d'aucune formule permettant de sélectionner les individus sous-évaluants, cet échantillon n'a pas été redressé.*
- (2) Note technique PASER : AQR/NBA/2005-102. Données et fréquences de consommation de rillettes de porc en France.
- (3) Recensement de la population. Mars 1999. Les résultats. <http://www.recensement.insee.fr>
- (4) Goulet V, Jacquet C, Martin P, Vaillant V, Laurent E, de Valk H. (2004). Surveillance de la listériose humaine en France, 2001. Bulletin épidémiologique hebdomadaire 9/2004 33-35.
- (5) Cornu M, Beaufort A, and the steering committee of the research project (2005). Methodological developments in exposure assessment of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon. Acta Horticulturae. 674 :391-395.

## APPRÉCIATION QUANTITATIVE DU RISQUE DE LISTÉRIOSE LORS DE LA CONSOMMATION DE RILLETTES INDUSTRIELLES

A. Beaufort<sup>1</sup>, H. Bergis<sup>1</sup>, P. Garry<sup>2</sup> et M. Cornu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Afssa Lerqap, 23 avenue du général de Gaulle, F-94706 Maisons-Alfort Cedex

<sup>2</sup> IFIP, 7 avenue du général de Gaulle, F-94700 Maisons-Alfort

L'objectif de ce travail est de réaliser une Appréciation Quantitative du Risque (AQR) de listériose lors de la consommation de rillettes industrielles du Mans vendues en GMS en France.

Dans cette optique, il est utilisé un modèle dose-réponse décrivant la relation entre le nombre de cellules ingérées et la probabilité de développer une listériose. Ce modèle est le modèle Exponentiel développé ci-après :  $P = 1 - \exp^{-r \log_{10}(N)}$ , formule dans laquelle P est la probabilité de listériose après ingestion d'une dose de N cellules et r est un paramètre fonction de la sensibilité de l'hôte (qui représente la probabilité, théorique, de listériose après ingestion d'une cellule). Les données permettant d'estimer l'exposition, i.e. d'obtenir la dose de cellules ingérées  $\log_{10}(N)$ , sont principalement obtenues à partir d'une enquête conduite auprès des fabricants de rillettes (caractéristiques physico-chimiques, prévalences et dénombrements de *Listeria monocytogenes*), d'une enquête de consommation (l'enquête INCA réalisée en France en 1999) et de résultats précédemment acquis dans nos laboratoires (tests de croissance, profils de températures au cours de la chaîne du froid). Certaines informations étant manquantes ou peu précises, quelques données reposent sur des hypothèses. Ces données sont traitées avec le logiciel @risk par la méthode de simulation de Monte Carlo. Cette méthode, basée sur des lois statistiques, prend en compte la variabilité et l'incertitude des mesures et permet d'obtenir des histogrammes représentant toutes les valeurs possibles de la variable prise en considération associées à des probabilités d'occurrence.

**Le niveau d'exposition**  $\log_{10}(N)$  lors de la consommation d'une portion de rillettes est fonction de la taille de la portion ingérée et de la concentration en *Listeria monocytogenes* (Lm).

La variabilité de la taille de la portion ingérée est décrite par une loi Normale, de moyenne 40,6 g, ajustée (données INCA).

Quant à la concentration en Lm lors de l'ingestion de portions contaminées, elle dépend de la contamination initiale, du profil thermique subi par le produit et du moment de l'ingestion et elle est exprimée par le modèle de croissance ci-après :  $X = X_0 e^{\mu_1 t_1} e^{\mu_2 t_2} e^{\mu_3 t_3}$  dans laquelle  $X_0$  représente le niveau de contamination initial exprimé en logarithme décimal,  $\mu_1$  est le taux de croissance de Lm pendant le temps de transport  $t_1$ ,  $\mu_2$  le taux de croissance de Lm pendant le temps de distribution  $t_2$ ,  $\mu_3$  correspondent au taux de croissance de Lm pendant le temps de conservation chez le consommateur  $t_3$ . La variabilité sur  $X_0$  est décrite par une loi Bêta Pert (avis d'experts) et la variabilité sur  $t_1$ ,  $t_2$  et  $t_3$  est décrite par trois lois Exponentielles (données antérieures). Les taux de croissance sont prédits par microbiologie prévisionnelle. Nos hypothèses conduisent à l'obtention d'une concentration moyenne en Lm de 4  $\log_{10}$  ufc/g.

A partir des tailles des portions et des concentrations en Lm, le niveau d'exposition en Lm exprimé en  $\log_{10}$  (N) lors de l'ingestion d'une portion contaminée peut être prédit : il est égal en moyenne à 5,5  $\log_{10}$  ufc/portion. Ce niveau est atteint dans les portions contaminées soit 0,14 % des portions ingérées (prévalence de 0,14 % obtenue par l'application de 2 lois Bêta aux résultats de pourcentages de pots de rillettes contaminés obtenus par analyses et aux parts de marché).

**Le risque de listériose** lors d'une consommation de rillettes peut alors être estimé en prenant en considération les approximations relatives aux hypothèses. Connaissant  $\log_{10}(N)$  et prenant en compte pour le paramètre r les valeurs de  $5,34 \times 10^{-14}$  pour la population immuno-compétente et  $5,85 \times 10^{-12}$  pour la population immuno-déprimée (consensus FAO-OMS), il apparaît que la probabilité de contracter une listériose [ $P = 1 - \exp^{-r \log_{10}(N)}$ ] lors de la consommation d'une portion de rillettes est égale à  $10^{-8}$  pour une personne immuno-compétente et à  $10^{-6}$  pour une personne immuno-déprimée.

Il est donc possible de modéliser le risque de listériose à partir de données pré-existantes. Cependant, les résultats de cette Appréciation Quantitative du Risque pourraient être plus précis en améliorant la qualité de certaines informations notamment celles relatives aux parts de marchés, au niveau initial de contamination, au suivi de contamination naturelle et à l'enquête de consommation.