



Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires

RAPPORT

Études ciblées de 2011-2012 et 2012-2013

Études ciblées portant sur la présence de pathogènes viraux et d'*E. coli* de type générique dans les fruits et les légumes frais



Table des matières

Sommaire	2
1 Introduction	4
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
2 Étude sur la présence de virus dans les fruits et les légumes frais	6
2.1 Justification	6
2.2 Microorganismes préoccupants ciblés	7
2.2.1 Pathogènes viraux	7
2.2.1 <i>E. coli</i> de type générique – bactérie indicatrice d'une contamination fécale.	8
2.3 Prélèvement des échantillons	8
2.4 Distribution des échantillons.....	9
2.5 Détails sur les méthodes.....	10
2.6 Limites.....	10
3 Résultats	12
4 Conclusion et discussion	16
5 Remerciements	17
6 Références	18
Annexe A : Liste des acronymes	20
Annexe B : Exemples d'éclosions majeures (>100 cas) associés aux fruits et légumes contaminés par des pathogènes viraux (2004-2013)	19
Annexe C : Méthodes d'analyse microbiologique	21

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 virus les plus fréquemment signalés dans les cas de maladies d'origine alimentaire sont les norovirus (NoV) et le virus de l'hépatite A (VHA), mais d'autres virus comme les rotavirus humains (RVH) peuvent aussi être transmis par l'intermédiaire d'aliments. Un comité d'experts FAO/OMS (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture et Organisation mondiale de la santé) a récemment déterminé que les NoV et le VHA dans les fruits et les légumes frais constituaient l'une des combinaisons virus-denrées devant être considérées comme prioritaires sur le plan de la salubrité des aliments. De nombreuses éclosions associées à la contamination virale des fruits et des légumes frais ont été signalées partout dans le monde au cours de la dernière décennie. Les fruits et les légumes frais peuvent être contaminés par des virus 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 fruits et 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, une variété de fruits et de légumes frais 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 de légumes frais ont été prélevés dans des magasins de détail canadiens pour la recherche de pathogènes viraux préoccupants.

Le principal objectif des études ciblées de 2011-2012 et de 2012-2013 était de produire des données de surveillance de base sur la présence des pathogènes viraux NoV, VHA et RVH, ainsi que d'*E. coli* de type générique, une bactérie indicatrice de contamination fécale (analyse menée en 2012-2013 uniquement), dans les fruits et les légumes frais de provenance canadienne et importés offerts sur le marché canadien. Au total, 3 339 échantillons de fruits et de légumes frais préemballés, (poivrons, brocoli, chou, tomates biologiques, laitues, oignons verts, légumes-feuilles fraîchement coupés, légumes fraîchement coupés autres que les légumes-feuilles et baies), de provenance canadienne et

importés ont été prélevés et analysés. Les niveaux d'*E. coli* de type générique ont été jugés acceptables dans les 1 959 échantillons analysés pour cette bactérie indicatrice. Le VHA n'a été détecté dans aucun des échantillons analysés. Le RVH et le NoV ont été détectés dans un et 34 échantillons, respectivement. Les résultats positifs indiquent que les produits sont entrés en contact avec les virus à une étape donnée de 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, les types de produits examinés dans le cadre de la présente étude ayant une très courte durée de conservation et n'étant plus offerts sur le marché au moment où les résultats ont été confirmés. Aucune éclosion de maladies à NoV, à RVH ou à VHA découlant de la consommation de ces produits n'a été signalée au Canada 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 n'est pas possible 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 ni de méthodes d'analyse harmonisées reconnus à l'échelle internationale concernant la détection des virus dans les fruits et les légumes frais.

L'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) réglemente et supervise l'industrie, collabore avec les provinces et les territoires et fait la promotion d'une manipulation sécuritaire des aliments tout au long de la chaîne de production. Toutefois, il importe de noter que l'industrie de l'alimentation et le secteur du détail au Canada sont ultimement responsables des aliments qu'ils produisent et vendent, tandis 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 produits alimentaires, de santé et de consommation. L'initiative du 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 la vaste initiative que constitue le PAASPAC. 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 desquels est la cartographie des risques et la surveillance de base. Le principal objectif de ce dernier secteur est de mieux identifier, évaluer et prioriser les dangers liés à la salubrité des aliments au moyen 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 analyser 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 l'occurrence potentielle de dangers dans les denrées 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 est prélevé sur plusieurs années 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 à analyser des échantillons d'une vaste gamme de denrées 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 territoriaux³.

La présente étude (2010-2011) représente une partie d'un ensemble de plus de 5 000 échantillons de fruits et de 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 pathogènes viraux préoccupants dans les fruits et les 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 de 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 de limiter les risques de contamination microbienne, chimique et physique à toutes les étapes de la production des fruits et des légumes frais, de la production primaire jusqu'à l'emballage. En plus de ces codes, le document *Directives sur l'application des principes généraux d'hygiène alimentaire à la maîtrise des virus dans les aliments* (y compris dans les fruits et les légumes frais, Annexe II) (CAC/GL 79-2012)⁶ a récemment été rédigé pour proposer des façons de prévenir la contamination des fruits et des 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 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 les 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 salubrité du *Règlement sur les fruits et les légumes frais*⁹ en vertu de la *Loi sur les produits agricoles au Canada*¹⁰. Ce règlement est conçu pour que les fruits et les 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 d'aliments à la recherche de 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 la présence de virus dans les fruits et les légumes frais

2.1 Justification

Au cours des récentes années, les virus sont de plus en plus reconnus comme une cause majeure d'éclotions de maladies d'origine alimentaire. Les renseignements sur les éclotions fournis par l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) indiquent que les fruits et les légumes frais contaminés par des virus entériques humains (c'est-à-dire les virus capables de se multiplier dans le tractus gastro-intestinal chez l'homme) ont été responsables de 140 éclotions dans le monde au cours de la dernière décennie¹¹ (voir les exemples donnés à l'annexe B). La majorité des éclotions déclarées ont été causées par des norovirus (NoV), mais d'autres virus comme le virus de l'hépatite A (VHA) et les rotavirus humains (RVH) ont également été mis en cause dans plusieurs éclotions.

Les fruits et les légumes frais 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 distribution¹². Les principales sources de contamination des aliments par des virus entériques sont les matières fécales et les vomissures de personnes infectées. Par conséquent, les fruits et les légumes frais peuvent être contaminés au champ à la suite de l'utilisation d'une eau d'irrigation contaminée par des

eaux usées résidentielles. Bon nombre de fruits et de légumes frais nécessitent beaucoup de manipulation durant la récolte et l'emballage et peuvent, par conséquent, être contaminés par des travailleurs infectés. Durant la transformation, l'utilisation d'une eau contaminée pour le rinçage, le refroidissement et la congélation des fruits et des légumes frais représente aussi une source potentielle de contamination par des virus. Même si les virus peuvent être éliminés par une cuisson adéquate, leur présence dans des fruits et des légumes frais consommés crus pose un risque potentiel pour la salubrité des aliments.

Un comité d'experts FAO/OMS a récemment déterminé que les NoV, le VHA et les RVH étaient des virus d'origine alimentaire qui étaient une source de préoccupation majeure et que les NoV et le VHA dans les fruits et les légumes frais constituaient l'une des combinaisons virus-denrées devant être considérées comme étant les plus prioritaires sur le plan de la salubrité des aliments. Cette conclusion est fondée sur les connaissances actuelles concernant les maladies virales d'origine alimentaire (ex. incidence, gravité et menace pour la santé publique)¹².

D'après les renseignements ci-dessus et les recommandations du Comité scientifique de la salubrité des aliments³, les fruits et les légumes frais ont été sélectionnés comme groupes prioritaires des combinaisons virus-denrées devant faire l'objet 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 pathogènes viraux préoccupants dans une variété de fruits et de légumes frais vendus dans les commerces de détail au Canada.

2.2 Microorganismes préoccupants ciblés

2.2.1 Pathogènes viraux

Les norovirus (NoV), le virus de l'hépatite A (VHA) et les rotavirus humains (RVH) sont des virus entériques qui peuvent être transmis par l'intermédiaire d'aliments contaminés et causer la maladie.

Les NoV sont considérés comme la cause principale des maladies d'origine alimentaire contractées aux États-Unis¹³ et au Canada¹⁴. En général, les NoV causent une gastroentérite aiguë sans effet à long terme, mais ils peuvent entraîner une déshydratation grave et l'hospitalisation dans certains cas. Il existe actuellement cinq génogroupes reconnus de NoV (de GI à GV); les génotypes I et II sont responsables de la plupart des maladies humaines¹⁵.

Les rotavirus sont la cause principale de la gastroentérite aiguë chez les jeunes enfants dans le monde, et ils peuvent également causer une diarrhée chez les personnes

immunodéprimées¹⁶. Il est estimé que seulement 1 % des cas de maladies à RVH sont d'origine alimentaire¹⁷ (par rapport aux cas de transmission de personne à personne). Trois groupes sérologiques (types A, B et C) ont été identifiés comme étant pathogènes pour l'homme.

Même si l'incidence des maladies d'origine alimentaire causées par le VHA est beaucoup plus faible que dans le cas des NoV et des RVH¹⁴, les infections liées au VHA peuvent engendrer des symptômes et/ou des conséquences graves. Le VHA cause l'hépatite A, une maladie infectieuse du foie qui est habituellement spontanément résolutive, mais qui peut avoir des conséquences graves (ex. une hépatite fulminante, signalée dans moins de 1 à 1,5 % des cas)¹⁵. La contamination par le VHA est particulièrement préoccupante dans la majorité des pays en développement où l'infection par ce virus est endémique¹².

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 répliquer¹². Ils sont toutefois plus résistants aux conditions environnementales que bon nombre de bactéries et peuvent demeurer viables dans les aliments pendant de très longues périodes¹². Les légumes (ex. légumes-feuilles, fines herbes et oignons verts), les fruits (ex. baies), les aliments prêts à manger (ex. salades, sandwichs) et les mollusques et crustacés (ex. huîtres) ont été mis en cause dans des éclosions de maladies d'origine alimentaire associées aux NoV et au VHA¹².

2.2.1 *E. coli* de type générique – bactérie indicatrice d'une contamination fécale

Les bactéries *E. coli* qui vivent dans le gros intestin des humains et des animaux sont généralement inoffensives. D'ordinaire présent dans les matières fécales humaines et animales, *E. coli* est une bactérie indicatrice d'une contamination fécale directe ou indirecte des aliments¹⁸. La présence d'*E. coli* de type générique dans les aliments peut également indiquer une contamination possible par des microorganismes entériques pathogènes qui vivent aussi dans les intestins d'humains et d'animaux infectés. Il importe de noter que si la présence d'*E. coli* de type générique dans les aliments montre qu'il existe un risque accru de contamination par des microorganismes pathogènes, elle ne constitue néanmoins pas une preuve concluante d'une telle contamination. Des quantités élevées d'*E. coli* de type générique dans les fruits et les légumes frais vendus au détail indiquent que la contamination s'est produite à un point quelconque entre la production et le moment de la vente.

2.3 Prélèvement des échantillons

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 2011 et mars 2013.

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 150 g. Cette approche d'échantillonnage est régulièrement adoptée pour les études menées au niveau du détail et est aussi utilisée par d'autres partenaires fédéraux, comme l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) dans le cadre des enquêtes FoodNet¹⁹. 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

Au total, 3 339 échantillons de fruits et de légumes frais préemballés ont été prélevés et analysés à la recherche de NoV, de RVH et du VHA (tableau 1). Les échantillons prélevés en 2012-2013 (n=1 959) ont également été analysés à l'égard d'*E. coli* de type générique, une bactérie indicatrice de contamination fécale.

Tableau 1 Répartition des échantillons selon l'origine et le type du produit

Groupe de fruits et de légumes frais	Importés	De provenance canadienne	Total
Poivrons ¹	1	144	145
Chou ¹	115	8	123
Brocoli ¹	135	3	138
Laitues ¹	106	31	137
Tomates ² (toutes biologiques)	218	189	407
Légumes-feuilles fraîchement coupés ² (ex. mélanges de laitues, laitues fraîchement coupées, épinards, mescluns)	252	71	323
Oignons verts ³	496	349	845
Légumes fraîchement coupés autres que des légumes-feuilles (ex. salades de chou, fleurets, carottes, céleris, champignons, poivrons, etc.), mélangés ou non	332	228	560
Baies ⁴	376	285	661
Total	2 031	1 308	3 339

1. Groupe échantillonné et analysé en 2011-2012 seulement (produits entiers seulement).

2. Groupe échantillonné et analysé en 2012-2013 seulement.

3. 25 % des oignons verts prélevés étaient vendus en tant que produits biologiques – ces échantillons biologiques ont été en majeure partie prélevés en 2011-2012.
4. Le groupe des baies comportait des bleuets (283 échantillons), des fraises (198 échantillons), des mûres sauvages (108 échantillons), des framboises (63 échantillons), des canneberges (5 échantillons) et des baies non spécifiées (4 échantillons).

Tous les produits échantillonnés de provenance canadienne (tableau 1) ont été cultivés et prélevés dans diverses provinces du Canada. La plupart des échantillons importés provenaient des États-Unis (plus de 93 % des échantillons de chaque groupe de produits), sauf pour les oignons verts et les tomates qui provenaient principalement du Mexique (82 % et 76 % respectivement) et les baies importées qui provenaient principalement de l'Amérique latine (63 % entre le Mexique, le Chili, l'Argentine et le Guatemala).

2.5 Détails sur les méthodes

Les échantillons ont été analysés à la recherche du VHA, de NoV (GI et GII) et de RVH à l'aide de versions modifiées de méthodes publiées dans le *Compendium de méthodes pour l'analyse microbiologique des aliments* de Santé Canada²⁰ (annexe E). Les échantillons ont d'abord fait l'objet d'une épreuve par RT-PCR (transcription inverse suivie de réaction en chaîne de la polymérase). Ensuite, pour confirmer la présence des virus ciblés, nous avons procédé à une caractérisation par clonage et séquençage des échantillons qui étaient positifs à l'épreuve par RT-PCR. Les échantillons positifs confirmés à l'égard des NoV et du VHA ont été analysés de nouveau par transcription inverse suivie d'une PCR quantitative (RT-qPCR) en temps réel 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.

Pour l'analyse d'*E. coli* de type générique (analyse effectuée en 2012-2013 seulement), on a utilisé la méthode MFHPB 27 publiée dans le *Compendium de méthodes de Santé Canada pour l'analyse microbiologique des aliments*²⁰ (annexe C). L'ACIA utilise cette méthode d'analyse afin de déterminer la conformité des aliments à la réglementation, et celle-ci est entièrement validée pour l'analyse des fruits et des légumes frais. Selon l'interprétation des *Normes et lignes directrices de la Direction générale des produits de santé et des aliments sur l'innocuité microbiologique des aliments*²¹, les résultats de numération ont été présentés comme suit : acceptables si les dénombrements étaient inférieurs à 100 UFC/g; marginaux si les dénombrements se situaient entre 100 et 1 000 UFC/g; non acceptables si les dénombrements étaient supérieurs à 1 000 UFC/g.

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 reconnu à l'échelle

internationale pour évaluer le danger que présentent les virus dans les fruits et les légumes frais. Les seules méthodes permettant la détection des virus entériques humains, dont les NoV, les RVH 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 pour un de ces virus ne causera pas nécessairement la 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 les cas cliniques. De plus, en raison de la nature périssable des fruits et des 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. L'imprécision des méthodes actuelles, principalement liée aux nombreuses difficultés associées à l'extraction des virus des aliments, doit également être prise 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 trois pathogènes viraux communs (c.-à-d. les NoV, les RVH 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

3.1 Résultats d'analyse pour les virus

Au total, 3 339 échantillons ont été analysés à la recherche du VHA, du RVH et de NoV. Le VHA n'a été détecté dans aucun des échantillons analysés. Le RVH a été détecté dans un seul échantillon de baies. Le NoV a été détecté dans 34 échantillons (1,02 %) provenant de tous les groupes de fruits et de légumes frais, à l'exception des poivrons et des tomates (tableau 2).

Tableau 2. Résumé des résultats d'analyse pour les virus

Groupe de fruits et de légumes frais	Nombre d'échantillons	NoV (GI et GII)		VHA		RVH	
		Détecté dans 25 g	Non détecté dans 25 g	Détecté dans 25 g	Non détecté dans 25 g	Détecté dans 25 g	Non détecté dans 25 g
Poivron	145	0	145	0	145	0	145
Chou	123	3 (2,44 %)	120	0	123	0	123
Brocoli	138	2 (1,45 %)	136	0	136	0	136
Laitues	137	1 (0,73 %)	137	0	137	0	137
Tomates (toutes biologiques)	407	0	407	0	407	0	407
Légumes-feuilles fraîchement coupés	323	3 (0,93 %)	317	0	323	0	323
Oignons verts	845	11 (1,30 %)	834	0	845	0	845
Légumes fraîchement coupés autres que des légumes-feuilles	560	4 (0,71 %)	558	0	560	0	560
Baies	661	10 (1,51 %)	651	0	661	1 (0,15%)	660
Total	3 339	34 (1,02 %)	3 305 (98,98 %)	0	3 339	1 (0,03 %)	3 338 (99,97 %)

Les échantillons positifs provenaient des États-Unis, du Mexique et du Canada. Les génotypes GI et GII ont été identifiés parmi les échantillons positifs à l'égard des NoV. Un RVH de type A a été identifié dans un échantillon de framboises (tableau 3).

Tableau 3 Résumé des résultats positifs pour les norovirus (GI et GII) et les rotavirus détectés dans des échantillons de fruits et de légumes frais

Type de produit/pays d'origine	Type de virus
Chou :	
1 échantillon du Mexique	NoV GII
2 échantillons des États-Unis	NoV GI (1 échantillon) et NoV GII (1)
Brocoli :	
1 échantillon des États-Unis (biologique)	NoV GI
1 échantillon des États-Unis	NoV GII
Laitues :	
1 échantillon de laitue iceberg des États-Unis	NoV GI
Légumes-feuilles fraîchement coupés :	
1 échantillon de mélange de laitues du Mexique	NoV GI
2 échantillons de mélange de laitues des États-Unis	NoV GI (1 échantillon) et NoV GII (1)
Oignons verts :	
7 échantillons du Mexique (biologique)	NoV GI (5 échantillons) et NoV GII (2)
2 échantillons des États-Unis (biologique)	NoV GI
1 échantillon du Canada	NoV GI
1 échantillon du Canada (biologique)	NoV GI
Légumes fraîchement coupés autres que des légumes-feuilles :	
1 échantillon de légumes mélangés du Canada	NoV GII
3 échantillons de salades de chou des États-Unis	NoV GI (1 échantillon) et NoV GII (2)
Baies :	
3 échantillons de fraises des États-Unis	NoV GI
1 échantillon de fraises du Canada	NoV GI
1 échantillon de bleuets des États-Unis	NoV GI
2 échantillons de bleuets du Canada	NoV GI
1 échantillon de mûres sauvages du Mexique	NoV GI
1 échantillon de mûres sauvages du Canada	NoV GI
1 échantillon de framboises du Mexique	NoV GI
1 échantillon de framboises du Mexique	RVH de type A

Une épreuve par RT-PCR en temps réel (RT-qPCR) a été réalisée pour tenter d'estimer le nombre de copies génomiques de virus présentes dans les échantillons trouvés positifs à l'égard des NoV (l'épreuve n'était pas disponible pour la quantification des RVH au moment de l'étude). Le nombre estimé de copies de virus a été obtenu pour 12 échantillons des 34 échantillons positifs à l'égard des NoV; ce nombre se situait entre 7 et 346 copies génomiques par 25 grammes de produit. Cependant, l'imprécision des méthodes actuelles, principalement liée aux nombreuses difficultés associées à l'extraction des virus des aliments, doit être prise en compte au moment d'examiner ces résultats. De plus, il faut seulement quelques particules actives (1-10) de virus pour causer une gastroentérite¹⁵. À l'heure actuelle, aucune étude n'a permis de déterminer le nombre de particules virales (détectées au moyen des méthodes courantes de PCR) nécessaire pour causer la maladie²². Par conséquent, il est difficile de déterminer, même avec des résultats quantitatifs, si les échantillons positifs représentent un véritable risque pour la salubrité des aliments.

Les résultats ci-dessus (tableaux 2 et 3) indiquent que des fruits et des légumes frais sont contaminés à l'occasion par des NoV et des RVH.

3.2 Résultats d'analyse pour *E. coli* de type générique

Tous les échantillons prélevés en 2012-2013 (n=1 959) ont également été analysés à la recherche d'*E. coli* de type générique. Les dénombrements d'*E. coli* de type générique ont été jugés acceptables dans tous les échantillons (tableau 4).

Tableau 4. Résumé des résultats d'analyse pour *E. coli* de type générique

Groupe de fruits et de légumes frais	Nombre d'échantillons	Dénombrement d' <i>E. coli</i> de type générique		
		<100 UFC/g (acceptable)	100-1 000 UFC/g (marginal)	>1 000 UFC/g (non acceptable)
Tomates (toutes biologiques)	407	407	0	0
Légumes fraîchement coupés autres que des légumes-feuilles	430	430	0	0
Oignons verts	409	409	0	0
Légumes-feuilles fraîchement coupés	323	323	0	0
Baies	390	390	0	0
Total	1 959	1 959	0	0

Il convient de souligner que sur ces 1 959 échantillons, 10 étaient positifs à l'égard de NoV ou de RVH. Les bactéries *E. coli* de type générique forment un groupe de bactéries indicatrices de contamination fécale de sources animales ou humaines. Leur présence en quantités importantes dans un échantillon est une indication que les BPA ou les BPF n'ont pas été suivies en un point quelconque de la production ou de la distribution. Les virus entériques comme les NoV, le VHA et les RVH ne proviennent que de sources humaines, et leur présence dans les aliments est donc une indication qu'une contamination d'origine humaine est survenue après un contact avec des eaux usées résidentielles ou des travailleurs infectés. Ces virus sont plus résistants aux conditions environnementales que les bactéries et peuvent demeurer viables dans les aliments pendant de plus longues périodes; ils peuvent donc être présents même en l'absence d'indicateurs de contamination fécale^{6, 17}.

4 Discussion et conclusion

Dans les présentes études ciblées (2011-2012 et 2012-2013), le VHA n'a été trouvé dans aucun des échantillons, tandis que le RVH et le NoV ont été détectés dans un et 34 échantillons respectivement. Des mesures de suivi immédiates n'ont pu être prises, les types de produits examinés dans le cadre de la présente étude ayant une très courte durée de conservation et n'étant plus offerts sur le marché au moment où les résultats ont été confirmés. Aucune éclosion de maladies à NoV, à RVH ou à VHA associées à la consommation de ces produits au Canada 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.

Les dénombrements d'*E. coli* de type générique ont été jugés acceptables dans tous les échantillons analysés pour cette bactérie indicatrice en 2012-2013. *E. coli* de type générique est d'ordinaire utilisé en tant qu'indicateur de contamination fécale pour déterminer si les BPA et les BPF ont été suivies tout au long des chaînes de production et de distribution. Cependant, la détection de matériel génomique viral dans un échantillon est également une indication qu'une contamination fécale d'origine humaine est survenue avant le point de vente. En conséquence, les résultats positifs obtenus durant la présente étude laissent entendre que les BPA et les BPF n'ont pas été suivies ou mises en œuvre correctement pour certains des produits analysés.

Pendant 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 pour les virus présents dans les aliments, l'ACIA recueille des données probantes sur la prévalence de pathogènes viraux dans des 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 pathogènes viraux présents dans les fruits et les légumes frais.

Tandis 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 réglemente 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, Agence de la santé publique du Canada, de nous avoir fourni de l'information sur les éclosions (annexe B).

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, <http://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/guidocf.asp#refman5>
4. Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire. *Code d'usages en matière d'hygiène pour les fruits et légumes frais (Cac/Rcp 52-2003)* [en ligne]. 2011. Consulté en août 2013, http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10200/CXP_053f.pdf
5. Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire. *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
6. Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire. *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-standards/fr/?no_cache=1
7. Ministère de la Justice du 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 du 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
9. Ministère de la Justice du 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
10. Ministère de la Justice du 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. Greig J. (communication personnelle, 2012-2013)
12. WHO/FAO. *Microbiological Risk Assessment Series 13: Viruses in Food: Scientific Advice to Support Risk Management Activities* [en ligne, anglais seulement]. 2008. Consulté en juin 2013, www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra13/en
13. Painter J. A., Hoekstra R. M., Ayers T., Tauxe R. V., Braden C. R., Angulo F. J. et 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.
14. Thomas M. K., Murray R., Flockhart L., Pintar K., Pollari F., Fazil A., Nesbitt A. et 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.
 15. Food and Drug Administration. *Bad Bug Book*, 2012. Consulté en juin 2013, <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/>
 16. *Foodborne Infections and Intoxications*, 4th edition, Academic Press, 2013.
 17. *Viruses in Food and Water, Risks, Surveillance and Control*, Woodhead Publishing Limited, 2013.
 18. Forsythe, S.J. *The Microbiology of Safe Food*. 2nd Edition. Blackwell Publishing Ltd., 2011.
 19. Agence de la santé publique du Canada. *Prélèvement des échantillons, préparation et méthodes de laboratoire* [en ligne]. 2010. Consulté en décembre 2013, <http://www.phac-aspc.gc.ca/foodnetcanada/publications-fra.php>
 20. 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>
 21. Santé Canada. Normes et lignes directrices de la direction générale des produits de santé et des aliments (DGPSA) sur l'innocuité microbiologique des aliments - sommaire explicatif [en ligne]. 2008. Consulté en octobre 2012, <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume1-fra.php>
 22. Baert L., Mattison K., Loisy-Hamon F., Harlow J., Martyres A., Lebeau B., Stals A., Van Coillie E., Herman L. et 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

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

PASPAC : 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

VHA : Virus de l'hépatite A

RVH : Rotavirus humain

Annexe B : Exemples d'éclotions majeures (>100 cas) associés aux fruits et légumes contaminés par des pathogènes viraux (2004-2013)*

Année	Microorganisme	Véhicule	Pays	Nombre de cas	Description
2004	Norovirus	Melon	États-Unis	100	
2005	Norovirus	Framboises	Danemark	1000	Produits importés au Danemark de la Pologne au printemps 2005.
2007	Norovirus	Laitue	États-Unis	128	
2008	Norovirus, GII	Laitue	États-Unis	151	Sandwichs roulés à la laitue; une personne hospitalisée.
2009	Norovirus	Framboises	Finlande	121	Produits importés de la Pologne. Restaurant. Framboises congelées.
2009	Norovirus	Framboises	Suisse	130	École, maternelle.
2009	Norovirus	Salade	Allemagne	101	Base militaire – étude d'une cohorte rétrospective de 27 cas (taux d'attaque de 15, 2 %); 25 personnes avaient mangé à la cantine; 21 personnes avaient mangé de la salade.
2009	Norovirus, GII	Salade	États-Unis States	131	2 personnes hospitalisées.
2009	Norovirus	Salade	Allemagne	102	Salades offertes dans un buffet; cantine ou service de traiteur en milieu de travail.
2009	Norovirus	Framboise	Finlande	130	École, maternelle
2009	Virus de l'hépatite A (VHA)	Tomates	Australie	155	Éclotion semble être associée à des tomates semi-séchées.
2009	Norovirus, GII	Framboises	Finlande	128	Produits importés de la Pologne. Restaurant. GI.4; framboises congelées.
2009	Norovirus, GII	Framboises	Finlande	525	Produits importés de la Pologne. Plus de 500 cas, GII.b Hilversum/1999; framboises congelées (servies avec du fromage cottage comme goûter); maternelle.

Année	Microorganisme	Véhicule	Pays	Nombre de cas	Description
2009	Virus de l'hépatite A (VHA)	Tomates	Australie	200	Écllosion en Australie qui a affecté environ 200 personnes et qui semble être liée à des tomates semi-séchées.
2010	Norovirus	Laitues	Norvège	157	Laitue Lollo.
2010	Rotavirus	Fruit – bananes, pommes, agrumes	Russie	200	200 enfants hospitalisés après avoir mangé des fruits importés de la Chine.
2011	Norovirus, GI	Légumes non cuits	France	147	Cas parmi des militaires d'une unité de parachutisme de nuit et certains médecins. Le cuisinier du restaurant où ces personnes ont mangé avait obtenu un résultat positif à une épreuve par PCR – le même norovirus du génogroupe I avait été trouvé dans des carottes, des salades et des tomates servies au dîner.
2012	Norovirus	Fraises	Allemagne	11 200	32 personnes hospitalisées. Plus grande écllosion de maladies d'origine alimentaire en Allemagne. Des grossistes ont vendu des fraises congelées contaminées aux cuisines commerciales de trois entreprises qui fabriquaient des aliments de cafétéria destinés aux écoles et aux maternelles. Les fraises provenaient probablement de la Chine.
2013	Virus de l'hépatite A (VHA)	Graines de grenade	États-Unis	162	Le 4 juin 2013, Townsend Farms, Inc., Fairview, Oregon, a volontairement rappelé certains lots de son mélange de baies antioxydantes biologiques en raison d'une contamination possible par le virus de l'hépatite A.

* L'information présentée dans cette annexe a été préparée 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 : Méthodes d'analyse microbiologique

Analyse microbiologique	N° d'identification de la méthode	Titre de la méthode
Virus de l'hépatite A	CFIA-VAD-02 (méthode de l'ACIA)	Méthode de concentration et de purification de virus présents dans les aliments d'intérêt clinique au moyen de billes magnétiques recouvertes d'une couche cationique.
	CFIA-VAD-03 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-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.
	CFIA-VAD-04 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-07*)	Détection du VHA au moyen de la RT-PCR classique.
Norovirus (GI et GII)	CFIA-VAD-02 (méthode de l'ACIA)	Méthode de concentration et de purification de virus présents dans les aliments d'intérêt clinique au moyen de billes magnétiques recouvertes d'une couche cationique.
	CFIA-VAD-03 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-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.
	CFIA -VAD-06 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-10*)	Détection des norovirus du génogroupe I au moyen de la RT-PCR classique.
	CFIA -VAD-07 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-10*)	Détection des norovirus du génogroupe I au moyen de la RT-PCR en temps réel.
	CFIA -VAD-12 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-10*)	Détection des norovirus du génogroupe II au moyen de la RT-PCR classique.
	CFIA-VAD-11 (version modifiée à l'interne de la méthode OPLFP-10*)	Méthode de clonage, de séquençage et de caractérisation moléculaires des fragments génomiques viraux amplifiés par des méthodes moléculaires.

Rotavirus	CFIA-VAD-02 (méthode de l'ACIA)	Méthode de concentration et de purification de virus présents dans les aliments d'intérêt clinique au moyen de billes magnétiques recouvertes d'une couche cationique.
	CFIA-VAD-08 (selon la section sur la méthode OPFLP-04 RV-A RT-PCR)	Méthode de détection des rotavirus (RV-A) au moyen de la transcription inverse suivie de réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR).
	CFIA-VAD-11 (version modifiée à l'interne de la méthode OPFLP-10*)	Méthode de clonage, de séquençage et de caractérisation moléculaire des fragments génomiques viraux amplifiés par des méthodes moléculaires.
<i>E. coli</i> de type générique	MFHPB-27 (septembre 1997)	Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> dans les aliments par ensemencement direct.

**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 de 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 OPFLP-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 transcrite 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 OPFLP-10. En ce qui concerne les témoins d'amplification positifs de la RT-qPCR, les méthodes CFIA-VAD utilisent un segment d'ARN transcrite 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 transcrite 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 transcrite d'ARN de concentration connue.