



Canadian Food  
Inspection Agency

Agence canadienne  
d'inspection des aliments

# Microbiologie des aliments – Études ciblées

## RAPPORT FINAL

### Parasites dans les légumes-feuilles frais

Du 1<sup>er</sup> avril 2014 au 31 mars 2016



# Résumé

Les produits frais, notamment les petits fruits, les fines herbes et les légumes, ont déjà été identifiés comme une source de contamination parasitaire dans le passé. Certains parasites peuvent contaminer les produits frais au cours de la production, de la récolte, de la manutention, de la transformation, de l'emballage et de la distribution. Les parasites peuvent infecter les humains, principalement par le biais d'eau et d'aliments contaminés. En général, une infection se manifeste par des symptômes pseudo-grippaux qui vont de légers à graves (*Toxoplasma*) et par des symptômes gastro-intestinaux (*Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Giardia*). Dans nos études ciblées précédentes, nous avons fourni de l'information sur l'occurrence et la distribution de *Cyclospora cayetanensis* (*C. cayetanensis*) et de *Cryptosporidium spp.* dans les petits fruits, les fines herbes fraîches, les champignons et les oignons verts. Le présent rapport porte sur l'occurrence et la distribution de *C. cayetanensis*, de *Cryptosporidium spp.*, de *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) et de *Giardia spp.* dans les légumes-feuilles frais qui ont été minimalement traités (prélavés et préemballés).

Compte tenu des facteurs susmentionnés et de leur pertinence pour les Canadiens, nous avons ciblé les légumes-feuilles frais pour faire une étude. Dans cette étude (1<sup>er</sup> avril 2014 au 31 mars 2016), nous avons collecté 2233 échantillons de légumes-feuilles dans divers points de vente de 11 villes au Canada que nous avons analysés pour dépister les parasites préoccupants suivants : *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium spp.*, *T. gondii* et *Giardia spp.*). Nous avons détecté de l'ADN de *Cryptosporidium spp.* et de *T. gondii* dans 0,1 % (2/2233) et 0,1 % (3/2233) des échantillons de légumes-feuilles, respectivement. Nous avons détecté de l'ADN de *C. cayetanensis* et de *Giardia spp.* dans 0,3 % (6/2233) et 0,7 % (15/2233) des échantillons de légumes-feuilles frais, respectivement.

Étant donné la nature périssable des produits et le temps écoulé entre la collecte des échantillons et la réalisation complète des analyses, les produits en cause n'étaient plus offerts sur le marché au moment de la détection d'ADN parasitaire, et donc aucune action n'a pu être dirigée à l'égard de ces produits. De plus, les méthodes d'analyses utilisées ne permettaient pas de distinguer les parasites infectieux de ceux non infectieux, et il était donc difficile de déterminer si les produits représentaient un risque immédiat pour la santé. Aucune maladie déclarée n'a été associée à des échantillons aux résultats positifs durant les activités de dépistage que nous avons menées.

Dans l'ensemble, les résultats de notre enquête portent à croire que la plupart des légumes-feuilles frais n'étaient pas contaminés par les parasites dépistés. Or, comme nous savons que les légumes-feuilles frais peuvent être une source de parasites qui causent des maladies d'origine alimentaire, nous recommandons aux producteurs, aux détaillants et aux consommateurs d'adopter des pratiques de manutention sûres.

## En quoi consistent les études ciblées?

L'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) effectue des études ciblées pour concentrer ses activités de surveillance dans des domaines à risque plus élevé. Grâce aux données générées par ces études, l'Agence peut établir des priorités parmi ses activités afin de cibler les produits alimentaires les plus préoccupants. À l'origine, les études ciblées étaient menées dans le cadre du Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires (PAASPA), mais depuis 2013 elles sont intégrées aux activités de surveillance courantes de l'ACIA. Les études ciblées constituent un outil précieux pour obtenir de l'information sur certains dangers posés par les aliments, cerner ou caractériser des dangers nouveaux ou émergents, recueillir de l'information nécessaire à l'analyse de tendances, réaliser ou peaufiner des évaluations du risque pour la santé humaine, mettre en évidence d'éventuels problèmes de contamination et évaluer et promouvoir la conformité aux règlements canadiens.

La salubrité des aliments est une responsabilité partagée. L'Agence canadienne d'inspection des aliments collabore avec les paliers d'administration fédérale, provinciale, territoriale et municipale et exerce une surveillance pour veiller à la conformité des règlements qui visent l'industrie alimentaire afin de promouvoir une manipulation sûre des aliments à travers la filière alimentaire. N'oublions pas que l'industrie alimentaire et le secteur du détail du Canada sont responsables des aliments qu'ils produisent et qu'ils vendent et qu'il appartient aux consommateurs de manipuler d'une manière sûre les aliments en leur possession.

## Pourquoi avoir mené cette étude?

Les légumes-feuilles frais sont fréquemment consommés par des Canadiens de tous les groupes d'âge<sup>1</sup>. Malheureusement, ils sont associés à de nombreuses maladies d'origine alimentaire partout dans le monde<sup>2</sup> en raison d'une contamination parasitaire. Selon le classement de la gestion du risque de parasites d'origine alimentaire de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé (FAO/OMS), qui repose sur de nombreux critères, les produits frais seraient des vecteurs alimentaires primaires de *Cyclospora cayetanensis* (*C. cayetanensis*) et de *Cryptosporidium spp.* et des vecteurs secondaires de *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)<sup>2</sup>. Les produits frais peuvent avoir été en contact avec de l'eau contaminée au cours de la production primaire et de leur traitement après la récolte ou encore avec des engrais organiques mal compostés (fumier) au cours de la production primaire<sup>2</sup>.

Compte tenu des facteurs susmentionnés, nous avons ciblé les légumes-feuilles frais minimalement traités (prélavés, préemballés) pour faire une étude de deux ans en 2014 afin de générer des données de référence sur la présence de parasites dans les produits vendus au détail au Canada. Le présent rapport expose les résultats détaillés pour toute la durée de l'étude (du 1<sup>er</sup> avril 2014 au 31 mars 2016).

Parasites dans les légumes-feuilles frais  
SGDDI n° 9793147

## Quels produits ont été échantillonnés?

Dans la présente étude, l'unité d'échantillon comprenait une seule unité (p. ex., une ou des portions de consommation prélevées dans un même lot) d'un poids total d'au moins 200 g. Tous les échantillons ont été collectés dans des chaînes d'épicerie nationales et des épicerie locales et régionales dans 11 grandes villes au Canada. Ces villes représentaient quatre régions géographiques : l'Atlantique (Halifax et Saint John), le Québec (la ville de Québec et Montréal), l'Ontario (Toronto et Ottawa) et l'Ouest (Vancouver, Kelowna, Calgary, Saskatoon et Winnipeg). Le nombre d'échantillons prélevés par ville était proportionnel à la population relative des différentes régions. Les échantillons ont été collectés entre le 1<sup>er</sup> avril 2014 et le 31 mars 2016. Les échantillons de produits importés ont été prélevés à tout moment de l'année, mais le nombre d'échantillons collectés était réduit durant les mois d'été. Les échantillons de produits canadiens ont été prélevés durant tout l'été et au début de l'automne (juin à octobre). Nous avons collecté des légumes-feuilles préemballés minimalement traités qui provenaient de productions biologiques et de productions biologiques.

## Quelles méthodes d'analyse ont été utilisées et comment les échantillons ont-ils été évalués?

Nous avons analysé les échantillons en utilisant des méthodes internes mises au point par l'ACIA. Nous avons utilisé le séquençage de l'ADNr 18S par PCR quantitative, l'analyse de courbes de fusion et des méthodes de confirmation du séquençage pour détecter *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium spp.* et *T. gondii*<sup>3</sup>. Nous avons utilisé une méthode de PCR nichée pour détecter l'ADN de *Giardia spp.*<sup>4,5</sup>.

Au moment de la rédaction du présent rapport, il n'existait aucune ligne directrice sur l'évaluation des parasites dans les produits frais au Canada. De plus, les méthodes analytiques utilisées sont capables de détecter la présence d'ADN d'un parasite dans les échantillons, mais elles ne peuvent pas distinguer les parasites viables (potentiellement infectieux) des non viables (non infectieux). Nous avons donc considéré les cas de détection d'ADN parasitaire comme des évaluations qui nécessitaient une enquête, ce qui indique qu'une plus grande attention est requise afin de déterminer quelles activités de suivi seraient les plus appropriées (tableau 1).

**Tableau 1 Méthodes d'analyse et critères d'évaluation pour la détection d'ADN parasitaire dans les légumes-feuilles frais**

Analyse d'ADN de parasite	Méthode(s)	Critères d'évaluation	
		Évaluation satisfaisante	Évaluation nécessitant une enquête
<i>C. cayetanensis</i>	Épreuve PCR quantitative, analyse de courbes de fusion et séquençage	Présence non détectée	Présence détectée
<i>Cryptosporidium spp.</i>		Présence non détectée	Présence détectée
<i>T. gondii</i>		Présence non détectée	Présence détectée
<i>Giardia spp.</i>	PCR nichée	Présence non détectée	Présence détectée

## Résultats de l'étude

En tout, nous avons analysé 2233 échantillons de légumes-feuilles pour le dépistage de *C. cayetanensis*, de *Cryptosporidium spp.*, de *T. gondii* et de *Giardia spp.* (tableau 2). Dans la plupart (98,8 %) des échantillons analysés, nous n'avons pas détecté d'ADN parasitaire, mais nous en avons trouvé dans 1,2 % (26/2233) des échantillons.

**Tableau 2 Résultats d'analyse des échantillons de légumes-feuilles frais**

Nombre d'échantillons analysés	Évaluation satisfaisante	Évaluation nécessitant une enquête			
		<i>C. cayetanensis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Giardia spp.</i>
2233	2207 (98,8 %)	6	2	3	15
		26 (1,2 %)			

Soixante-dix-huit pour cent (78 %, 1733/2233) des échantillons analysés provenaient de productions non biologiques et 22 % (500/2233) de productions biologiques. Quarante-deux pour cent (42 %) des échantillons qui ont donné des résultats positifs à de l'ADN parasitaire provenaient de productions non biologiques et 58 %, de productions biologiques (tableau 3).

**Tableau 3 Ventilation des échantillons nécessitant une enquête selon le type de production**

Type de production	Nombre d'échantillons (% des échantillons analysés)	Échantillons nécessitant une enquête				Nombre d'échantillons nécessitant une enquête (% d'échantillons qui ont donné des résultats positifs)
		<i>C. cayetanensis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Giardia spp.</i>	
Non biologique	1733 (78 %)	1	1	1	8	11 (42 %)
Biologique	500 (22 %)	5	1	2	7	15 (58 %)
Total	2233 (100 %)	6	2	3	15	26 (100 %)

Des 2233 échantillons analysés, 75 % (1671/2233) étaient des produits importés et 25 % (562/2233) étaient des produits canadiens. Quatre-vingt-douze pour cent (92 %, 24/26) des échantillons qui ont donné des résultats positifs à de l'ADN parasitaire étaient des produits importés, et 8 % (2/26), des produits canadiens (tableau 4).

**Tableau 4 Ventilation des échantillons nécessitant une enquête selon l'origine du produit**

Origine du produit	Nombre d'échantillons (% des échantillons analysés)	Échantillons nécessitant une enquête				Nombre d'échantillons nécessitant une enquête (% des échantillons positifs)
		<i>C. cayetanensis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Giardia spp.</i>	
Canada	562 (25 %)	0	0	0	2	2 (8 %)
Importé	1671 (75 %)	6	2	3	13	24 (92 %)
Total	2233 (100 %)	6	2	3	15	26 (100 %)

Il y a eu des échantillons avec des résultats positifs à l'ADN de *C. cayetanensis* et de *T. gondii* dans les collectes d'automne, des échantillons avec des résultats positifs à l'ADN de *Cryptosporidium spp.* dans les collectes de printemps et des échantillons avec des résultats positifs à l'ADN de *Giardia spp.* dans les collectes d'hiver, de printemps et d'été (tableau 5).

**Tableau 5 Ventilation des échantillons importés et canadiens selon la saison d'échantillonnage**

Saison d'échantillonnage	Nombre d'échantillons analysés	<i>C. cayetanensis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Giardia spp.</i>	Nombre d'échantillons nécessitant une enquête (% des échantillons analysés)
Printemps (de mars à mai)	496	0	2	0	1	3 (0,6 %)
Été (de juin à août)	562	0	0	0	3	3 (0,5 %)
Automne (de septembre à novembre)	635	6	0	3	0	9 (1,4 %)
Hiver (de décembre à février)	540	0	0	0	11	11 (2,0 %)
Total	2233	6	2	3	15	26 (1,2 %)

Nous avons collecté et analysé plus de 12 types de légumes-feuilles (tableau 6). Nous avons détecté de l'ADN de *Giardia spp.*, de *C. cayetanensis*, de *Cryptosporidium spp.* et de *T. gondii* dans divers légumes-feuilles.

**Tableau 6 Ventilation des échantillons selon le type de produit**

Type de produit	Nombre d'échantillons (% du total des échantillons analysés)	Nombre total d'échantillons nécessitant une enquête				Nombre total d'échantillons nécessitant une enquête par type de produit
		<i>C. cayetanensis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Giardia spp.</i>	
Roquette	262 (11,7 %)	4	1	0	5	10
Épinards	946 (42,4 %)	1	1	3	6	11
Mélange de feuilles	502 (22,5 %)	1	0	0	0	1
Laitue	364 (16,3 %)	0	0	0	2	2
Chou frisé	82 (3,7 %)	0	0	0	1	1
Bette à carder	39 (1,8 %)	0	0	0	1	1
Chou cavalier (collard)	14 (0,6 %)	0	0	0	0	0
Pissenlit	16 (0,7 %)	0	0	0	0	0
Autres*	8 (0,3 %)	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>2233 (100 %)</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>26</b>

\*Mâche, rapini, feuilles de brocoli, escarole ( $\leq 3$  échantillons par type)

## Que signifient les résultats de l'étude?

Dans la présente étude, environ 99 % (2207/2233) des échantillons de légumes-feuilles frais minimalement traités (prélevés et préemballés) analysés étaient exempts des parasites recherchés. En tout, 26 échantillons (1,2 %) ont donné des résultats positifs à de l'ADN parasitaire. Nous avons détecté la présence d'ADN des divers parasites dans les proportions suivantes: *Cryptosporidium spp.* dans 0,1 % (2/2233), *T. gondii* dans 0,1 % (3/2233), *C. cayetanensis* dans 0,3 % (6/2233) et *Giardia spp.* dans 0,7 % (15/2233) des échantillons de légumes-feuilles.

La présence de parasites dans les légumes-feuilles a déjà été rapportée à divers taux dans des études antérieures par divers auteurs. Notre étude a donné des taux de résultats positifs inférieurs à ceux d'une étude menée en Arabie saoudite en 2007-2008<sup>6</sup> et à ceux d'une autre

Parasites dans les légumes-feuilles frais  
SGDDI n° 9793147

étude menée au Canada en 2009-2010<sup>7</sup>. L'étude saoudienne<sup>6</sup> a trouvé la présence de *Toxoplasma gondii* et de *Giardia lamblia* dans 1,1 % et de 5,1 % des échantillons respectivement, sur un total de 470 échantillons de légumes-feuilles vendus au détail. L'étude canadienne<sup>7</sup> a trouvé la présence de *Cyclospora spp.*, de *Cryptosporidium spp.* et de *Giardia duodenalis* à des taux respectifs de 1,7 %, de 5,9 % et de 1,8 % sur un total de 544 échantillons de légumes-feuilles frais coupés prêts-à-manger (PAM). Les écarts de taux de résultats positifs entre les études peuvent s'expliquer par les différences au chapitre du type de produit (prélavé ou non), de la méthode de détection utilisée (par ADN ou par microscopie) et des pratiques agricoles<sup>7</sup>. Le tableau 7 présente une comparaison des taux de prévalence des parasites entre les diverses études.

**Tableau 7 Comparaison de la prévalence d'ADN parasitaires de diverses études**

<i>C. cayentanensis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Giardia spp.</i>	Nombre total d'échantillons	Références
0,3 %	0,1 %	0,1 %	0,7 %	2233	Étude actuelle
1,7 %	5,9 % (5,3 % <i>C.parvum</i> )	Sans objet (S.O.)	1,8 % ( <i>Giardia duodenalis</i> )	544	Étude canadienne (2009-2010)
S. O.	S. O.	1,1 %	5,1 % ( <i>Giardia lamblia</i> )	470	Étude saoudienne (2007-2008)

Dans notre enquête, les échantillons de produits canadiens contenaient seulement de l'ADN de *Giardia spp.*, alors que les échantillons de produits importés contenaient de l'ADN des quatre parasites dépistés (tableau 4). En outre, nous avons trouvé plus fréquemment de l'ADN parasitaire dans les échantillons de produits importés biologiques que dans les produits importés non biologiques. Ces observations peuvent être dues au fait que *C. cayentanensis* n'est pas endémique au Canada et par des différences de climats régionaux et de pratiques utilisées avant et après la récolte.

Nous avons obtenu des résultats positifs dans des échantillons qui avaient été collectés au cours des quatre saisons (tableau 5). La saisonnalité semble spécifique au parasite.

L'étude canadienne<sup>7</sup> a révélé une saisonnalité distincte, où 88% des résultats positifs provenaient d'échantillons collectés en été et au début de l'automne. Dans l'étude saoudienne<sup>6</sup>, les résultats positifs provenaient d'échantillons collectés au cours des quatre saisons, mais les taux de résultats positifs étaient significativement plus élevés au printemps, puis en été. Les différences saisonnières peuvent être expliquées par des différences au chapitre des climats régionaux et des pratiques utilisées avant et après la récolte.

En raison de la nature périssable des produits et du temps écoulé entre la collecte des échantillons et la réalisation des analyses, les produits aux résultats positifs n'étaient plus offerts sur le marché au moment de la détection de l'ADN parasitaire et aucune activité de suivi n'a donc pu être dirigée à l'égard de ces produits. De plus, comme les méthodes d'analyses utilisées ne permettaient pas de distinguer les parasites infectieux des parasites non infectieux, il est difficile de déterminer si ces produits représentaient un risque immédiat pour la santé. Aucune maladie déclarée n'a été reliée aux échantillons qui ont donné des résultats positifs lors du dépistage de parasites.

Dans l'ensemble, nos résultats donnent à penser que la plupart des légumes-feuilles frais n'étaient pas contaminés par les parasites étudiés. Néanmoins, les légumes-feuilles frais étant une source potentielle connue de parasites qui causent des maladies d'origine alimentaire, nous recommandons aux producteurs, aux détaillants et aux consommateurs d'adopter des pratiques de manutention sûres.

# Références

1. ASPC, rapport *Foodbook*, éditeur ASPC. 2015.
2. FAO/WHO. *Multicriteria-Based Ranking for Risk Management of Food-Borne Parasites. Microbiological Risk Assessment Series (MRA) 23*. 2014 [cited 2016; Available from: <http://www.fao.org/publications/card/en/c/ee07c6ae-b86c-4d5f-915c-94c93ded7d9e/>].
3. Lalonde, L.F. and A.A. Gajadhar, *Optimization and validation of methods for the isolation and real-time PCR identification of protozoan oocysts on leafy green vegetables and berry fruits* Food and Waterborne Parasitology, 2016. **2**(March 2016): p. 1-7.
4. Appelbee, A.J., et al., *Prevalence and genotyping of Giardia duodenalis from beef calves in Alberta, Canada*. . Veterinary Parasitology, 2003. **112**: p. 289-294.
5. Hopkins, R.M., et al., *Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of Giardia isolates recovered from humans and dogs living in the same locality*. Journal of Parasitology, 1997. **83**(1): p. 44-51.
6. Al-Megrin, W.A.I., *Prevalence of Intestinal Parasites in Leafy Vegetables in Riyadh, Saudi Arabia*. International Journal of Zoological Research 2010.
7. Dixon, B., et al., *Detection of Cyclospora, Cryptosporidium, and Giardia in Ready-to-Eat Packaged Leafy Greens in Ontario, Canada*. Journal of Food Protection, 2012. **76**(2): p. 307-313.