

Användning av riskvärderingstekniker för att analysera mikrobiologiska hot

Elvira Kustmark



UPPSALA
UNIVERSITET

Teknisk- naturvetenskaplig fakultet
UTH-enheten

Besöksadress:
Ångströmlaboratoriet
Lägerhyddsvägen 1
Hus 4, Plan 0

Postadress:
Box 536
751 21 Uppsala

Telefon:
018 – 471 30 03

Telefax:
018 – 471 30 00

Hemsida:
<http://www.teknat.uu.se/student>

Abstract

Användning av riskvärderingstekniker för att analysera
mirkobiologiska hot

Risk assessment model to evaluate scenarios related to deliberate contamination of food

Elvira Kustmark

Increased awareness of the possibility of deliberate contamination of food along the food chain has created a need for an effective way to handle and analyse these situations. The aim of this study was to develop a quantitative risk assessment model for food safety, to identify knowledge gaps and to evaluate the usefulness of the model by applying it to different scenarios. A modular process risk model was used to simulate the transmission of microorganisms along the food chain. In the model there are two microbiological processes and four food-handling processes that affect the transmission of a microbial hazard in any food process. The outcome of the general model is the risk for illness per serving and the total number of illness cases.

Three different scenarios were evaluated. The results of the evaluation emphasized the importance of parameter uncertainty as well as parameter variability. In addition, knowledge gaps and risk reduction strategies were identified. The general model was also evaluated; both advantages and disadvantages were identified and ways to improve the model were suggested. An advantage is the structured approach, which gives the flexibility to adapt the model to different scenarios. Disadvantages include the lack of good data to define parameters and the static nature of the model. Suggested improvements include second-order models as well as dynamic models. It is important to remember that any risk assessment model represents a simplification of reality and must be validated in order to provide a useful and scientific basis for food safety decisions.

Handledare: Roland Lindqvist
Ämnesgranskare: Erik Söderbäck
Examinator: Elisabet Andrésdóttir
ISSN: 1650-8319, UPTec STS07 006

Sammanfattning

Både i Sverige och internationellt har beredskapen för mikrobiologiska hot lyfts fram de senaste åren. Det ska finnas en förmåga att hantera såväl avsiktliga som oavsiktliga incidenter som annars kan orsaka stora påfrestningar i samhället. Vid smittospridning via livsmedel påverkas effekterna av spridningen beroende på vilket livsmedel som kontamineras och vilken mikroorganism som används. Mikroorganismernas egenskaper i livsmedlet, var i livsmedelskedjan angreppet sker och hur livsmedlet produceras, hanteras och konsumeras påverkar mikroorganismens överlevnad och utbredning. Effekterna av hot eller angrepp kan vara svåra att förutse och för att effektivisera hanteringen av mikrobiologiska hot finns internationella riktlinjer för att göra riskvärderingar. Det finns dock ingen vedertagen riskvärderingsmetod. Syftet med examensarbetet var att utveckla ett modelleringsverktyg för att förbättra möjligheten att hantera mikrobiologiska hot mot livsmedelskedjan. Riskvärderingsmodellen ska ta hänsyn till relevanta faktorer och kunna användas för att identifiera kunskapsluckor och utvärdera effekten av olika scenarier.

Den generella riskvärderingsmodellen som skapats i arbetet utgår från de riktlinjer som uppställts för mikrobiologisk riskvärdering och är uppbyggd av moduler som beskriver mikrobiologiska processer och hanteringsförlopp som kan påverka överföringen av mikroorganismer i livsmedelskedjan. Givet en viss halt mikroorganismer vid ett kontamineringsstillfälle kan riskvärderingsmodellen uppskatta risken för sjukdom och antal sjukdomsdrabbade individer. Riskvärderingsmodellen anpassades för att undersöka och utvärdera tre utvalda scenarier. Varje scenario beskriver livsmedelskedjan för ett specifikt livsmedel som kontaminerats med en specifik mikroorganism eller toxin. För varje scenario undersöktes parameterosäkerheten och därmed behovet att reducera osäkerheten genom ytterligare mätningar för att öka tillförlitligheten av resultaten. Det visade sig också vara betydelsefullt att beskriva parametervariationen med statistiska fördelningar hellre än med punktvärden eftersom variationen kan ha en stor inverkan på resultaten. I scenarierna har även kunskapsluckor identifierats och flera riskreducerande aspekter har undersökts.

Både för- och nackdelar med riskvärderingsmodellen identifierades i arbetet. Den generella modellstrukturen är fördelaktig då den kan anpassas till olika scenarier. Det är möjligt att kontrollera varje steg i modellen och att inkludera nya steg eller parametrar utan att påverka hela modellstrukturen. Vissa processer som i modellen inte är så väldefinierade kan däremot beskrivas mer omfattande, t.ex. korskontaminering. Dessutom kan nya parametrar, såsom fördelningsfunktioner för varje livsmedelsenhet och smittspridning mellan människor, inkluderas. Riskvärderingsmodellen är användbar för att utvärdera en del aspekter i scenarierna, men andra angreppssätt är möjliga. Tänkbara vidareutvecklingar är att ta samtidig hänsyn till både osäkerhet och variation (sekundära modeller) eller att använda dynamiska modeller för att studera kontinuerliga förlopp i tiden. Verktygen som använts i arbetet fungerade bra som redskap för riskvärderingsmodellen, men om modellen blir mer komplex kan andra program vara fördelaktiga. För att öka tillförlitligheten och därmed användbarheten av resultaten bör modellen valideras och jämföras med en verklig situation. Det är viktigt att alla antaganden, gällande både modell och scenario, tydligt framgår för att en bra riskanalys ska kunna genomföras.

Innehållsförteckning

1 Inledning	3
1.1 Bakgrund	3
1.2 Syfte	4
1.3 Tillvägagångssätt och disposition	4
2 Mikrobiologisk riskvärdering och modellering	5
2.1 Biologiska angrepp via livsmedel	5
2.2 Riskvärdering	6
2.2.1 Faroidentifiering	7
2.2.2 Exponeringsuppskattning	7
2.2.3 Farokaraktärisering	7
2.2.4 Riskkaraktärisering	8
2.2.5 Osäkerhet och variation	8
2.3 Mikrobiologiska riskvärderingsmodeller	9
2.3.1 MPRM	9
2.3.1.1 Tillväxt	10
2.3.1.2 Inaktivering	11
2.3.1.3 Blandning	12
2.3.1.4 Delning	12
2.3.1.5 Borttagning	12
2.3.1.6 Korskontaminering	13
2.4 Modellering	13
2.4.1 Monte Carlo	13
2.4.2 Excel och @Risk	14
2.4.3 BestFit och statistiska fördelningar	14
2.4.3.1 Beta	14
2.4.3.2 Binomial	15
2.4.3.3 Diskret	15
2.4.3.4 Likformig	15
2.4.3.5 Logistisk	15
2.4.3.6 Normal	15
2.4.3.7 Poisson	15
2.4.3.8 Triangulär	15
2.5 Validering av QMRA-modeller och resultat	16
3 Riskvärdering av mikrobiologiska hot	17
Kapitel 3 är sekretessbelagt.	17
4 Diskussion av riskvärderingsmodellen	18
4.1 Reflektioner kring riskvärderingsmodellen	18
4.1.1 MPRM-metoden	18
4.1.2 Typ av modell	19
4.2 Modellvalidering	21
4.3 Avslutande kommentarer	22

Referenser	23
Artiklar	23
Böcker och rapporter	24
Internetkällor	26
Övriga källor	26

1 Inledning

1.1 Bakgrund

Hot att använda mikroorganismer för att sprida sjukdomar har kommit att uppmärksammas alltmer, inte i minst i samband med 11 september 2001 och spridningen av mjältbrandsbakterier via brev samma år. Spridning av mikroorganismer kan påverka många människor och få förödande effekter, men också hoten kan betraktas som allvarliga då de skapar oro och osäkerhet i samhället. (CBRN – Ämnen och hotbilder 2006 s.16f) Spridning kan ske på flera sätt, exempelvis via vattenförsörjningen, livsmedel, boskap och grödor. Detta arbete inriktar sig på spridning via livsmedel. Ett antal avsiktliga förgiftningar av livsmedel har under årens lopp rapporterats runt om i världen. De flesta med ekonomisk utpressning som syfte, men också för att åstadkomma politiska förändringar eller orsaka ekonomiska störningar. I Sverige har det förekommit hot mot livsmedelshandeln, men det finns inga rapporterade attentat. (CBRN – Ämnen och hotbilder 2006 s.52) Det är framförallt USA som bedömt att hoten ökat kraftigt och diskussionen om riskerna har fått relativt stort utrymme i den försvarspolitiska debatten. Beredskapen har dock lyfts fram både internationellt och i Sverige de senaste åren. (Roffey 2001 s.1)

Mikroorganismer förekommer naturligt i miljön. För att möjliggöra ett hot krävs särskilda kunskaper och resurser; för att isolera och utnyttja mikroorganismerna krävs kunskaper i mikrobiologi samt krav på möjlighet att odla mikroorganismen. Det finns också ett flertal laboratorier i Sverige som hanterar sjukdomsalstrande bakterier. Åtkomsten bedöms dock vara svår eftersom mikroorganismer som tillhör höga riskklasser hanteras med särskilda säkerhetskrav. (CBRN – Ämnen och hotbilder 2006 s.40f) Om åtkomst eller framställning av biologiska agens är möjligt krävs en väl vald angreppspunkt för en effektiv spridning. Detta eftersom livsmedlets egenskaper och behandling påverkar mikroorganismernas överlevnad och utbredning. Effekterna av hotet och attentatet kan vara mycket svåra att förutse eftersom den exakta distributionen och påverkan på organismerna kan vara svår att förutsäga. (RiskNet 1999)

I Sverige är Livsmedelsverket den myndighet som arbetar med livsmedelssäkerhet och som ansvarar för beredskapen vid kriser och hot på livsmedel- och dricksvattenområdet. För att effektivisera hanteringen av mikrobiologiska hot har WHO/FAO och CODEX Alimentarius-kommisionen (1999) föreslagit riktlinjer i arbetet och introducerat riskanalys som ett verktyg. Riskvärdering, som ingår i processen, skall fungera som ett beslutsunderlag och finns idag beskriven för flera olika mikroorganismer och livsmedelsprodukter. En del av utvecklingen som kommit att bli alltmer aktuell de senaste åren är kvantitativa modeller som hjälper till att beskriva spridningen av mikroorganismer i livsmedelskedjan. Det finns dock ännu ingen vedertagen riskvärderingsmetod. Att studera olika scenarier ger möjligheten att förutse vad ett hot kan innebära om det skulle genomföras i praktiken. Då kan åtgärder sättas in och delar av systemet förbättras innan något faktiskt händer. Denna rapport är resultatet av utvecklingsarbetet av en modell som värderar risken av mikrobiologiska hot via livsmedel. Modellen kan vara till hjälp för att identifiera riskreducerande åtgärder och kunskapsluckor och utgöra ett underlag för olika beslut. Arbetet har skett i samarbete med Livsmedelsverket.

1.2 Syfte

Examensarbetet syftar till att utveckla ett modelleringsverktyg för att förbättra beslutsunderlag och möjligheten att hantera mikrobiologiska hot mot livsmedelskedjan. Den generella riskvärderingsmodellen ska ta hänsyn till relevanta faktorer och kunna användas för att identifiera kunskapsluckor och utvärdera effekten av olika scenarier. I examensarbetet skall följande punkter genomföras:

- Utifrån en kunskapsöversikt över området ska en generell riskvärderingsmodell tas fram.
- Riskvärderingsmodellen ska användas och utvärderas för några specifika scenarier som kan utspela sig i Sverige.
- Modellens egenskaper och användbarhet ska diskuteras och riskvärderingsmodellen utvärderas i sin helhet.

1.3 Tillvägagångssätt och disposition

Rapporten och examensarbetet har delats upp i tre delar; en teoretisk bakgrund, en beskrivning och tillämpning av den generella riskvärderingsmodellen som tagits fram i arbetet och en avslutande modelldiskussion. Arbetet inleds med den teoretiska bakgrunden för att förstå innebörden av begreppet riskvärdering och hur det använts vid kvantitativ mikrobiologisk riskvärdering. Relevanta faktorer som bör ingå i en riskvärdering identifieras och den metod som ligger till grund för riskvärderingsmodellen som utarbetats i uppsatsen beskrivs mer ingående. Därefter redovisas de metoder och tillvägagångssätt som använts för att genomföra modelleringen och kortfattat beskrivs de statistiska fördelningar som använts i arbetet. För att senare i arbetet kunna testa och fastställa modellens validitet beskrivs hur modellvalidering kan genomföras och betydelsen av att förhålla sig kritisk till modellen.

När den generella riskvärderingsmodellen tagits fram undersöks tre olika scenarier för att utvärdera modellen. I varje scenario beskrivs en livsmedelskedja för ett specifikt livsmedel som kontaminerats med en specifik mikroorganism. För att beskriva varje scenario krävs diverse kunskap och data kring processer och parametervärden. Detta inhämtas från publicerade källor, artiklar ur tidskrifter, Internetkällor och personer på Livsmedelsverket. Informationen som krävs för att beskriva och undersöka scenarierna finns inte alltid tillgänglig och därför baseras en del data på uppskattningar och antaganden. I rapporten redogörs för hur scenarierna byggts upp; antaganden, värden och matematiska formuleringar presenteras. Scenarierna undersöks och resultaten från respektive scenario redovisas och diskuteras.

Avslutningsvis diskuteras den modell som utarbetats i arbetet. Diskussionen kring resultaten från scenarierna sammanfattas och övergår till en mer allmän diskussion kring riskvärderingsmodellen. Fördelar och nackdelar med den metod som ligger till grund för modellen tas upp, modellens karaktär och validitet ventileras och det ges förslag på hur modellen kan förbättras och vidareutvecklas. Till sist ges några avslutande kommentarer som avrundar arbetet och reflekterar tillbaka på riskanalysen.

2 Mikrobiologisk riskvärdering och modellering

2.1 Biologiska angrepp via livsmedel

Ett biologiskt angrepp via livsmedel kan orsaka stora påfrestningar i samhället. Faktorer som påverkar effekterna av spridningen är vilka mikroorganismer som används samt vilket livsmedel som kontamineras. Beroende på mikroorganismernas egenskaper i livsmedlet, var i livsmedelskedjan angreppet sker och hur livsmedlet produceras, hanteras och konsumeras kan mikroorganismerna tillväxa eller förstöras. Vissa livsmedel kan utgöra en god livsmiljö för mikroorganismer och då kan mikroorganismerna tillväxa. Om en toxinproducerande bakterie används kan livsmedlet komma att innehålla toxiner. Både mikroorganismer och toxiner kan vara motståndskraftiga mot olika processer under produktionsprocessen. Ju tidigare i processen angreppet sker desto svårare kan det vara att förutse effekterna eftersom den exakta distributionen mellan spridningstillfället och konsumtionen sällan kan förutsägas. (RiskNet 1999)

Effekterna av spridningen påverkas inte bara av mikroorganismernas förmåga att överleva och tillväxa i olika livsmedel utan också av effekten hos människan. Mikroorganismer som sprider infektioner via livsmedel orsakar sällan livshotande sjukdomar, utan ger istället upphov till symptom som diarré och kräkningar. De typer av mikroorganismer som behandlas i denna studie är infektiösa respektive toxinbildande bakterier. För att orsaka sjukdom hos människan måste bakterierna, dess sporer eller det toxin som bakterien producerat i livsmedlet motstå magsyrans effekter. Bakterierna angriper människan via matsmältningsorganen och orsakar sjukdom genom att antingen invadera inre vävnader, kolonisera magen eller producera toxin i livsmedlet innan det konsumeras. (Adams & Moss 1995 s.152ff)

För att klassificera bakterier och de infektioner som de kan orsaka har det upprättats olika typer av listor. Centre for Disease Control (CDC) har i USA delat in biologiska agens i tre kategorier, A-C, beroende på hur lätt de kan spridas och hur allvarlig sjukdom de orsakar. På A-listan finns de agens som betraktas som farligast och på C-listan de agens som inte prioriteras lika högt men ändå anses vara potentiella hot i framtiden. (CDC 2006) Arbetsmiljöverket har i Sverige gjort en liknande lista som gäller verksamheter med användning av biologiska agens. Beroende på förmågan att orsaka infektion och hur allvarliga följderna kan bli indelas mikroorganismer i klasserna 1-4. Riskklass 1 innehåller agens som normalt inte orsakar infektion och riskklass 4 smittämnen med risk för mycket allvarliga konsekvenser. (Mikrobiologiska arbetsmiljörisker – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet 2005) Några exempel på sjukdomsalstrande bakterier och vilka riskklasser de tillhör finns i tabell 2.1.

Tabell 2.1 – Exempel på sjukdomsalstrande bakterier.

Bakterie	Mekanism	Verkan	Kategori ^a	Riskklass ^b
<i>Campylobacter</i>	Infektion	Feber, illamående, buksmärtor, diarré	B	2
<i>Clostridium botulinum</i>	Toxinbildning i livsmedel	Kräkningar, dubbelseende, förlamning	A	2
<i>Enterotoxigenic E.coli</i>	Infektion	Diarré, magont, kräkningar	B	2
<i>Enterohaemorrhagic E.coli</i>	Infektion	Blodig inflammation i tarmen och urininfektion	B	3
<i>Salmonella</i>	Infektion	Tarminflammation, blodförgiftning	B	2 ^c
<i>Staphylococcus aureus</i>	Toxinbildning i livsmedel	Illamående, kräkningar, kramper, diarré	B	2

^a Kategorier som listar vilka mikroorganismer som skulle ge allvarligast effekter enligt CDC (2006).

^b Riskklasser som delar in mikroorganismer beroende på smittsamhet och effekter enligt Arbetsmiljöverket (Mikrobiologiska arbetsmiljöklasser – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet 2005).

^c Gäller inte *Salmonella typhi* som tillhör riskklass 3.

2.2 Riskvärdering

För att öka livsmedelssäkerheten och effektivisera användningen av resurser är det möjligt att göra riskanalyser för mikroorganismer i livsmedel. Riskanalysen är en process som består av tre komponenter: riskvärdering, riskhantering och riskkommunikation (se figur 2.1). Riskvärderingen syftar till att identifiera den aktuella mikroorganismen och vilka typer av skadliga effekter som mikroorganismen har på människans hälsa samt sannolikheten att effekterna ska uppkomma vid ett visst intag av organismen. De övriga processerna som ingår i en riskanalys handlar dels om att utföra reglerande, rådgivande eller tekniska åtgärder för att hantera risken och dels om interaktion mellan relevanta aktörer för att hela processen ska fungera. (Application of risk analysis to food standard issues 1995 s.6)



Figur 2.1 Riskanalysens tre komponenter.

För att göra en mikrobiologisk riskvärdering hos livsmedel är det viktigt att veta kontamineringsnivån vid konsumtion. Därför fokuserar riskvärderingen ofta på hur ett eller flera steg i livsmedelkedjan, dvs. från rå produkt till konsumtion, påverkar den specifika mikroorganismen. Mikroorganismer kan elimineras genom uppvärmning, överleva i frysta eller konserverade livsmedel och de kan försöka sig. Graden av kontaminering i ett livsmedel vid konsumtion är beroende av de olika processernas effekter på mikroorganismen ifråga. En riskvärdering består av fyra olika steg: faroidentifiering, exponeringsuppskattning, farokaraktärisering och riskkaraktärisering. (Benford 2001 s.4f) Samtliga steg beskrivs nedan.

2.2.1 Faroidentifiering

Livsmedel innehåller naturligt en del mikroorganismer. Mikroorganismer som vid ett litet antal anses vara harmlösa kan efter förökning orsaka infektion. Mikrobiologisk faroidentifiering fokuserar därför ofta på identifiering av förekomsten av potentiella patogener i ett livsmedel, sannolikheten att de förekommer i livsmedlet och konsekvenserna av dess närvaro, dvs. dess potential att orsaka infektion. För att få fram data om hur vanligt förekommande och i så fall vilken densitet som kan förväntas av den specifika mikroorganismen i livsmedlet utförs praktiska experiment. Faroidentifieringen i en riskvärdering baseras primärt på information från litteraturen och på resultaten från olika vetenskapliga studier. (Lindqvist et al. 2002 s.156) Om fallet gäller en situation där mikroorganismer medvetet har tillsatts ett livsmedel blir situationen annorlunda. Informationen kring mängder och frekvenser är beroende av hur mycket som tillsatts vid angreppet. Konsekvenserna av mikroorganismernas närvaro kan däremot baseras på tidigare litteratur och information kring den specifika organismen.

2.2.2 Exponeringsuppskattning

Målet med exponeringsuppskattningen är att beskriva sannolikheten för exponering och mängden mikroorganismer eller mikrobiologiska toxiner vid tid för konsumtion av ett visst livsmedel. Mängden mikroorganismer som finns i livsmedlet och därmed konsumeras är beroende av hanteringen längst hela livsmedelskedjan. Exponeringen uppskattas ofta för en kontaminerad portion av det specifika livsmedlet. (Benford 2001 s.21) Sannolikheten för exponering är beroende av hur mycket som kontaminerats såväl som konsumtionsmönster och kostvanor hos konsumenten. (Application of risk analysis to food standard issues 1995 s.18)

2.2.3 Farokaraktärisering

Farokaraktärisering kan beskrivas som en beskrivning av den hälsoeffekt som förknippas med förekomsten av en specifik mikroorganism eller toxin i ett livsmedel. Ett dos-respons samband bör göras för att uppskatta sannolikheten för att sjukdom ska uppstå givet en mängd mikroorganismer i en kontaminerad portion av det specifika livsmedlet. Dos-responsvärderingen beskriver sambandet mellan exponering (dos) och den nedsättande hälsoeffekten (responsen). (Lindqvist et al. 2002 s.156)

2.2.4 Riskkaraktärisering

Resultatet från riskkaraktäriseringen är en uppskattning av sannolikheten för skadliga hälsoeffekter i populationer som en konsekvens av en given eller förväntad exponeringsdos. Riskkaraktäriseringen baseras på faroidentifieringen, exponeringsuppskattningen och farokaraktäriseringen. I riskkaraktäriseringen ingår uppskattningen av betydelsen av osäkerheten i riskvärderingen. Risken kan uttryckas på olika sätt såsom risken att insjukna för en individ eller en population eller antalet incidenter av sjukdoms- eller dödsfall under en tidsperiod. Riskkaraktäriseringen tillhandahåller ett underlag för beslutstaganden om hur risker kan hanteras i olika situationer. (Benford 2001 s.26)

2.2.5 Osäkerhet och variation

Tillförlitligheten för en riskvärdering beror på variationen, osäkerheten och antagandena i samtliga steg samt på vilka bevis och typ av data som riskvärderingen baseras på. (Benford 2001 s.28) Det är viktigt att karaktärisera osäkerhet och variation för att förstå vad de bidrar med i modelleringen. Osäkerhet kan visa på kunskapsbrist för modellen eller ett parametervärde. Modellosäkerhet är osäkerhet gällande modellens förenkling av det verkliga systemet, vilket inkluderar bl.a. modellstrukturen och användningen av surrogat eller exkluderade variabler. Parametrosäkerhet är istället osäkerhet gällande de parametervärden som ingår i modellen. (Haas et al. 1999 s.328f) Osäkerheten kan reduceras genom ytterligare mätningar. Variation å andra sidan visar en sann heterogenitet som en konsekvens av fysiska system och kan inte reduceras genom ytterligare mätningar. Variation kan vara variation i tid, rum, population, produkter etc. och kan beskrivas genom att anpassa fördelningsfunktioner efter data. Variation kan också vara osäker. (Nauta 2001 s.21f)

Det är som sagt viktigt att karaktärisera osäkerhet och variation i modelleringen. Osäkerhet och variation kan ofta beskrivas med fördelningar eller olika parametervärden. Om osäkerhet och variation blandas är det svårt att i resultaten se effekterna av respektive del, vilket skulle kunna vara användbar information. Om t.ex. mycket av den totala osäkerheten beror av osäkerhet kan det vara möjligt att senare reducera osäkerheten och förbättra uppskattningen. Att skilja de båda begreppen åt kan vara svårt men att försumma skillnaden mellan dem kan leda till felaktiga riskvärderingar och ofullständig förståelse av resultaten. I modellen för riskvärderingen är det därför viktigt att hålla osäkerhet och variation åtskilda. (Vose 2000 s.23) Osäkerheten kan vara svårt att kvantifiera. I sådana fall går det antingen att försumma osäkerheten och göra kvalitativa uttalanden om osäkerheten i slutsatserna. Alternativt kan osäkerheten i de osäkra parametrarna beskrivas med hjälp av utlåtanden från experter. (Nauta 2001 s.21f) Ett ytterligare alternativ är att simulera osäkerheten i olika scenarier (Lindqvist et al. 2002).

2.3 Mikrobiologiska riskvärderingsmodeller

Under de senaste åren har intresset för riskvärderingar och matematiska riskvärderingsmodeller för livsmedelssäkerhet ökat. Kvantitativ mikrobiologisk riskvärdering (*eng.* quantitative microbial risk assessment, QMRA) används alltmer för att utvärdera livsmedelsrelaterade hälsorisker. Inom QMRA används ofta stora och komplexa modeller för att beskriva överföringen av patogena mikroorganismer i livsmedelskedjan, dock finns ännu ingen vedertagen metodologi. Modellerna kan täcka in hela livsmedelskedjan eller endast relevanta delar av den. Syftet med modellerna är att uppskatta konsumentens exponering för patogena mikroorganismer i specifika livsmedel för att identifiera kunskapsluckor och utvärdera effekten av alternativa scenarier (som förändringar i produktionsprocessen, konsumenters beteende eller andra hanteringsåtgärder) på exponering. (Nauta 2005 s.311f)

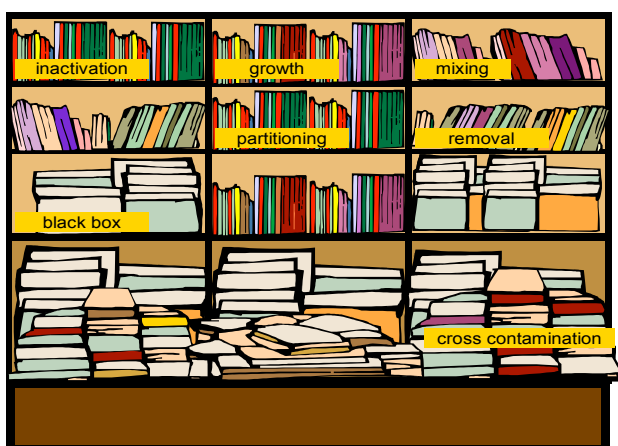
Beroende på riskvärderingens syfte har tillvägagångssätten varit olika i QMRA-modellerna. Alla olika tillvägagångssätt kommer inte att beskrivas närmare, utan bara det angreppssätt som jag valt att använda i arbetet. Metodologin som arbetet är inriktat på introducerades på senare tid av Nauta (2001) och har kommit att användas i flera riskvärderingar (se t.ex. Lindqvist et al. 2002, Nauta et al. 2003). Anledningen till att metoden används i arbetet är att den är lättillgänglig och kan fungera som ett underlag för att strukturera modeller. MPRM är en metod där modeller består av moduler som beskriver processer (*eng.* modular process risk model, MPRM) och används som ett verktyg för att konstruera stora QMRA-modeller. Varje process definieras men kan beskrivas på många olika sätt av användaren. MPRM erbjuder ett strukturerat tillvägagångssätt för att simulera överföringen av mikroorganismer genom att beskriva förändringen i prevalensen och koncentrationen längst med hela livsmedelskedjan.

2.3.1 MPRM

I MPRM-modeller delas livsmedelskedjan in i moduler. I livsmedelskedjan, vilket inkluderar produktion, förädling, distribution, hantering och konsumtion, sker en rad olika processer. För att göra en MPRM-modell har Nauta (2001) identifierat sex olika basprocesser som kan påverka överföringen av mikroorganismer. Varje steg i livsmedelskedjan beskrivs utifrån de olika basprocesserna och hela livsmedelskedjan kan modelleras genom att varje modul länkas samman. I modellen ingår inte primärproduktionen och konsumtionssteget beskrivs inte explicit. Om något steg i livsmedelskedjan är för komplext och komplicerat föreslås en linjär "black box". (Nauta 2001 s.14) I det här arbetet används ingen "black box"-process och därför beskrivs den inte mer ingående.

De olika basprocesserna som ingår i MPRM-modeller består av två mikrobiologiska processer; tillväxt, inaktivering, och fyra processer gällande livsmedelshantering; blandning, delning, borttagning och korskontaminering. Varje basprocess beskrivs utifrån vad som sker i processen och är inte bara beroende av data som finns tillgänglig. Samma process kan ändå beskrivas på många olika sätt, se figur 2.2. De mikrobiologiska processerna är starkt beroende av den specifika mikroorganismens egenskaper eftersom

effekten av omgivningen (temperatur etc.) på tillväxt och inaktivering skiljer sig åt mellan olika arter. Processerna gällande livsmedelshantering bestäms endast utifrån hur livsmedlet hanteras och skiljer sig således inte åt mellan olika mikroorganismer. Aspekter som aggregering av celler kan dock påverka fördelningen i livsmedlet och ha olika effekt beroende på mikroorganismens egenskaper. För varje steg i livsmedelskedjan kan en eller flera basprocesser användas för att beskriva förändringen i antalet organismer per enhet (N) och fraktionen av kontaminerade enheter (prevalensen P). En enhet motsvarar en del av produktionen i processen (t.ex. ett salladshuvud, en mjöltk tank, ett mjölkpaket) och kan genom blandning eller delning ändras under produktionsprocessen. (Nauta 2001 s.22) Nedan följer en beskrivning av samtliga basprocesser.



Figur 2.2 De olika basprocesserna som ingår i MRPM och hur varje process kan beskrivas på många olika sätt (illustrerad av olika böcker på basprocessens hylla). (Källa: Nauta 2002)

2.3.1.1 Tillväxt

Ett livsmedel kan innehålla skadliga mikroorganismer på en nivå som inte är hälsoskadlig. Skulle tillväxt ske kan det ökade antalet mikroorganismer ge upphov till en större sannolikhet för sjukdom. Tillväxt definieras som en ökning i antalet celler per enhet och påverkar inte prevalensen. (Nauta 2001, s.24f) Det finns många olika tillväxtmodeller publicerade i den vetenskapliga litteraturen. Von Gerwen och Zweitering (1998) har sammanställt ett flertal modeller och i tabell 2.2 redovisas några exempel. De enklaste modellerna antar första ordningens kinetik. Tillväxt kan då beskrivas med en exponentialfunktion. Om tillväxt är en avgörande faktor för risken kan det vara betydelsefullt att beskriva hela tillväxtkurvan inklusive lagfasen. För att inkludera lagtiden (λ) kan en lag-exponentialfunktion användas. Eftersom tillväxten så småningom begränsas av miljön beskrivs den också ofta av sigmoida kurvor, ett exempel är den logistiska funktionen. Vilken tillväxtmodell som är mest lämplig beror på tillväxtförhållanden, kunskapsläget och vilka data som är tillgängliga. Vid förenklade riskvärderingar kan ofta en exponentialfunktion utan lagfas användas. (von Gerwen & Zwietering 1998 s.1542)

Tabell 2.2 - Modeller som beskriver tillväxt och inaktivering för mikroorganismer.

Tillväxtkurva/inaktiveringskurva	Ekvation
<i>Tillväxt</i>	
Exponentiell ^a	$\ln(n) = \ln(n_0) + \mu t$
Lag-exponentiell ^b	$\ln(n) = \ln(n_0)$, då $t < \lambda$ $\ln(n) = \ln(n_0) + \mu(t - \lambda)$, då $t \geq \lambda$
Logistisk ^c	$\ln(n) = \ln(n_0) + a/(1 + \exp(b - cx))$
<i>Inaktivering</i>	
Exponentiell ^d	$\ln(n) = \ln(n_0) - kt$, där $k = 2.303/D$
Bigelow ^e	$\log(D_T) = (T - T_{\text{ref}})/z + \log(D_{\text{ref}})$

^a μ är tillväxthastighet

^b λ är lagtiden

^c a, b och c är anpassade parametrar

^d D är den decimala reduktionstiden

^e D_T är den decimala reduktionstiden vid temperaturen T, D_{ref} den decimala reduktionstiden vid temperaturen T_{ref} och z är den temperaturförändring som krävs för att ändra D_{ref} en 10-potens

Det är viktigt att ta hänsyn till den variation och osäkerhet som tillväxtmodellen kan innehålla. Variationen i antal mikroorganismer per enhet är vid tillväxt är ofta oklar. En approximation av variationen vid tillväxt är

$$N_{\text{ut}} \sim \text{Normal}(N_{\text{ut}}, \sqrt{N_{\text{ut}}(N_{\text{ut}} - N_{\text{in}})/N_{\text{in}}}) \quad (2.1)$$

där N_{ut} är antalet celler i slutet av processen och N_{in} antalet celler i början av processen. Detta gäller då N_{ut} är stort, dvs. då $N_{\text{ut}} > N_{\text{in}}^2/(N_{\text{in}} - 16)$. (Nauta 2001 s.26)

2.3.1.2 Inaktivering

Mikrobiologisk inaktivering är motsatsen till mikrobiologisk tillväxt. Den karaktäriseras av ett minskat antal organismer per enhet och om inaktiveringen resulterar i att inga celler överlever så minskar även prevalensen. Sannolikheten att en enhet inte innehåller några celler kan beskrivas som $(1 - N_{\text{ut}}/N_{\text{in}})^{N_{\text{in}}}$. Om alla enheter antas vara lika stora blir den uppskattade prevalensen efter inaktiveringen

$$P_{\text{ut}} = P_{\text{in}}(1 - (1 - N_{\text{ut}}/N_{\text{in}})^{N_{\text{in}}}) \quad (2.2)$$

där P_{ut} är prevalensen i slutet av processen och P_{in} prevalensen i början av processen. (Nauta 2001 s.26f)

Det finns många inaktiveringsmodeller tillgängliga, några exempel finns i tabell 2.2. Ofta antas första ordningens kinetik där inaktiveringshastigheten (k) ofta beräknas utifrån den decimala reduktionstiden (D). Det gäller exempelvis den exponentiella inaktiveringsfunktionen. (von Gerwen & Zwietering 1998 s.1544) Den vanligaste inaktiveringsprocessen är uppvärmning och den vanligaste modellen är Bigelow-modellen. Bigelow beskriver inaktiveringshastigheten som en funktion av temperaturen. Modellen är linjär i tiden (t) och har formen $g(t) = t/D$, där D-värdet anger tiden för att avdöda en log-enhet av bakteriepopulationen vid en given temperatur (T). Ett z-värde anger den temperaturförändring som krävs för att ändra D-värdet en 10-potens. Utifrån z-värdet kan tiden att avdöda lika många bakterier uppskattas för olika temperaturer. (Nauta 2001 s.26f)

Variationen vid inaktivering kan för höga värden på N_{in} , dvs. då $N_{in} > 16 \cdot N_{ut} / (16 - N_{ut})$, approximeras av

$$N_{ut} \sim \text{Normal}(N_{ut}, \sqrt{N_{ut}(N_{in} - N_{ut}) / N_{in}}) \quad (2.3)$$

(Nauta 2001 s.27).

2.3.1.3 Blandning

I processen för blandning mixas flera enheter för att bilda en ny större enhet. Det totala antalet celler över alla enheter kommer vara detsamma men prevalensen kommer att ändras. I det enklaste fallet antas subenheter vara lika stora och blandningen vara en slumpvis process. Den nya prevalensen kan då beskrivas med ekvationen

$$P_{ut} = 1 - (1 - P_{in})^n \quad (2.4)$$

där n är antal subenheter som mixas. Prevalensen ökar när fler enheter blandas. Om n enheter blandas kommer den stora enheten innehålla $N_{total} = \sum_{i=1,2,\dots,n} N_i$ celler. (Nauta 2001 s.29f)

2.3.1.4 Delning

Delning förekommer då större enheter, som innehåller N_{total} celler, delas i x antal mindre enheter. Antal celler per mindre enhet är då N_{total}/x . Om processen sker slumpvis är sannolikheten för att en mindre enhet inte innehåller några celler $(1 - 1/x)^{N_{total}}$. Prevalensen kan då beskrivas med ekvationen

$$P_{ut} = P_{in}(1 - (1 - 1/x)^{N_{total}}). \quad (2.5)$$

Distributionen av celler när en stor enhet övergår till x antal mindre enheter kan beskrivas som

$$N_{ut} \sim \text{Binomial}(N_{in} - x + x_0, 1/(x - x_0)) + 1 \quad (2.6)$$

där $x_0 = x^{(1 - N_{in})} (x - 1)^{N_{in}}$, dvs. antalet enheter som inte innehåller några celler. (Nauta 2001 s.28f)

2.3.1.5 Borttagning

Om vissa enheter tas bort från produktionsprocessen kallas det borttagning. Det kan exempelvis vara att kasta bort ”fula” grönsaker. Vid borttagning kommer totala antalet celler att minska, men antalet celler per enhet blir detsamma. Om borttagningen skulle vara en slumpvis process förblir prevalensen densamma, men kontaminerade enheter kan i vissa fall tas bort oftare än andra på grund av synliga defekter orsakade av kontamineringen. Om hänsyn tas till hur bakterierna är fördelade är det svårt att ställa upp en enkel modell. Här förutsätts därför att enheter som är mycket kontaminerade inte tas bort oftare än de som är

lite kontaminerade. I detta fall påverkas bara prevalensen och inte fördelningen av mikroorganismer.

Borttagningen kan beskrivas med en faktor f . Om $f=0$ betyder det att alla kontaminerade enheter är borttagna, och om $f=1$ är ingen av de kontaminerade enheterna borttagna. f kan också uttryckas som $(1-p_c)/(1-p_{notc})$, där p_c är sannolikheten att en kontaminerad enhet tas bort och p_{notc} sannolikheten att en icke kontaminerad enhet tas bort. f är variabel och osäker. Om borttagning beskrivs med en faktor f blir prevalensen

$$P_{ut} = P_{in} \cdot f / (1 - P_{in} + P_{in} \cdot f) \quad , \quad 0 \leq f \leq 1 \quad (2.7)$$

För att öka förståelse av ekvationen som beskriver borttagning kan ekvation (2.7) skrivas om till $P_{ut}/P_{in} = f(1/P_{in})/(1 - P_{in})$. (Nauta 2001 s.32f)

2.3.1.6 Korskontaminering

Korskontaminering är en viktig process vid livsmedelssäkerhet, men dock inte så väldefinierad. Det går att ta hänsyn till flera olika typer av korskontaminering. Korskontaminering kan innebära direkt överföring av celler från en enhet till en annan, dvs. genom fysisk kontakt. Det kan också ske genom indirekt överföring från exempelvis händer eller utrustning vid en livsmedelsprocess. Vid korskontaminering ökar prevalensen, antalet celler förblir desamma men omfördelas mellan enheterna. Prevalensen beskrivs med ekvation

$$P_{ut} = P_{in} \cdot f / (1 - P_{in} + P_{in} \cdot f) \quad , \quad f > 1. \quad (2.8)$$

Där f är en faktor som beskriver korskontamineringen. Ju större värde på f desto större påverkan har korskontamineringen. f är även i detta fall variabel och osäker. Totala antalet celler är desamma, men antalet celler per enhet ändras. (Nauta 2001 s.33f)

2.4 Modellering

Olika metoder och verktyg kan användas för att göra riskvärderingar och modelleringar. För att undersöka variation och osäkerhet i en riskvärderingsmodell liknande MPRM-modeller krävs en metod och ett verktyg som kan utföra stokastiska analyser. Nedan beskrivs vilken metod samt vilket program som använts i arbetet.

2.4.1 Monte Carlo

En vanligt förekommande metod för att lösa matematiska och numeriska problem inom kvantitativ riskvärdering är Monte Carlo-simuleringar. Monte Carlo är en simuleringsmetod som baseras på slump. Ett slumpartat urval av varje fördelningsfunktion i modellen räknas fram vid ett stort antal iterationer. Varje fördelningsfunktion ger ett värde som motsvarar fördelningens utseende. Fördelningen av värden som räknas ut från modellen reflekterar därför sannolikheten att värdena kan förekomma. (Vose 2001 s.16) För att generera slumpmässiga urval från fördelningsfunktionen i modellen är det vanligt att använda sig av Latin Hypercube Sampling (LHS). LHS är en stratifierad urvalsmetod där relativt få iterationer kan beskriva fördelningsfunktionen på ett tillfredställande sätt. (Vose

2000 s.59ff) I de fall där Monte Carlo använts som simuleringsmetod i det här arbetet har 10 000 iterationer använts vid beräkningarna.

2.4.2 Excel och @Risk

Det finns olika program som kan användas för att utföra riskvärderingar. Kalkylprogram, med olika tilläggsprogram som exempelvis @Risk, Crystal Ball, används ofta i kvantitativ modellering. Även objektorienterade program och programmeringsspråk, som exempelvis Analytica, Simula, kan användas. I arbetet har kalkylprogrammet Microsoft Excel använts, och för att implementera stokastiska modeller har tilläggsprogrammet @Risk (Palisade, NY, USA) utnyttjats. Det går att hantera variation och osäkerhet i @Risk genom att ersätta värden med fördelningsfunktioner. För att räkna ut resultaten används Monte Carlo-simuleringar och LHS har valts som slumpvalsmetod.

Det går också att utföra känslighetsanalyser i @Risk. Känslighetsanalyser är en statistisk metod som används för att förstå relationen mellan olika parametrar i modellen. Känslighetsresultat för olika simuleringar kan visas grafiskt i tornadodiagram där antingen regressionen eller korrelationen mellan olika parametrar kan studeras. I tornadodiagrammen representeras sambanden med vågräta staplar; ju längre staplar desto starkare samband. Eftersom regressionslinjens lutning är obekant och korrelationen är mer robust i det här fallet, utgår känslighetsanalyserna i arbetet från just korrelationen. Korrelationen mellan olika variabler baseras i @Risk på Spearmans rangkorrelationskoefficient. Rangkorrelationskoefficienten, som kan anta värden mellan -1 och 1, mäter styrkan av relationen mellan variablerna. Korrelationen beräknas av ett numeriskt värde som tilldelas variablerna genom att rangordna dem. Om ordningsnumren i variablerna följs åt råder ett starkt samband och om högsta rangen hos ena variabeln motsvarar minsta rangen hos den andra råder ett svagt samband. (Blom & Holmquist 1998 s.270f) En tumregel är att ta med korrelationen i analysen om rankkorrelationen har absoluta värden som överstiger 0.6 (Haas et al. 1999 s.346).

2.4.3 BestFit och statistiska fördelningar

Flera parametrar i modellen kommer att beskrivas med hjälp av statistiska fördelningar. Om fördelningsfunktionen inte är given från början, kan istället en fördelningsfunktion anpassas efter data. Ett program som anpassar fördelningar efter data och som använts i arbetet är BestFit (Palisade, NY, USA). I BestFit uppskattas funktionsparametrar med hjälp av maximum-likelihood-metoden (ML-metoden) och söker den fördelningsfunktion som bäst beskriver variationen i data. ML-metoden skattar ett värde så att sannolikheten att just de erhållna data ska uppträda maximeras (Blom & Holmquist 1998 s.62). Nästan ett trettiotal olika statistiska fördelningar finns representerade i programmet. Nedan följer en kortare beskrivning av fördelningar som kommit att användas i arbetet.

2.4.3.1 Beta

Betafördelningen $Beta(\alpha_1, \alpha_2)$ är en kontinuerlig sannolikhetsfördelning som ofta beskriver osäkerheten i en sannolikhet. Fördelningen är begränsad mellan 0 och 1. Om osäkerheten i sannolikheten är p då ett antal försök n med s lyckade utfall har gjorts, så har p fördelningen $Beta(s+1, n-s+1)$. Betafördelningen kan omskalas i en version med fyra

parametrar, $\text{Beta}(\alpha_1, \alpha_2, a, b)$, där fördelningen istället begränsas mellan a och b. (Vose 2000 s.103ff)

2.4.3.2 Binomial

Binomialfördelningen $\text{Bin}(n, p)$ är en diskret fördelning som beskriver sannolikheten av x händelser i n försök, då sannolikheten att en händelse inträffar är p. Binomialfördelningen kan approximeras med andra fördelningar. (Blom 1984 s.192ff)

2.4.3.3 Diskret

En diskret fördelning $\text{Diskret}(\{x_i\}, \{p_i\})$ används för att beskriva variationer som kan anta ett eller flera diskreta värden. Värde x antas med sannolikheten p. (Vose 2000 s.110f)

2.4.3.4 Likformig

Likformig fördelning (*eng.* uniform distribution) kan vara antingen diskret eller kontinuerlig. I den likformiga fördelningen $\text{Uniform}(a, b)$ kan en slumpvariabel anta ett värde mellan a och b. (Blom 1984 s.65f)

2.4.3.5 Logistisk

Logistisk fördelning $\text{Logistisk}(\alpha, \beta)$ är en kontinuerlig sannolikhetsfördelning som ofta används för att beskriva tillväxtkurvor. Där beskriver α medelvärdet och β ingår i beskrivningen av variansen. (Vose 2000 s.120f)

2.4.3.6 Normal

Normalfördelningen $\text{Normal}(m, \sigma)$, eller Gauss-fördelningen, används ofta för att beskriva variationen i olika företeelser (Blom 1984 s.68). Där är m medelvärdet och σ standardavvikelsen för fördelningen. Normalfördelningen används i stora delar av statistikteorin, exempelvis hänger den samman med centrala gränsvärdessatsen. (Blom 1984 s.169)

2.4.3.7 Poisson

Poissonfördelningen $\text{Poisson}(\lambda t)$ är en diskret sannolikhetsfördelning som beskriver företeelser som inträffar oberoende av varandra under tiden t. Om β är medeltiden mellan två företeelser så är $\lambda = 1/\beta$. (Vose 2000 s.126)

2.4.3.8 Triangulär

Den triangulära fördelningen $\text{Triang}(a, b, c)$ används när fördelningen begränsas mellan a och c och det vanligaste värdet i intervallet är b. Den har ingen teoretisk basis utan dess statistiska egenskaper härleds från dess geometri. (Vose 2000 s.128f)

2.5 Validering av QMRA-modeller och resultat

Det är viktigt med bedömning och utvärdering av QMRA-modeller för att fastställa deras giltighet. Verifiering utförs för att bedöma precisionen för parametrar och implementeringen i programmet, medan validering bedömer modellen utifrån icke tekniska aspekter. Ett vanligt förfaringssätt för modellvalidering är att utvärdera antagandena i modellen och modellparametrarna. Det gäller då att redogöra för alla modellantaganden och deras vetenskapliga värde, inte minst vid uppskattade parametrar, och ta hänsyn till dem vid uttolkning av resultaten. (First report on the harmonisation of risk assessment procedures 2000 s.132)

För att öka tillförlitligheten är det bra att jämföra modellen med empiriska data. Därmed är det möjligt att undersöka hur mycket modellen skiljer sig från det verkliga systemet. (First report on the harmonisation of risk assessment procedures 2000 s.132). Om det är svårt att utvärdera den totala modellen och resultaten, p.g.a. att empirisk data inte finns tillgänglig, är det viktigt att utvärdera varje delmodell. (Simulering 2005 s.32) Det är också viktigt att alltid förhålla sig kritisk till modellen och ständigt vara beredd att utveckla den för att ta in nya fakta och observationer i beräkningarna. (Ljung & Glad 2004 s.393f)

Alla modeller har ett begränsat giltighetsområde och att använda modellen utanför området är vanskligt. Giltighetsområdet hänför sig till systemets egenskaper och begränsningar. En modell kan endast valideras för det område som systemet självt arbetar i. Därför kan det vara intressant att arbeta med flera modeller för samma system. Slutligen är det viktigt att komma ihåg att en modell aldrig är sann eller korrekt, utan bara en förenklad beskrivning av ett verkligt system. (Ljung & Glad 2004 s.392ff)

3 Riskvärdering av mikrobiologiska hot

Kapitel 3 är sekretessbelagt.

4 Diskussion av riskvärderingsmodellen

4.1 Reflektioner kring riskvärderingsmodellen

4.1.1 MPRM-metoden

Ett angreppssätt att riskvärdera mikrobiologiska hot i livsmedel har utarbetats och testats i uppsatsen. Den framtagna riskvärderingsmodellen utgår från de steg som ingår i en riskvärdering och är uppbyggd av moduler som beskriver mikrobiologiska processer och hanteringsförlopp som kan påverka överföringen av mikroorganismer i livsmedelskedjan. Riskvärderingsmodellen ser olika ut för olika bakterier och livsmedel och är beroende av vilken typ av data och kunskap som finns tillgänglig. Det är därför svårt med en generell modellstruktur som passar alla typer av scenarier. Att använda en MPRM-modell som tillvägagångssätt har underlättat för att beskriva olika livsmedelskedjor och de processer som kan påverka prevalensen och överföringen av toxin eller bakterier. Det strukturerade arbetssättet med moduler som beskriver varje process i livsmedelskedjan gör det enkelt att ändra någon process utan att påverka hela modellstrukturen. Detta är bra inte bara vid utformningen av modellen för att kontrollera varje steg i beräkningarna, utan också när ny kunskap skall inkluderas och osäkerheten i en parameter reduceras.

Riskvärderingsmodellen har anpassats och använts för att beskriva tre olika scenarier i uppsatsen. Det har då varit möjligt att undersöka samtliga basprocesser och utvärdera modellen som helhet. Vissa steg i de olika livsmedelskedjorna har varit svåra att beskriva på grund av brister i kunskap och därför har osäkerheten undersökts i olika parametrar. Det gäller dos-responssambandet för botulinumtoxin, pastöriseringens påverkan och korskontamineringen i sista scenariot. Betydelsen av osäkerheten hade mer eller mindre betydelse beroende på kontamineringsnivå. För att öka tillförlitligheten av resultaten bör osäkerheten i parametrarna reduceras. Den största kunskapsluckan gällde korskontamineringen. Basprocessen är inte speciellt väldefinierad och bristen på kunskap är stor. Eftersom variationen av organismer mellan produkter inte kunde beskrivas, något som borde vara betydelsefullt vid speciellt korskontaminering, delades modellen upp i två delar som sedan sammanfogades i slutet. För att öka resultatens trovärdighet i scenariot krävs ökad kunskap och för att underlätta i framtida MPRM-modeller bör beskrivningen av basprocessen förbättras. Trots att alla steg i livsmedelskedjorna inte alltid var så väldefinierade tycker jag att en eller flera av de två mikrobiologiska basprocesserna eller fyra processer gällande livsmedelshanteringen kan beskriva varje steg tillräckligt bra. Att tillämpa en ytterligare process, liknande den "black box" som presenterades i kapitel 2.3.1, för att beskriva alltför komplexa steg anses utifrån resultaten i arbetet inte vara nödvändigt.

Den generella och välstrukturerade modellstrukturen har också varit fördelaktig då olika hanteringsåtgärder har undersökts. Den har gjort det möjligt att ändra värden, modifiera modellen och lägga till en ny basprocess för att undersöka effekterna av att snabbt kunna identifiera smitta, att införa kontrolltest i produktionen, en ändrad pastöriseringsprocess och andra konsumtionsbeteenden. Alla hanteringsåtgärder som undersöktes påverkade och minskade antalet drabbade individer, om än i olika utsträckning.

I teorin beskrivs inte primärproduktionen eller konsumtionssteget explicit för MPRM-modeller. Primärproduktionen är inte aktuell om inte kontamineringen genomförs under just produktion, uppfödning eller odling. Konsumtionssteget däremot behöver beskrivas i samtliga fall för att riskkaraktäriseringen och riskvärderingen skall kunna genomföras. I scenarierna uppskattades risken och antalet fall i riskkaraktäriseringen på olika sätt. Förutom portionsstorlek och konsumtionsfrekvens framgick det att både hushållsstorlek samt konsumentandel bör räknas med. I modellen kan en mer realistisk uppskattning erhållas om antalet fall beräknas utifrån varje kontaminerad enhet och hur många som kan komma att konsumera det kontaminerade livsmedlet.

För att vidareutveckla modellen kommer nu ett par förslag till förbättringar. I samband med beskrivningen av främst sista scenariot uppmärksammades avsaknaden av en fördelningsfunktion för varje enhet. Beroende på vilket livsmedel det gäller behöver inte bakterierna eller toxinet vara jämt fördelade över hela enheten och det påverkar uppskattningen av mängden bakterier eller toxin per portion. Vilken fördelningsfunktion som kan tillämpas skiljer sig åt för olika bakterier och livsmedel. Anledningen till detta kan exempelvis vara att aggregering av celler kan förekomma och kontamineringen kan ske på olika ställen i livsmedlet. En annan parameter som inte fanns inkluderad i modellen är spridningen av en infektion från en individ till en annan. Smittspridningen kan innebära att fler individer kan insjukna, även de som inte konsumerar det specifika livsmedlet, och risken att insjukna ökar. Det gäller bara smittsamma sjukdomar, något som kan vara aktuellt i scenarierna med EHEC då studier har visat på att smittspridning av EHEC-bakterier mellan människor har orsakat utbrott (Carter et al. 1987; Spika et al. 1986). Det skulle vara möjligt att utöka riskvärderingsmodellen till en epidemiologisk modell som tar hänsyn till kontaktmönster och risken för smittspridning till en andra individer. Inom epidemiologiska studier kan flera olika matematiska modeller och statistiska metoder användas (se Clayton & Hills 1993), och den tekniken kan även utnyttjas i detta sammanhang.

4.1.2 Typ av modell

Riskvärderingsmodellen var i basscenierna deterministisk. För att undersöka effekterna av variation i portionsstorlek, mängd toxin eller organismer per kontaminerad produkt i samtliga scenarier, och dessutom variation i antal portioner per vecka samt hushållsstorlek i sista scenariot, modifierades och utvecklades den till en stokastisk modell. Variationerna medförde förändringar i kontamineringsmängden per portion vid konsumtionstillfället och det blev en skillnad i resultaten mellan den deterministiska och stokastiska modellen i samtliga scenarier. Skillnaden tenderade dock att minska när kontamineringsmängden ökade. De statistiska fördelningarna beskriver hur variablerna uppför sig sannolikhetsmässigt och det visade sig vara mycket betydelsefullt då små skillnader i halten medför stora förändringar i sannolikheten att insjukna utifrån dos-respons sambandet. Genom att utveckla den från början deterministiska modellen till stokastisk har gjort det möjligt att närmare undersöka betydelsen av variation. Eftersom den visade sig vara betydelsefull är det bra att i fortsättningen inkludera statistiska fördelningar redan från början i riskvärderingsmodellen.

Det är viktigt att ta hänsyn till inte bara variation utan också osäkerheten i modellen. Variationen beskrevs med fördelningsfunktioner i modellen, medan osäkerheten beskrevs med hjälp av två olika värden eller antaganden. I scenarierna undersöktes osäkerheten genom att göra om simuleringarna med nya värden och jämföra resultaten. Hur viktig osäkerheten har varit i de olika scenarierna har diskuterats ovan (se kapitel 4.1.1). Modellen utesluter inte att osäkerheten, som i scenarierna angavs med olika specifika värden, kan beskrivas med fördelningar. För varje simulering skulle då olika värden från osäkerhetsfördelningen väljas. I arbetet har variationen och osäkerheten undersökts separat, detta för att tydligt se effekterna från dem. En tänkbar vidareutveckling är att omvandla modellen till en andra ordningens modell som tar hänsyn till både osäkerhet och variation. Andra ordningens modeller bör ändå separera osäkerheten och variationen för att särskilja vad som i resultaten kommer från respektive del. Ett möjligt tillvägagångssätt är att simulera osäkerheten på samma sätt som tidigare, men att för varje simulering beräkna variationen. Denna typ av andra ordningens modell har börjat användas av flera (se bl.a. Lindqvist et al. 2002 och Shorten et al. 2005).

Riskvärderingsmodellen är en tidsdiskret modell där antalet sjukdomsfall för en viss tidsperiod uppskattas. I scenarierna har kumulativa antalet uppskattats för varje dag under drygt en veckas tid. Beroende på livsmedlets hållbarhet och mikroorganismernas egenskaper kan dock olika tidsintervall vara aktuella att studera, vilket också är möjligt att göra i modellen. En orsak till att kumulativa antalet fall över en vecka beräknades var mikroorganismens stabilitet i livsmedlet. Botulinumtoxinet anses vara relativt stabilt, men EHEC har däremot förmågan att tillväxa eller inaktiveras beroende på vilket livsmedel det gäller och hur det förvaras. Därför ökar eller minskar risken att insjukna av matförgiftning för varje dag. En annan orsak var möjligheten att studera en bättre beredskap för att identifiera av smitta som en eventuell hanteringsåtgärd. Det visade sig att om konsumtionen stoppades i tid, innan hela veckan gått, så minskade antal fall avsevärt. En god beredskap kan alltså påverka och minska antal drabbade i en hög utsträckning. Den tidsdiskreta modellen beskriver systemet som en följd av tidsdiskreta händelser. För att studera förloppet kontinuerligt i tiden krävs en tidskontinuerlig modell. Samtidigt som en kontinuerlig modell kanske bättre beskriver flödet av mikroorganismer och prevalensen genom livsmedelskedjan, är den inte optimal om kunskap om systemets beteende bara finns för vissa bestämda tidpunkter. I många livsmedelskedjor är det möjligt att identifiera tidpunkter som påverkar mikroorganismen, exempelvis pastörisering i livsmedelskedjan för mjölk. Andra parametrar, exempelvis mikroorganismens stabilitet i livsmedlet, kan bättre beskrivas som kontinuerliga förlopp.

I arbetet har verktygen Microsoft Excel och @Risk använts för att utföra beräkningar och simuleringar. Verktygen har ett användarvänligt användargränssnitt och har fungerat bra som redskap för riskvärderingsmodellen. Om ett scenario blir mer omfattande och modellen mer komplex kan istället andra program vara fördelaktiga. Alltför komplicerade modeller kan bli oöverskådliga och svåra att strukturera på ett bra sätt i kalkylprogrammet. Problemet noterades i samband med riskkaraktäriseringen i respektive scenario, då konsumtionsförhållandena skulle beskrivas och relateras till riskuppskattningen. För att bygga ut komplexiteten i modellen på ett överskådligt sätt skulle ett objektorienterat

program kunna användas. Då kan olika objekt beskrivas med separata delmodeller, där varje delmodell interagerar och växelverkar med andra delmodeller. I riskvärderingsmodellen skulle bakterier, människor och hushåll kunna beskrivas som objekt och dess egenskaper definieras som olika klasser. Ett program som gör komplexa modeller mer hanterbara är exempelvis Analytica. I Analytica organiseras en stor modell som en hierarki av enkla begripliga moduler och det går lätt att skapa ett enkelt användargränssnitt som döljer irrelevanta detaljer för användaren (Henrion 2004).

4.2 Modellvalidering

För att fastställa modellens giltighet är det viktigt att utföra verifiering och validering av modellen. Angående verifiering så har inga programfel observerats under arbetet, det bör dock noteras att detta inte heller undersökts i någon större omfattning. Validering har däremot behandlats på flera olika sätt. I arbetet har jag redogjort för antaganden gällande modellens basprocesser samt beskrivit både antaganden och parametervärden i de olika scenarierna. Flera antaganden bygger på grova förenklingar och många parametrar baseras på uppskattade värden, vilket är viktigt att ta hänsyn till vid uttolkning av resultaten. De resultat som framkommit under arbetet visar därför inte på några exakta tal, utan uppskattningar och observationer för att påvisa olika effekter och möjliga riskreducerande åtgärder. För att utvärdera uppskattade modellparametrars inverkan har dessutom förändringen i resultaten undersökts då approximationsgraden ändras. Med andra ord har osäkerheten av olika processer i modellen undersökts, vilket diskuterades mer ovan (se kapitel 4.1.1).

Riskvärderingsmodellen kan också utvärderas genom att jämföra resultaten med empirisk data. Hot mot livsmedelshandeln har förekommit i Sverige, men några rapporterade angrepp finns inte tillgängligt. Därför kunde heller scenarierna som undersöktes i arbetet beskriva några verkliga händelser. Wein och Liu (2005) har emellertid gjort en matematisk modell som motsvarar ungefär samma situation som scenario 1. Trots att resultaten i modellerna liknar varandra är de svåra att jämföra. Wein och Lius modell beskriver inte svenska förhållanden utan modellen baseras på ett amerikanskt samhälle. Både konsumtionsmönster och livsmedelskedjan för mjölk skiljer sig åt med avseende på parametervärden. Modellen i arbetet skulle också kunna utvärderas utifrån förändringen av den naturliga bakteriehalten i något livsmedel under livsmedelskedjan eller utifrån något rapporterat utbrott där oavsiktlig spridning orsakat matförgiftning. En brist med riskvärderingsmodellen i arbetet är just denna jämförelse, och ett förslag för att öka modellens trovärdighet är att genomföra den. Exempelvis kan modellen jämföras med det utbrott av EHEC-infektioner som påverkade 120 människor på västkusten i Sverige 2005, där smittan så småningom kunde spåras till lokalt producerad isbergssallad (Söderström et al. 2005). Istället för att jämföra den totala modellen med empirisk fakta, som föreslagits ovan, undersöktes däremot varje delmodell. En delmodell motsvarar en process i modellen. Varje delmodell baserades på vetenskapliga artiklar och förväntades svara mot samma resultat. När flera beskrivningar fanns tillgängliga för samma process kunde de jämföras. Det var dock inte möjligt att styrka någon av beskrivningarna. Om empiriska data använts skulle ett uttalande kanske vara möjligt.

Ett problem med en generell modellstruktur som ska passa olika bakterier och livsmedel är att modeller har ett begränsat giltighetsområde. Den generella modellstrukturen som beskrivits i arbetet hjälper till att strukturera upp simuleringen av mikroorganismer i livsmedelskedjan, men den måste valideras för varje användning. De kontamineringsmängder som undersökts i scenarierna har varierat från relativt normala förhållanden till koncentrationer som beskriver angrepp och extrema situationer. Jag har inte uppfattat det problematiskt, utifrån modellernas egenskaper och begränsningar, att använda samma modell för de olika situationerna. För ett par kontamineringsmängder har dock approximationen för variation för tillväxt och inaktivering inte varit gällande. Det gäller sista scenariot där antal organismer i slutet av processen inte varit tillräckligt många jämfört med innan processen. Om intervallet kring dessa kontamineringsnivåer ska granskas krävs en bättre beskrivning av variationen. I det här scenariot är kontamineringsnivåerna enstaka och så pass låga att en bättre beskrivning inte är lika nödvändig i sammanhanget.

4.3 Avslutande kommentarer

Syftet med riskvärderingsmodellen och modelleringen var att förbättra beslutsunderlaget för hanteringen av mikrobiologiska hot mot livsmedelskedjan. Modellen som framställts i arbetet tar hänsyn till relevanta faktorer som påverkar överföringen av mikroorganismer i livsmedelskedjan och uppskattar risken att insjukna givet en viss kontamineringsmängd. Modelleringen har gjort det möjligt att identifiera kunskapsluckor och undersöka parametrar som tenderar att påverka risken, vilket är minst lika viktigt som att uppskatta "ett exakt" antal individer som kan drabbas vid ett kontamineringsfall. Som framgår av diskussionen ovan (se kapitel 4.1 och 4.2) finns både fördelar och nackdelar med modellen, och för att öka trovärdigheten ges förslag på hur modellen kan förbättras och vidareutvecklas.

Modellen kommer aldrig att kunna beskriva hela verkligheten, men kan ändå vara värdefull vid riskanalyser. För att använda modellen som beslutsunderlag är det viktigt att vara medveten om modellens begränsningar och vilka antaganden modellen och de olika scenarierna bygger på. De resultat som framkommit under arbetet visar inte på exakta tal, utan uppskattningar och observationer som kan hjälpa till vid hantering av mikrobiologiska hot. Det är viktigt att detta tydligt framgår i riskvärderingen inte minst för att samverkan mellan riskvärdering, riskhantering och riskkommunikation ska fungera bra. Då ökar också möjligheten att göra bra riskanalyser som förbättrar livsmedels säkerheten och effektiviserar användningen av resurser.

Referenser

Artiklar

Abdul-Raouf U.M., Beuchat L.R. & Ammar M.S., (1993). Survival and Growth of *Escherichia coli* O157:H7 on Salad vegetables. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 59, nr. 7, s. 1999-2006.

Buchanan R.L. & Doyle M.P., (1997). Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Enterohemorrhagic *E.coli*. *Food Technology*, vol. 51, nr. 10, s. 69-76.

Burrows W.D. & Renner S.E., (1999). Biological Warfare Agents as Threats to Potable Water. *Environmental Health Perspective*, vol. 107, nr. 12, s. 975-984.

Carter. A.O, Borczyk A.A., Carlson J.A.K., Harvey B., Hockin J.C., Karmali M.A., Krishnan C., Korn D.A. & Lior H., (1987). A severe outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated hemorrhagic colitis in a nursing home. *The New England journal of medicin*, vol. 317, s. 1496-1500.

Chen Y., Jackson K.M, Chea F.P. & Schaffner D.W., (2001). Quantification and Variability Analysis of Bacterial Cross-Contamination Rates in Common Food Service Tasks. *Journal of Food Protection*, vol. 64, nr. 1, s. 72-80.

Crocket C.S, Haas C.N, Fazil A., Rose J.B, Gerba C.P., (1996). Prevalence of shigellosis in the U.S.: consistency with dose-respons information. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 30, s. 87-90.

Kusumaningrum H.D., von Asselt E.D., Breumer R.R. & Zwietering M.H., (2004). A Quantitative Analysis of Cross-Contamination of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. Via Domestic Kitchen Surfaces. *Journal of Food Protection*, vol. 67, nr. 9, s. 1892-1903.

Lesikoff M.E., (1978). Establishment of a Heat Inactivation Curve for *Clostridium botulinum* 62A Toxin in Beef Broth. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 36, nr. 2, s. 386-388.

Lindqvist R., Sylvén S. & Vågsholm, (2002). Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 78, s. 155-170.

Massa S., Goffredo E., Altieri C. & Natola K., (1999). Fate of *Echerichia coli* O157:H7 in unpasteurized milk stored at 8°C. *Letters in Applied Microbiology*, vol. 28, s. 89-92.

Montville R. & Schaffner D.W., (2003). Inoculum Size Influences Bacterial Cross Contamination between Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, nr. 12, s. 7188-7193.

Nauta M.J., Litman S., Barker G.C. & Carlin F., (2003). A retail and consumer phase model for exposure assessment of *Bacillus cereus*. International Journal of Food Microbiology, vol. 83, s. 205-218.

Nauta M.J., (2005). Microbiological risk assessment models for partitioning and mixing during food handling. International Journal of Food Microbiology, vol. 100, s. 311-322.

Strachan N.J.C., Doyle M.P., Kasuga F., Rotariu O. & Ogden I.D., (2005). Dose response modelling of *Escherichia coli* O157 incorporating data from foodborne and environmental outbreaks. International Journal of Food Microbiology, vol. 103, s. 35-47.

Shorten P.R., Soboleva T.K., Pleasants A.B. & Membré J.M., (2005). A risk assessment approach applied to the growth of *Erwinia carotovora* in vegetable juice for variable temperature conditions. International Journal of Food Microbiology, vol. 109, s. 60-70.

Spika J.S., Parsons J.E., Nordenberg D., Wells J.G., Gunn R.A. & Blake P.A., (1986). Hemolytic uremic syndrome and diarrhea associated with *Escherichia coli* O157:H7 in a day care center. International Journal of Pediatrics, vol. 109, s. 287-291.

Söderström A., Lindberg A. & Andersson Y., (2005). EHEC O157 outbreak in Sweden from locally produced lettuce, August-September 2005. Euro Surveill, 10(9):E050922.1.

von Gerwen S.J.C & Zwietering M.H, (1998). Growth and Inactivation Models To Be Used in Quantitative Risk Assessments. Journal of Food Protection, vol. 61, nr. 11, s. 1541-1549.

Wachtel M.R. & Charkowski A.O., (2002). Cross-Contamination of Lettuce with *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Food Protection, vol. 65, nr. 3, s. 465-470.

Wein L.M. & Liu Y., (2005). Analyzing a bioterror attack on the food supply: The case of botulinum toxin in milk. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS), vol. 102, nr. 28, s. 9984-9989.

Böcker och rapporter

Adams M.R. & Moss M.O, (1995). Food microbiology. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

Application of risk analysis to food standard issues, (1995). Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, Geneva, Switzerland, 13-17 March 1995. WHO/FNU/FOS/95.3.

Becker W. & Pearson M., (2002). Riksmaten 1997/98: Kostvanor och näringsintag i Sverige. Avdelningen för Information och Nutrition, Livsmedelsverket.

Benford D., (2001). Principles of risk assessment of food and drinking water related to human health. Utgiven av International Life Sciences Institute, Belgien.

- Blom G., (1984). Sannolikhetssteori med tillämpningar. 2 uppl. Lund: Studentlitteratur.
- Blom G. & Holmquist B., (1998). Statistikteori med tillämpningar. 3 uppl. Lund: Studentlitteratur.
- CBRN - Ämnen och hotbilder, (2006). Utgiven av Krisberedskapsmyndigheten (KBM), 26 juni 2006. Dnr 1174/2006.
- Clayton C. & Hills M., (1993). Statistical Models in Epidemiology. New York: Oxford University Press Inc.
- CODEX Alimentarius-kommisionen, (1999). Principles and Guidelines for the Conduct of a Microbiological Risk Assessment. CAC/GL-30.
- First report on the harmonisation of risk assessment procedures, (2000). Part 2: Appendices, European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General, 26-27 oktober 2000.
- Florén B., Davis J. & Cederberg C., (2005). Kartläggning av produktion och konsumtion av livsmedel i Västra Götaland. SIK-rapport, nr. 733 2005, ISBN 91-7290-240-X.
- Haas C.N., Rose J.B. & Gerba C.P., (1999). Quantitative microbial risk assessment. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Henrion M., (2004). What's Wrong with Spreadsheets – and How To Fix them with Analytica. Utgiven av Lumina Decision Systems Inc, 14 juli 2004.
- Ljung L. & Glad T., (2004). Modellbygge och simulering. 2 uppl. Lund: Studentlitteratur.
- Microorganisms in Foods 5: Microbiological specifications of food pathogens, (1996). Utgiven av ICMSF. London: Blackie Academic & Professional.
- Mikrobiologiska arbetsmiljörisker – smitta, toxinpåverkan, överkänslighet, (2005). Utgiven av Arbetsmiljöverket. ISBN 91-7930-443-5, ISSN 1650-3163, Solna.
- Nauta M.J., (2001). A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in a REPFED. Reportnr. 149106007: RIVM, Bilthoven.
- Roffey R., (2001). Hotet från biologiska vapen – myt eller verklighet? Utgiven av Försvarsberedningen, Försvarsdepartementet. ISSN 1650-1543, ISBN 91-974233-0-0, Artikelnr FORBER0106, Stockholm: Graphium Nordstedts Tryckeri AB.
- Simulering, (2005). Ur kompendiet *Systems Analysis and Simulation*., version 5. Utgiven av Institutionen för informationsteknologi, Uppsala Universitet.

Vose D., (2001). Risk analysis: a quantitative guide. 2 uppl. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

Internetkällor

Arla, 2006: Allt om mjölk. (2006-09-26)

http://www5.arla.se/Default_17579.aspx

CDC, 2006: Bioterrorism agents/diseases. (2007-01-16)

<http://www.bt.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>

Mjölksfrämjandet, 2005: Faktabank. (2006-10-02)

http://www.mjolkframjandet.se/faktabank/fakta_om_mjolkprodukter/konsumtion/svensk_dryckeskonsumtion_med_mjolk_i_fokus

RiskNet, 1999: Utspridning och utbredning av allvarlig smitta. (2006-09-12)

<http://www.risknet.foi.se/smitta/Fakta/Utspridning.htm#Spridning%20via%20mat>

SCB, 2006a: Befolkningsstatistik i sammandrag 1960-2005. (2006-12-07)

http://www.scb.se/templates/tableOrChart_26040.asp?urlFile

SCB, 2006b: Antal hushåll efter hushållstyp. (2006-12-07)

http://www.scb.se/templates/tableOrChart_163554.asp

USDA, 2006: The USDA National Nutrient Database for Standard Reference. (2006-11-17)

<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/measure.pl>

Övriga källor

Eneroth Å., stadsinspektör vid Livsmedelsverket, 2006: e-post. (2006-10-03)

Nauta M.J., (2002). Muntlig presentation: COST Action 920, Foodborne zoonoses: A coordinated foodchain approach, Working group 3: Quantitative risk assessment, 7-8 mars 2002. RIVM, Bilthoven, Nederländerna.