



# Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires

## RAPPORT

Études ciblées de 2010-2011

Étude ciblée portant sur les agents pathogènes viraux dans les légumes-feuilles et les oignons verts



# Table des matières

<b>Sommaire</b> .....	<b>2</b>
<b>1 Introduction</b> .....	<b>4</b>
1.1 Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires .....	4
1.2 Études ciblées .....	4
1.3 Codes d'usages, lois et règlements .....	5
<b>2 Étude sur les virus dans les légumes-feuilles et les oignons verts</b> .....	<b>6</b>
2.1 Justification.....	6
2.2 Pathogènes viraux préoccupants ciblés .....	7
2.3 Prélèvement des échantillons.....	8
2.4 Distribution des échantillons .....	9
2.4.1 Répartition des échantillons par pays d'origine.....	9
2.4.2 Répartition des échantillons par type de produit.....	10
2.5 Détails sur les méthodes.....	11
2.6 Limites.....	11
<b>3 Résultats</b> .....	<b>12</b>
<b>4 Conclusion et discussion</b> .....	<b>16</b>
<b>5. Remerciements</b> .....	<b>16</b>
<b>6 Références</b> .....	<b>17</b>
<b>Annexe A : Liste des acronymes</b> .....	<b>19</b>
<b>Annexe B : Résumé des éclosions de maladies d'origine alimentaire associées à des légumes-feuilles dans le monde (1998-2010)*</b> .....	<b>19</b>
<b>Annexe C : Éclosions de maladies d'origine alimentaire associées à des légumes-feuilles contaminés par des agents pathogènes viraux dans le monde (1998-2010)*</b> .....	<b>20</b>
<b>Annexe D : Résumé des éclosions de maladies d'origine alimentaire associées aux oignons verts dans le monde (1996-2010)*</b> .....	<b>22</b>
<b>Annexe E : Méthodes d'analyse microbiologique</b> .....	<b>23</b>

## Sommaire

Le Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires (PAASPA) vise à moderniser et à renforcer le système canadien de salubrité des aliments pour mieux protéger les Canadiens des effets des produits alimentaires insalubres et réduire les cas de maladies d'origine alimentaire.

Ces dernières années, les virus sont de plus en plus reconnus comme une cause principale des maladies d'origine alimentaire. Les norovirus (NoV) et le virus de l'hépatite A (VHA) sont les virus entériques humains les plus fréquemment signalés dans les cas de maladies d'origine alimentaire. Un comité mixte FAO/OMS (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture et Organisation mondiale de la santé) d'experts a récemment déterminé que les NoV et le VHA dans les fruits et légumes frais étaient l'une des combinaisons virus-denrées qui devait être considérée comme prioritaire en ce qui concerne la salubrité des aliments. Selon l'information sur les éclosions d'origine alimentaire survenues entre 1998 et 2010 fournie par l'Agence de la santé publique du Canada, les NoV comptaient pour environ le tiers des éclosions associées aux légumes-feuilles partout dans le monde, tandis que le VHA constituait le principal agent pathogène en cause dans les éclosions associées aux oignons verts. Les légumes-feuilles et les oignons verts peuvent être contaminés par des virus entériques après un contact avec des eaux usées résidentielles ou des travailleurs infectés durant la production primaire, la récolte, la manutention post-récolte, la transformation, l'emballage et la distribution. Contrairement aux bactéries, les virus entériques humains ne peuvent proliférer dans les aliments, car ils doivent entrer à l'intérieur des cellules humaines vivantes pour se répliquer. Toutefois, ils peuvent demeurer viables dans les légumes pendant de longues périodes et causer des maladies s'ils sont ingérés.

Compte tenu des facteurs susmentionnés et de leur pertinence pour la santé des Canadiens, les légumes-feuilles et les oignons verts ont été sélectionnés pour faire l'objet d'une surveillance accrue dans le cadre du PAASPA. De 2008-2009 à 2012-2013, environ 5 000 échantillons de fruits et légumes frais ont été prélevés dans des magasins de détail canadiens pour la recherche de pathogènes viraux préoccupants.

Le principal objectif de l'étude ciblée de 2010-2011 était de produire des données de surveillance de base sur les NoV et le VHA (pathogènes viraux) dans les légumes-feuilles et les oignons verts de provenance canadienne et importés offerts sur le marché canadien. Au total, 1 112 échantillons de légumes-feuilles préemballés et 549 échantillons d'oignons verts ont été prélevés et analysés. Le VHA n'a été détecté dans aucun des échantillons analysés, tandis que des NoV ont été trouvés dans 25 échantillons de légumes-feuilles (2,2 %) et 3 échantillons d'oignons verts (0,5 %). Les résultats positifs

indiquent que les produits sont entrés en contact avec les virus à un moment donné dans la chaîne de production et de distribution, et donnent à penser que les bonnes pratiques agricoles (BPA) ou les bonnes pratiques de fabrication (BPF) n'ont pas été suivies ou mises en œuvre de façon appropriée. Des mesures de suivi immédiates n'ont pu être prises, car les types de produits examinés dans le cadre de la présente étude avaient une très courte durée de conservation et n'étaient plus offerts sur le marché au moment où les résultats ont été confirmés. Aucune éclosion de NoV ou du VHA associée à la consommation de ces produits n'a été signalée durant la présente étude. Étant donné que les méthodes courantes de détection des virus sont des épreuves moléculaires qui n'établissent pas de distinction entre les virus vivants infectieux et les virus morts, il était impossible de déterminer à l'aide des seuls résultats de laboratoire si les échantillons positifs pouvaient causer des maladies. Il importe de noter que la virologie alimentaire est un domaine assez récent et qu'il n'existe actuellement aucun critère d'évaluation reconnu à l'échelle internationale ni de méthodes d'analyse harmonisées concernant la détection des virus dans les fruits et légumes frais.

L'ACIA réglemente et supervise l'industrie, collabore avec les provinces et les territoires, et fait la promotion de méthodes de manipulation sécuritaire des aliments tout au long de la chaîne de production. Toutefois, il importe de noter qu'au bout du compte, l'industrie de l'alimentation et le secteur du détail au Canada sont responsables des aliments qu'ils produisent et vendent, alors que les consommateurs sont responsables de la manipulation sécuritaire des aliments qu'ils ont en leur possession. De plus, des conseils généraux à l'intention des consommateurs sur la manipulation sécuritaire des aliments sont facilement accessibles. L'ACIA poursuivra ses activités de surveillance et informera les intervenants de ses constatations.

# 1 Introduction

## 1.1 Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires

En 2007, le gouvernement du Canada a lancé une initiative quinquennale en raison du nombre croissant de rappels de produits et des préoccupations concernant la salubrité des aliments. Cette initiative, appelée Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires et de consommation (PAASPAC) (1) vise à moderniser et à renforcer le système canadien de salubrité des aliments, des produits de santé et de consommation. Le PAASPAC réunit plusieurs partenaires dont l'objectif est d'assurer la salubrité des aliments destinés aux Canadiens.

Le Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires (PAASPA) de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) (2) est l'un des volets de l'initiative du PAASPAC du gouvernement. Le but du PAASPA est d'identifier les risques dans l'approvisionnement alimentaire, de limiter la probabilité de ces risques, d'améliorer les mesures de contrôle des aliments de provenance canadienne et importés ainsi que d'identifier les importateurs et les fabricants de produits alimentaires.

Le PAASPA comporte douze principaux secteurs d'activités. L'un de ces secteurs, la cartographie des risques et la surveillance de base, a pour principal objectif de mieux identifier, évaluer et prioriser les dangers liés à la salubrité des aliments à l'aide de la cartographie des risques, de la collecte de renseignements et de l'analyse des aliments offerts sur le marché canadien. Les études ciblées constituent un des outils utilisés pour réaliser des analyses afin de déterminer la présence et la gravité de certains dangers déterminés dans des aliments précis.

## 1.2 Études ciblées

Les études ciblées servent à recueillir des données sur les dangers possibles que peuvent présenter les produits alimentaires. Les études ciblées en microbiologie visent à recueillir des données de base sur les dangers microbiologiques prioritaires et/ou émergents dans des produits ciblés, principalement les fruits et les légumes frais ainsi que les ingrédients alimentaires importés. Un nombre statistiquement significatif d'échantillons a été prélevé au cours d'une période de cinq ans pour qu'il soit possible de prendre en compte les variations saisonnières et les changements inhérents à la production. Ces travaux diffèrent des activités de surveillance microbiologique courantes de l'ACIA, lesquelles consistent en l'analyse des échantillons d'une vaste gamme de produits à l'égard de multiples risques pour déterminer, à des fins réglementaires, si des lots donnés sont conformes aux normes ou aux lignes directrices microbiologiques établies.

Pour déterminer les combinaisons d'aliments et de dangers qui sont susceptibles de présenter les risques les plus importants pour la santé et qui doivent faire l'objet d'études ciblées, l'ACIA s'appuie sur une multitude de sources : documents scientifiques, rapports sur les éclosions de maladies d'origine alimentaire et/ou information recueillie par le Comité scientifique de la salubrité des aliments, un groupe d'experts en salubrité des aliments des gouvernements fédéral, provinciaux et territoriaux (3).

La présente étude (2010-2011) concerne une partie de l'ensemble de plus de 5 000 échantillons de fruits et légumes frais prélevés au cours d'une période de cinq ans (2008-2009 à 2012-2013) d'études ciblées. Elle a été conçue pour recueillir de l'information de base sur la présence de virus pathogènes préoccupants dans les fruits et légumes frais.

### **1.3 Codes d'usages, lois et règlements**

Des normes, des lignes directrices et des codes d'usages internationaux en matière d'alimentation, de production alimentaire et de salubrité alimentaire sont élaborés dans le cadre des activités de la Commission du Codex Alimentarius créée conjointement par la FAO et l'OMS. Les producteurs de fruits et de légumes frais sont encouragés à respecter les lignes directrices et les codes d'usages internationaux. Deux codes d'usages sont pertinents pour la présente étude : le *Code d'usages en matière d'hygiène pour les fruits et légumes frais* (CAC/RCP 53-2003) (4) et le *Code d'usages international recommandé – Principes généraux d'hygiène alimentaire* (CAC/RCP 1-1969) (5). Ces codes traitent des bonnes pratiques agricoles (BPA) et des bonnes pratiques de fabrication (BPF) qui, lorsqu'elles sont appliquées, permettent de maîtriser et limiter les risques de contamination microbienne, chimique et physique à toutes les étapes de la production des fruits et légumes frais, de la production primaire jusqu'à l'emballage. En plus de ces codes, le document intitulé : *Directives sur l'application des principes généraux d'hygiène alimentaire à la maîtrise des virus dans les aliments* (y compris dans les fruits et légumes frais, Annexe II) (CAC/GL 7902012) (6) a récemment été rédigé pour proposer des façons de prévenir la contamination des fruits et légumes frais par des virus lors de la production.

Les fruits et les légumes frais offerts sur le marché canadien doivent être conformes aux exigences de la *Loi sur les aliments et drogues* (LAD) (7) et du *Règlement sur les aliments et drogues* (RAD) (8) qui prévoient certaines restrictions quant à la production, à l'importation, à la vente, à la composition et au contenu d'aliments et de produits alimentaires. Selon l'alinéa 4(1)a) de la LAD, il est interdit de vendre un aliment contaminé par des agents pathogènes d'origine alimentaire, tandis que selon

l'alinéa 4(1)e) et l'article 7 interdisent la vente d'aliments insalubres et d'aliments produits dans des conditions non hygiéniques.

Les fruits et légumes frais importés au Canada ou de provenance canadienne qui font l'objet d'un commerce interprovincial doivent aussi être conformes aux exigences en matière de sécurité du *Règlement sur les fruits et légumes frais* (9) en vertu de la *Loi sur les produits agricoles au Canada* (10). Ce règlement est conçu pour que les fruits et légumes frais vendus aux consommateurs soient sans danger, sains et correctement classés, emballés et étiquetés.

Le *Règlement sur les fruits et les légumes frais* et les articles de la LAD et du RAD qui ont trait aux aliments sont administrés par l'ACIA.

En général, les études ciblées du PAASPA sont menées à des fins de surveillance plutôt qu'à des fins de vérification de la conformité à la réglementation. À l'heure actuelle, l'ACIA n'effectue pas l'analyse des aliments à l'égard des virus dans le cadre de son Programme national de surveillance microbiologique, principalement à cause de l'absence de normes reconnues à l'échelle internationale et de méthodes d'analyses harmonisées pour la détection des virus dans les aliments.

## **2 Étude sur les virus dans les légumes-feuilles et les oignons verts**

### **2.1 Justification**

Partout dans le monde, les légumes-feuilles et les oignons verts ont été associés à plusieurs éclosons de maladies d'origine alimentaire. Bon nombre de ces éclosons étaient associées à des virus. Les renseignements sur les éclosons fournis par l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) indiquent que, de 1998 à 2010, les légumes-feuilles contaminés par des agents pathogènes microbiens ont été mis en cause dans 93 éclosons partout dans le monde (annexe B), dont environ le tiers (30, 32,3 %) était attribuable à des virus (annexe C). De ces éclosons associées à des virus, 27 (90,0 %) ont été causées par des NoV. En revanche, de 1996 à 2010, les oignons verts contaminés par des agents pathogènes microbiens ont été mis en cause dans 8 éclosons partout dans le monde, dont 4 étaient dues au VHA et 1, à un NoV (annexe D).

Les légumes frais, comme les légumes-feuilles et les oignons verts, peuvent être contaminés par des virus pathogènes pour l'être humain pendant la production, la récolte, la manutention post-récolte, la transformation, l'emballage et la distribution (11). Les principales sources de contamination des aliments par des NoV sont les matières fécales et les vomissements de personnes infectées. Par conséquent, les fruits et légumes frais

peuvent être contaminés dans le champ par l'utilisation d'eau d'irrigation contaminée par des eaux usées résidentielles. Les légumes-feuilles et les oignons verts nécessitent beaucoup de manipulation durant la récolte et l'emballage, et peuvent, par conséquent, être contaminés par des travailleurs infectés. Durant la transformation, l'eau, contaminée par des matières fécales humaines ou des vomissures, utilisée pour le rinçage, le refroidissement ainsi que la fabrication de glace destinée à être étendue sur les denrées représente aussi une source potentielle d'introduction du virus. La contamination par le VHA est particulièrement préoccupante dans la majorité des pays en développement où l'infection par ce virus est endémique (11). Il existe peu de méthodes efficaces pour l'élimination des virus dans les fruits et légumes frais. Même si les virus peuvent être éliminés par une cuisson adéquate, leur présence dans des fruits et légumes frais consommés crus pose un risque pour la salubrité des aliments.

Un comité mixte FAO/OMS d'experts a récemment déterminé que les NoV et le VHA dans les fruits et légumes frais, les mollusques et crustacés ainsi que les aliments préparés constituaient les combinaisons virus-denrées devant être considérées comme prioritaires sur le plan de la salubrité des aliments. Cette conclusion était fondée sur les connaissances actuelles sur les maladies virales d'origine alimentaire (ex. incidence, gravité et menace pour la santé publique), lesquelles sont jugées limitées en raison de la sous-déclaration et du manque de systèmes de surveillance précis partout dans le monde pour ce type de maladie (11).

D'après les renseignements ci-dessus et les recommandations du Comité scientifique de la salubrité des aliments (3), les légumes-feuilles frais et les oignons verts ont été sélectionnés comme groupes prioritaires parmi les combinaisons virus-denrées pour faire partie des activités de surveillance ciblée dans le cadre du PAASPA. L'objectif global consiste à recueillir des données de référence préliminaires sur la présence de virus pathogènes préoccupants dans les légumes-feuilles et les oignons verts vendus dans les commerces de détail au Canada.

## **2.2 Pathogènes viraux préoccupants ciblés**

Les NoV et le HAV sont les deux virus entériques les plus courants dans les aliments. Les NoV sont considérés comme la cause principale des maladies d'origine alimentaire aux États-Unis (12) et au Canada (13). Il existe actuellement cinq génogroupes reconnus de NoV (GI à GV); les génotypes I et II sont responsables de la plupart des maladies humaines (14). Même si l'incidence des maladies d'origine alimentaire causées par le VHA est beaucoup plus faible que celles causées par les NoV, les infections liées au VHA peuvent engendrer des symptômes/conséquences graves. De manière générale, les NoV causent une gastroentérite aiguë sans incidence à long terme. Le VHA cause l'hépatite A, une maladie infectieuse du foie qui est habituellement spontanément



résolutive, mais peut avoir des conséquences graves (ex. une hépatite fulminante est signalée dans moins de 1 à 1,5 % des cas) (14).

Contrairement aux pathogènes bactériens, les pathogènes viraux ne peuvent proliférer dans les aliments, car ils doivent entrer à l'intérieur de cellules vivantes pour se répliquer (11). Ils sont toutefois plus résistants aux conditions environnementales que bon nombre de bactéries et peuvent demeurer viables dans les aliments pendant de très longues périodes (11). Les légumes (légumes-feuilles, fines herbes et oignons verts), les fruits (petits fruits) et les aliments PAM (salades, sandwiches) ont été mis en cause dans des éclosions de maladies d'origine alimentaire dues aux NoV et au VHA (11).

## **2.3 Prélèvement des échantillons**

Des échantillons de légumes-feuilles préemballés et des échantillons de bouquets d'oignons verts ont été prélevés pour la présente étude. Les échantillons de légumes-feuilles compaient de la roquette, de l'escarole, des endives, de la chicorée, des laitues (ex. laitue pommée, laitue en feuilles), des épinards, de la bette à carde, du cresson et des jeunes pousses de toutes ces variétés.

Tous les échantillons ont été prélevés dans des chaînes d'épicerie nationales, des épicerie locales et régionales, d'autres commerces de détail classiques et des magasins d'aliments naturels situés dans différentes villes du Canada. Le nombre d'échantillons prélevés dans les diverses régions a été déterminé par la proportion relative de leur population. Les échantillons ont été prélevés entre avril 2010 et mars 2011. Les échantillons de produits de provenance canadienne ont été prélevés en été (juin à septembre). Les échantillons importés ont été prélevés principalement en automne, en hiver et au printemps. Les échantillons de produits étiquetés comme étant biologiques dans les commerces de détail sont désignés « biologiques » dans la présente étude. Les autres échantillons sont désignés « classiques ».

Dans le cadre de la présente étude, un échantillon était constitué d'une seule unité d'échantillonnage (ex. emballages individuels en portions-consommateurs provenant d'un même lot) d'un poids total d'au moins 200 g. Cette approche d'échantillonnage est régulièrement adoptée pour les études menées au niveau du détail et aussi par d'autres partenaires fédéraux, comme l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) dans le cadre des enquêtes FoodNet sur le commerce de détail (15). En cas de problème lié aux conditions de transport de l'échantillon, celui-ci était déclaré impropre à l'analyse.

## 2.4 Distribution des échantillons

Conformément au plan de l'étude, un total de 1 661 échantillons, dont 549 échantillons d'oignons verts et 1 112 de légumes-feuilles, ont été prélevés et analysés à la recherche des NoV et du VHA (tableau 1).

**Tableau 1. Répartition des échantillons selon l'origine du produit et les méthodes de production**

Groupe de légumes	Origine du produit	Méthode de production	Nombre (pourcentage) d'échantillons
Oignons verts	Importé	Classique	167 (30,4 %)
		Biologique	147 (26,8 %)
	De provenance canadienne	Classique	179 (32,6 %)
		Biologique	56 (10,2 %)
<b>Sous-total</b>			<b>549 (100 %)</b>
Légumes-feuilles	Importé	Classique	669 (60,1 %)
	De provenance canadienne	Classique	443 (39,9 %)
<b>Sous-total</b>			<b>1 112 (100 %)</b>

### 2.4.1 Répartition des échantillons par pays d'origine

Tous les échantillons de provenance canadienne (tableau 1) ont été cultivés et prélevés dans diverses provinces du Canada. La plupart des échantillons d'oignons verts importés provenaient du Mexique (246 échantillons, 78,3 %). Le reste des échantillons d'oignons verts provenaient des États-Unis (51, 16,2 %), de la Chine (1, 0,3 %) et de pays non précisés (16, 5,1 %). La majeure partie des échantillons de légumes-feuilles importés (98,2 %) provenait des États-Unis (657 échantillons). Le reste des échantillons de légumes-feuilles provenaient de la République dominicaine (4, 0,6 %), du Mexique (7, 1,0 %) et d'un pays non précisé (1, 0,1 %).

## 2.4.2 Répartition des échantillons par type de produit

Comme l'indique le tableau 2, les échantillons de légumes-feuilles comptaient de nombreux types de produits.

**Tableau 2. Échantillons de légumes-feuilles préemballés par type de produit**

Type de produit	Nombre d'échantillons	Pourcentage (%)
<b>Roquette</b>	<b>50</b>	<b>4,5</b>
Laitue pommée (entière)	18	
Laitue en feuilles (entière) :	113	
- <i>Laitue romaine</i>	107	
- <i>Autres laitues en feuilles</i>	6	
Laitue, entière – non précisée	1	
<b>Laitue, entière (sous-total)</b>	<b>132</b>	<b>11,9</b>
Laitue pommée (fraîchement coupée)	11	
Laitue en feuilles (fraîchement coupée)	141	
- <i>Laitue romaine</i>	- 120	
- <i>Autres laitues en feuilles</i>	- 21	
Mélange de laitues	30	
Mélange à salade (à base de laitue)	110	
Laitue, fraîchement coupée – non précisée	37	
<b>Laitue, fraîchement coupée (sous-total)</b>	<b>329</b>	<b>29,6</b>
<b>Épinards</b>	<b>371</b>	<b>33,4</b>
<b>Mélange printanier/mesclun</b>	<b>210</b>	<b>18,9</b>
<b>Bette à carde</b>	<b>11</b>	<b>9,9</b>
<b>Autre*</b>	<b>9</b>	<b>0,8</b>
<b>Total</b>	<b>1 112</b>	<b>100</b>

\* Le type de produit n'était pas précisé.

## 2.5 Détails sur les méthodes

Les échantillons ont été analysés à la recherche du VHA et des NoV (GI et GII) à l'aide de versions modifiées de méthodes publiées dans le *Compendium de méthodes* pour l'analyse microbiologique des aliments de Santé Canada (16) (annexe E). Les échantillons ont d'abord fait l'objet d'une RT-PCR (PCR après transcription inverse). Pour confirmer la présence des virus ciblés, nous avons cloné et séquencé les échantillons qui étaient positifs à la RT-PCR. Les échantillons positifs confirmés ont été analysés de nouveau par transcription inverse suivie d'une PCR quantitative (RT-qPCR) pour que l'on puisse estimer le nombre de copies génomiques virales. Les résultats ont été désignés par la mention « détecté » lorsque le matériel génétique du virus a été détecté et confirmé, et par la mention « non détecté » lorsque celui-ci n'a pas été détecté ou confirmé.

Les méthodes susmentionnées sont fondées sur la technologie de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) qui est utilisée pour identifier les agents pathogènes par la détection d'un fragment précis de leur matériel génétique. Il importe de noter que ces méthodes de PCR n'établissent pas de distinction entre les organismes vivants ou morts.

Contrairement aux agents pathogènes bactériens, les virus entériques, comme le VHA et les NoV, ne peuvent être cultivés *in vitro*. Par conséquent, la viabilité des virus détectés dans les échantillons d'aliments et leur risque d'infection ne peuvent être confirmés par des méthodes de cultures classiques.

## 2.6 Limites

La virologie alimentaire est un domaine assez récent comparativement à celui de la bactériologie alimentaire. À l'heure actuelle, il n'existe aucun critère d'évaluation pour les virus dans les fruits et légumes frais reconnu à l'échelle internationale. Les seules méthodes permettant la détection et la quantification des virus entériques humains, dont les NoV et le VHA, sont des épreuves moléculaires qui n'établissent pas de distinction entre les virus vivants (c.-à-d. infectieux) et les virus morts. Cela signifie qu'un aliment positif à l'égard d'un de ces virus ne causera pas nécessairement de maladie. Il est donc difficile de déterminer l'incidence immédiate d'un résultat positif sur la santé en l'absence de preuves épidémiologiques qui établissent un lien entre l'aliment et des cas cliniques. De plus, en raison de la nature périssable des fruits et légumes frais, les échantillons analysés avaient habituellement dépassé depuis longtemps leur durée de conservation au moment où les analyses ont été terminées, ce qui empêchait toute possibilité d'activités de suivi immédiates. Le faible degré de sensibilité des méthodes actuelles, principalement lié aux nombreuses difficultés associées à l'extraction des virus des aliments, doit également être pris en compte au moment d'examiner les taux de prévalence obtenus tout au long de l'étude.

La présente étude visait à recueillir des données de base sur deux agents pathogènes viraux communs (c.-à-d. les NoV et le VHA) pouvant être présents dans les aliments offerts dans les commerces de détail. Étant donné la variabilité saisonnière et la diversité des circuits commerciaux, l'origine des produits peut changer d'une manière considérable d'une saison à l'autre. Ainsi, le nombre d'échantillons faisant l'objet du présent rapport n'est pas suffisant pour permettre une analyse détaillée des résultats en fonction du pays d'origine.

### 3 Résultats

En tout, 549 échantillons en vrac d'oignons verts ont été analysés à la recherche du VHA et de NoV. Le VHA n'a été détecté dans aucun des échantillons analysés. Aucun NoV n'a été détecté dans la majorité des échantillons (99,5 %). Des NoV du génogroupe GI ont été détectés dans trois échantillons d'oignons verts importés (0,5 %), y compris deux échantillons issus de l'agriculture classique et un échantillon issu de l'agriculture biologique (tableau 3).

**Tableau 3. Résumé des résultats d'analyse des échantillons d'oignons verts à l'égard du VHA et des NoV (GI et GII)**

Origine du produit	Méthode de production	Nombre d'échantillons	VHA		NoV	
			Détecté dans 25 g	Non détecté dans 25 g	Détectés dans 25 g	Non détectés dans 25 g
Importé	Classique	167	0	167	2	165
	Biologique	147	0	147	1	144
De provenance canadienne	Classique	179	0	179	0	178
	Biologique	56	0	56	0	56
<b>Total</b>		<b>549</b> (100 %)	<b>0</b> (0 %)	<b>549</b> (100 %)	<b>3</b> (0,5 %)	<b>546</b> (99,5 %)

Un total de 1 112 échantillons de légumes-feuilles préemballés ont été analysés à la recherche du VHA et des NoV (tableau 4). Le VHA n'a été trouvé dans aucun des échantillons analysés. Aucun NoV n'a été détecté dans la majorité des échantillons (97,8 %). Des NoV ont été détectés dans un total de 25 échantillons de légumes-feuilles (2,2 %), y compris 20 échantillons de légumes-feuilles de provenance canadienne, et 5, importés (tableau 4). Sur les échantillons positifs à l'égard des NoV, des norovirus du génogroupe GI ont été détectés dans 24 échantillons, et des NoV du génogroupe GII ont été détectés dans un échantillon.

**Tableau 4 Résumé des résultats d'analyse des légumes-feuilles à l'égard du VHA et des NoV (GI et GII)**

Origine du produit	Nombre d'échantillons	VHA		NoV (GI et GII)	
		Détecté dans 25 g	Non détecté dans 25 g	Détectés dans 25 g	Non détectés dans 25 g
Importé	669	0	669	20	649
De provenance canadienne	443	0	443	5	438
<b>Total</b>	<b>1 112</b>	<b>0 (0 %)</b>	<b>1 112 (100 %)</b>	<b>25* (2,2 %)</b>	<b>1 087 (97,8 %)</b>

\* Des NoV du génogroupe GII ont été détectés dans un échantillon de jeunes épinards de provenance canadienne. Tous les autres échantillons étaient positifs à l'égard des NoV du génogroupe GI.

Des épreuves moléculaires (RT-qPCR) ont été réalisées pour faire l'estimation du nombre de copies de virus dans les échantillons d'oignons verts (tableau 5) et de légumes-feuilles (tableau 6) qui étaient positifs à l'égard des NoV du génogroupe GI. Le nombre estimé de copies du virus variait de 18 à 30 724 par 25 grammes de produit dans les échantillons d'oignons verts et de 6 à 50 660 par 25 g de produit dans les échantillons de légumes-feuilles. Il a été impossible d'estimer le nombre de copies de virus dans l'échantillon positif (jeunes épinards de provenance canadienne) à l'égard des NoV du génogroupe GII.

**Tableau 5. Résumé des résultats du dénombrement des norovirus détectés dans les échantillons d'oignons verts**

Origine du produit	Type de production/Pays d'origine	Nombre de copies de NoV (GI)/25 g
Importé	Classique/Mexique	30,724
	Classique/Mexique	466
	Biologique/Mexique	18

**Tableau 6. Résumé des résultats du dénombrement des norovirus du génogroupe GI détectés dans les échantillons de légumes-feuilles**

<b>Origine du produit</b>	<b>Type de produit/Pays d'origine</b>	<b>Nombre de copies de NoV (GI)/25 g</b>
<b>Importé</b>	Salade César (à base de laitue romaine)/É.-U.	50,660
	Laitue en feuilles, romaine (fraîchement coupée)/É.-U.	11,144
	Mélange à salade (à base de laitues iceberg et romaine)/É.-U.	2,628
	Laitue non précisée (fraîchement coupée)/É.-U.	1,358
	Mélange printanier/É.-U.	1,142
	Épinards (jeunes)/É.-U.	864
	Mélange printanier/É.-U.	742
	Mélange printanier/É.-U.	624
	Mélange printanier/É.-U.	308
	Laitue en feuilles, cœurs de romaine (entiers)/É.-U.	296
	Laitue en feuilles, cœurs de romaine (entiers)/É.-U.	180
	Mélange italien (mélange à salade à base de laitue romaine)/É.-U.	164
	Jeunes épinards/É.-U.	162
	Mélange à salade (à base de laitues iceberg et romaine)/É.-U.	120
	Jeunes épinards/É.-U.	32
	Salade César (à base de laitue romaine)/É.-U.	30
	Mélange à salade (à base de laitues iceberg et romaine)/É.-U.	30
	Laitue iceberg (entière)/É.-U.	26
	Mesclun (à base de laitues iceberg et romaine)/É.-U.	26
	Mélange printanier/É.-U.	12

<b>De provenance canadienne</b>	Roquette/Canada	688
	Mélange de laitues/Canada	128
	Jeunes épinards/Canada	100
	Mélange printanier/Canada	6

Des NoV ont été détectés dans la plupart des types de légumes-feuilles. Aucune différence notable n'a été observée entre les différents types de produits (tableau 7).

**Tableau 7. Résultats positifs aux NoV selon le type de produit**

Type de produit	Nombre d'échantillons positifs	Nombre d'échantillons prélevés	Taux de résultats positifs (%)
Roquette	1	50	2,0
Laitue entière (sous-total)	3	132	2,2
Laitue, fraîchement coupée (sous-total)	10	329	3,0
Jeunes épinards	5	371	1,3
Mélange printanier	6	210	2,9
Bette à carde	0	11	0
Autres (type de produit non précisé)	0	9	0
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>1 112</b>	<b>2,2</b>

Ces résultats indiquent que la contamination des oignons verts et des légumes-feuilles par des NoV a effectivement lieu. Il faut seulement quelques particules actives (1-10) de NoV pour causer une gastroentérite (14). À l'heure actuelle, aucune étude connue n'a démontré combien de particules virales, telles que détectées par les méthodes courantes de PCR, est nécessaire pour causer la maladie (17). Par conséquent, il est difficile de déterminer, même avec des résultats quantitatifs, si les échantillons positifs à l'égard des NoV représentent un véritable risque pour la salubrité des aliments.



## 4 Conclusion et discussion

Dans la présente étude ciblée (2010-2011), le VHA n'a été trouvé dans aucun des échantillons, et aucun NoV n'a été détecté dans la majeure partie des échantillons. Des NoV ont été détectés et confirmés dans 3 échantillons d'oignons verts (sur 549) et 25 échantillons de légumes-feuilles (sur 1 112). Les résultats positifs indiquent que les produits sont entrés en contact avec les virus à un moment donné dans la chaîne de production et de distribution, et donnent à penser que les bonnes pratiques agricoles (BPA) et les bonnes pratiques de fabrication (BPF) n'ont pas été suivies ou mises en œuvre de façon appropriée. Des mesures de suivi immédiates n'ont pu être prises, car les types de produits examinés dans le cadre de la présente étude avaient une très courte durée de conservation et n'étaient plus offerts sur le marché au moment où les résultats ont été confirmés. Aucune éclosion de NoV ou du VHA associée à la consommation de ces produits n'a été signalée durant la présente étude. Il est impossible de déterminer si les échantillons positifs auraient pu causer des maladies en fonction des résultats de laboratoire uniquement.

Alors que la communauté scientifique internationale s'efforce d'harmoniser les méthodes d'analyse, d'établir des critères d'évaluation ainsi que de mettre en place des stratégies de prévention et d'atténuation des virus dans les aliments, l'ACIA recueille des données probantes sur la prévalence des virus pathogènes dans les produits alimentaires prioritaires au moyen d'études ciblées. Ces travaux contribuent à accroître les connaissances requises dans ce domaine émergent et peuvent aider à limiter les problèmes d'innocuité potentiels liés aux virus pathogènes dans les fruits et légumes frais.

Alors que l'industrie de l'alimentation et le secteur du commerce au détail au Canada sont ultimement responsables des aliments qu'ils produisent et vendent, et que les consommateurs sont responsables de la manipulation sécuritaire des aliments qu'ils ont en leur possession, l'ACIA régleme l'industrie, assure une surveillance et fait la promotion de la manipulation sécuritaire des aliments tout au long de la chaîne de production alimentaire. L'ACIA poursuivra ses activités de surveillance et informera les intervenants de ses constatations.

## 5. Remerciements

Nous tenons à remercier sincèrement Judy D. Greig du Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire de l'Agence de la santé publique du Canada de nous avoir fourni le résumé sur les éclosions (annexe C).

## 6 Références

1. Gouvernement du Canada. *Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires et de consommation* [en ligne]. 2012. Consulté en décembre 2013, <https://www.tbs-sct.gc.ca/hidb-bdih/initiative-fra.aspx?Hi=85>
2. Agence canadienne d'inspection des aliments. *Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires* [en ligne]. 2012. Consulté en août 2013, <http://merlin/francais/fssa/action/actionf.asp>
3. Agence canadienne d'inspection des aliments. *Rapport sommaire du comité des sciences sur la salubrité des aliments, 2008* [en ligne]. 2008. Consulté en août 2013, <http://merlin.cfia-acia.inspection.gc.ca/francais/fssa/invenq/guidoce.asp#refman5>
4. Comité de la salubrité alimentaire du Codex Alimentarius. *Code d'usages en matière d'hygiène pour les fruits et légumes frais (CAC/RCP 53-2003)* [en ligne]. 2011. Consulté en août 2013, [http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/10200/CXP\\_053f\\_2013.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/10200/CXP_053f_2013.pdf)
5. Comité de la salubrité alimentaire du Codex Alimentarius. *Code d'usages international recommandé - Principes généraux d'hygiène alimentaire (CAC/RCP 1-1969)* [en ligne]. 2011. Consulté en août 2013, [http://www.codexalimentarius.org/download/standards/23/CXP\\_001f.pdf](http://www.codexalimentarius.org/download/standards/23/CXP_001f.pdf)
6. Comité de la salubrité alimentaire du Codex Alimentarius. *Directives sur l'application des principes généraux d'hygiène alimentaire à la maîtrise des virus dans les aliments (CAC/GI 79-2012)* [en ligne]. 2012. Consulté en juin 2013, <http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/>
7. Ministère de la Justice Canada. *Loi sur les aliments et drogues* [en ligne]. 2008. Consulté en août 2013, <http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/lois/F-27/>
8. Ministère de la Justice Canada. *Règlement sur les aliments et drogues* [en ligne]. 2012. Consulté en août 2013, [http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/C.R.C.%2C\\_ch.\\_870/index.html](http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/C.R.C.%2C_ch._870/index.html)
9. Ministère de la Justice Canada. *Règlement sur les fruits et les légumes frais* [en ligne]. 2011. Consulté en août 2013, [http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/C.R.C.%2C\\_ch.\\_285/index.html](http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/C.R.C.%2C_ch._285/index.html)
10. Ministère de la Justice Canada. *Loi sur les produits agricoles au Canada* [en ligne]. 2005. Consulté en août 2013, <http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/lois/C-0.4/>

11. WHO/FAO. *Microbiological Risk Assessment Series 13: Viruses in Food: Scientific Advice to Support Risk Management Activities* [en ligne]. 2008. Consulté en juin 2013, [www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra13/en](http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra13/en)
12. Painter J. A., Hoekstra R. M., Ayers T., Tauxe R. V., Braden C. R., Angulo F. J. & Griffin P. M. *Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by Using Outbreak Data, United States, 1998-2008* *Emerg Infect Dis* 2013; 19, 407-15.
13. Thomas M. K., Murray R., Flockhart L., Pintar K., Pollari F., Fazil A., Nesbitt A. & Marshall B. *Estimates of the Burden of Foodborne Illness in Canada for 30 Specified Pathogens and Unspecified Agents, Circa 2006* *Foodborne Pathog Dis* 2013; 10, 639-48.
14. Food and Drug Administration. *Bad Bug Book*, 2012. Consulté en juin 2013, <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/>
15. Agence de la santé publique du Canada. *Prélèvement, préparation des échantillons et méthodes de laboratoire* [en ligne]. 2010. Consulté en décembre 2013, <http://www.phac-aspc.gc.ca/foodnetcanada/publications-fra.php>
16. Santé Canada. *Compendium de méthodes* [en ligne]. 2011. Consulté en août 2013, <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/index-fra.php>
17. Baert L., Mattison K., Loisy-Hamon F., Harlow J., Martyres A., Lebeau B., Stals A., Van Coillie E., Herman L. & Uyttendaele M. *Review: Norovirus Prevalence in Belgian, Canadian and French Fresh Produce: A Threat to Human Health?* *Int J Food Microbiol* 2011; 151, 261-9.

## **Annexe A : Liste des acronymes**

**ACIA** : Agence canadienne d'inspection des aliments

**ASPC** : Agence de la santé publique du Canada

**BPA** : Bonnes pratiques agricoles

**BPF** : Bonnes pratiques de fabrication

**CDC** : Centres for Disease Control and Prevention

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

**g** : gramme

**LAD** : *Loi sur les aliments et drogues*

**NoV** : Norovirus

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PAASPA** : Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires

**PAASPAC** : Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires et de consommation

**PCR** : Réaction en chaîne de la polymérase

**RAD** : *Règlement sur les aliments et drogues*

**RT-PCR** : Transcription inverse suivie de réaction en chaîne de la polymérase

**RT-qPCR** : Transcriptase inverse suivie de réaction de polymérisation en chaîne quantitative

**SC** : Santé Canada

**USFDA** : Food and Drug Administration des États-Unis

**VHA** : Virus de l'hépatite A

## Annexe B : Résumé des éclosions de maladies d'origine alimentaire associées à des légumes-feuilles dans le monde (1998-2010)\*

Type d'agents pathogènes	Nombre d'éclosions	Nombre (pourcentage) d'éclosions
Norovirus	27	29,0
Virus de l'hépatite A	2	2,2
Autre virus pathogène	1	1,1
<b>Sous-total – Virus</b>	<b>30</b>	<b>32,3</b>
<i>E. coli</i> O157	27	29,0
Autre type d' <i>E. coli</i>	5	5,4
<i>Salmonella</i>	19	20,4
<i>Shigella</i>	3	3,2
<i>Campylobacter</i>	3	3,2
<i>Clostridium perfringens</i>	2	2,2
<i>Yersinia</i>	1	1,1
<b>Sous-total – Bactéries</b>	<b>60</b>	<b>64,5</b>
<i>Cryptosporidium</i>	1	1,1
<i>Cyclospora</i>	2	2,2
<b>Sous-total – Parasites</b>	<b>3</b>	<b>3,2</b>
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

L'information a été synthétisée conformément aux données fournies par Judy D. Greig, Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire, ASPC (Agence de la santé publique du Canada).

Les données présentées ont été tirées de plusieurs sources d'information, y compris des revues à comité de lecture, des journaux, des communiqués de presse, des unités de services de santé, des laboratoires nationaux et des sites Web gouvernementaux.

## Annexe C : Éclosions de maladies d'origine alimentaire associées à des légumes-feuilles contaminés par des agents pathogènes viraux dans le monde (1998-2010)\*

Cas n°	Année	Mois	Microorganisme	Véhicule	Pays	Province /État	Nombre de cas	Source de l'information
1	1999	Août	Norovirus	Laitue	États-Unis	Minnesota	27	Minnesota Dept of Health, 1999
2	1999	Octobre	Norovirus	Laitue	États-Unis	Virginie-Occidentale	16	CDC
3	2001	Avril	Norovirus	Laitue	États-Unis	Maine	70	CDC
4	2002	Juin	Norovirus	Laitue	États-Unis	Ohio	15	CDC
5	2002	Décembre	Norovirus	Laitue	États-Unis	Minnesota	4	CDC
6	2003	Mars	Norovirus	Laitue	États-Unis	Minnesota	45	CDC
7	2003	Septembre	Norovirus	Laitue, romaine	États-Unis	Floride	52	CDC
8	2004		<i>Autre virus</i>	Laitue	Finlande	S.O.	150	Autorité européenne de sécurité des aliments
9	2004	Février	Norovirus	Laitue	États-Unis	Connecticut	13	CDC
10	2004	Juin	Norovirus	Laitue	États-Unis	Colorado	15	CDC
11	2004	Octobre	Novorus	Laitue	États-Unis	Minnesota	9	Minnesota Dept Health, 2004
12	2004	Décembre	<i>Novorus</i>	<i>Laitue</i>	<i>États-Unis</i>	Arizona	38	<i>CDC</i>
13	2005	Février	Norovirus	Laitue	États-Unis	Minnesota	30	Minnesota Dept. Health, 2005
14	2005	Septembre	Virus de l'hépatite A (VHA)	Laitue	États-Unis	Californie	60	LA Times
15	2006	Avril	Norovirus	Laitue	États-Unis	Californie	3	CDC
16	2006	Mai	Norovirus	Laitue	États-Unis	Indiana	24	CDC
17	2007	Janvier	Norovirus	Laitue	États-Unis	Indiana	9	CDC
18	2007	Février	Norovirus	Laitue	États-Unis	Tennessee	8	CDC
19	2007	Juin	Norovirus	Laitue	États-Unis	Washington	128	CDC

Cas n°	Année	Mois	Microorganisme	Véhicule	Pays	Province /État	Nombre de cas	Source de l'information
20	2008		Virus de l'hépatite A (VHA)	Laitue, romaine	États-Unis	Californie	22	CDC
21	2008		Norovirus GII	Sandwichs roulés à la laitue	États-Unis	Oregon	151	CDC
22	2008		Norovirus	Salades à base de laitue	États-Unis	Connecticut	30	CDC
23	2008		Norovirus GII	Salades à base de laitue	États-Unis	Oregon	19	CDC
24	2008		Norovirus GII	Salades à base de laitue	États-Unis	Ohio	11	CDC
25	2009		Norovirus	Laitue	États-Unis	New York	24	CDC
26	2009		Norovirus GII	Laitue en feuilles	États-Unis	Wisconsin	16	CDC
27	2010	Avril	Norovirus	Mélange de jeunes légumes-feuilles	États-Unis	Minnesota	35	Minnesota Department of Health
28	2010		Norovirus	Laitue	Danemark	S.O.	260	Eurosurveillance, 2010 15:6
29	2010		Norovirus	Laitue, romaine	Norvège	S.O.	157	European line list, 2010
30	2010		Norovirus	Laitue	Danemark	S.O.	14	Rapport de 2010 de l'UE

\* L'information présentée dans cette annexe a été fournie par Judy D. Greig, Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire, ASPC (Agence de la santé publique du Canada). Les données présentées ont été tirées de plusieurs sources d'information, y compris des revues à comité de lecture, des journaux, des communiqués de presse, des unités de services de santé, des laboratoires nationaux et des sites Web gouvernementaux.

## Annexe D : Résumé des éclosions de maladies d'origine alimentaire associées aux oignons verts dans le monde (1996-2010)\*

Cas n°	Année	Mois	Microorganisme	Véhicule	Pays	Province/État	Nombre de cas	Source
1	1996		Virus de l'hépatite A*	Oignons verts	États-Unis	Californie	60	Liste des CDC, 1996
2	1997		<i>Cryptosporidium parvum</i>	Oignons verts (soupçonnés)	États-Unis		54	FDA des États-Unis : Analysis and Evaluation of Preventive Control Measures for the Control and Reduction/Elimination of Microbial Hazards on Fresh and Fresh-Cut Produce, Chapter IV
3	1998		Virus de l'hépatite A	Oignons verts	États-Unis	Ohio	43	J Infect Dis 2001 183(9):1273-6
4	2000		Virus de l'hépatite A	Oignons verts	États-Unis	Plusieurs États	32	Outbreak alert database, Center for Science in the Public Interest
5	2003		Virus de l'hépatite A	Oignons verts	États-Unis		742	MMWR November 28, 2003. 52(47):1155-1157
6	2006		<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Oignons verts (soupçonnés)	États-Unis	Pennsylvanie, Delaware, Caroline du Sud, Utah.	300	CDC
7	2007		Norovirus	Oignons verts	États-Unis		13	Liste des CDC, 2007
8	2010		<i>Salmonella</i> Oranienburg	Oignons verts	Canada	Ontario	25	ACIA

\* L'information présentée dans cette annexe a été fournie par Judy D. Greig, Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire, ASPC (Agence de la santé publique du Canada). Les données présentées ont été tirées de plusieurs sources d'information, y compris des revues à comité de lecture, des journaux, des communiqués de presse, des unités de services de santé, des laboratoires nationaux et des sites Web gouvernementaux.



## Annexe E : Méthodes d'analyse microbiologique

Analyse microbiologique	(N° d'identification de la méthode)	Titre de la méthode
<b>Virus de l'hépatite A</b>	ACIA-VAD-03 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-03*)	Méthode de concentration et de purification de virus présents dans les aliments d'intérêt clinique au moyen de billes magnétiques recouvertes d'oligo (dT) 25.
	ACIA-VAD-04 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-07*)	Détection du virus de l'hépatite A au moyen de la RT-PCR classique.
<b>Norovirus (GI et GII)</b>	ACIA-VAD-03 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-03*)	Méthode de concentration et de purification de virus des aliments d'intérêt clinique.
	ACIA-VAD-06 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-10*)	Détection des norovirus du génogroupe I au moyen de la RT-PCR classique.
	ACIA-VAD-07 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-10*)	Détection des norovirus du génogroupe I au moyen de la RT-PCR en temps réel.
	ACIA-VAD-12 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-10*)	Détection des norovirus du génogroupe II au moyen de la RT-PCR classique.
	ACIA-VAD-11 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLF-10*)	Méthode de clonage, de séquençage et de caractérisation moléculaire des fragments génomiques viraux amplifiés par des méthodes moléculaires.

\* *Compendium de méthodes (15)*.

Les méthodes ACIA-VAD ont été validées pour toutes les denrées analysées. Les modifications qui ont été apportées aux méthodes OPFLP publiées dans le *Compendium de méthodes* de Santé Canada sont les suivantes :

Le norovirus murin (MNV-1) a été incorporé comme témoin positif dans les protocoles d'éluion et d'extraction. De plus, les échantillons analysés à l'aide des méthodes ACIA-VAD pour lesquels on a obtenu une valeur Ct avec les amorces et la sonde pour la détection des NoV (lorsque le témoin sans matrice était négatif) ont été considérés comme présumés positifs. La technique de clonage et de séquençage utilisée pour la confirmation des fragments amplifiés décrite à la section 11 de la méthode OPFLF-10 « Préparation du clone d'ADNc pour la courbe d'étalonnage de la RT-PCR en temps réel » a été employée pour tous les échantillons présumés positifs. Pour la courbe d'étalonnage, un transcrit d'ARN a été utilisé comme témoin plutôt qu'un plasmide. Les méthodes automatisées, Qiacube et QIAxcel, ont été utilisées pour la purification/l'extraction de l'ADN et la vérification des produits d'amplification, respectivement. De plus, la trousse d'extraction Qiagen Minelute Gel a été utilisée au lieu de la méthode rapide Qiagen QIAquick mentionnée dans la méthode OPFLF-10. En ce qui concerne les

témoins d'amplification positifs de la RT-qPCR, les méthodes CFIA-VAD utilisent un segment d'ARN transcrit plutôt que de l'ARN purifié de NoV des génogroupes GI et/ou GII préalablement confirmés positifs (dans le cadre d'autres expériences ou par un clone d'ADNc correspondant), puisque l'utilisation d'un segment d'ARN transcrit peut aussi servir de témoin pour la transcriptase inverse. Enfin, la courbe d'étalonnage des systèmes de RT-PCR utilisée dans les méthodes ACIA-VAD est produite à l'aide de dilutions séquentielles d'un transcrit d'ARN de concentration connue.