

Projet Nutri-Net : Initiative canadienne sur la qualité des produits

Rapport final

AMÉLIORER LA QUALITÉ DES PRODUITS GRÂCE À DES MÉTHODES ANALYTIQUES VALIDÉES ET AMÉLIORER LES TESTS D'APTITUDE AU CANADA

1.0 Résumé du projet

Le présent projet vise à aider l'industrie et les organismes de réglementation à résoudre les problèmes cruciaux dans le secteur : une évaluation des demandes de tests de contamination microbienne, l'absence de méthodes analytiques validées, les inquiétudes relatives à la variabilité des résultats des analyses et la nécessité d'améliorer les perceptions de la qualité des produits de santé naturels (PSN) de même que les aptitudes de l'industrie. Trois sous-projets composaient ce projet.

A. Élaboration de recommandations relatives aux critères de contamination microbienne

En raison du risque pour la santé que pose la contamination des produits naturels, il est impératif d'établir des limites pour cette contamination. À l'heure actuelle, les critères réglementaires sur les produits de santé finis ou composés comportent des exigences relatives à la pureté. Ces critères indiquent la conformité aux bonnes pratiques agricoles (BPA) et aux bonnes pratiques de fabrication (BPF), l'adaptation du produit à son usage prévu ou sa stabilité (durée de conservation) et, en cas d'importation d'un produit au Canada, le fait que les paramètres de production du produit ne soient pas précisés. Pour atténuer les risques de contamination microbienne des PSN, la surveillance de la chaîne d'approvisionnement conformément aux BPA et aux BPF constitue une priorité absolue.

Afin de faire le point sur l'état d'avancement de la science, une analyse de la littérature spécialisée a été réalisée et diffusée dans l'industrie. La conception du plan d'échantillonnage microbiologique s'est inspirée des résultats de cette analyse afin de déboucher sur une stratégie concernant les tests. La collecte des données de référence a permis d'inclure de nouvelles données provenant des analyses et des échantillons canadiens, de même que des données fournies par l'American Herbal Products Association afin de réaliser trois évaluations pour les produits d'herboristerie : le ginseng, le gingembre et la réglisse. En fonction des pratiques courantes de l'industrie, on a retenu cinq tests microbiens aux fins de couvrir les limites fixées pour la contamination microbienne, de même que la durée de conservation et la contamination des réservoirs locaux.

La conformité aux critères microbiologiques fixés par la Direction des produits de santé naturels a soulevé plusieurs problèmes. Le premier de ces problèmes concerne l'absence d'unités d'échantillonnage spécifiques permettant d'obtenir une fiabilité statistique suffisante afin de mettre en place une évaluation acceptable pour un lot de PSN. Selon le plan d'échantillonnage et le degré de sensibilité associé, des niveaux tels que zéro ou « absence » signifient qu'un produit « approuvé » présente encore un risque. Au cours de ce projet, l'élaboration du plan d'échantillonnage s'est conformée aux recommandations de l'International Commission on Microbiological Specifications for Food, une approche à conseiller, en particulier au cas où la chaîne d'approvisionnement d'un PSN est mal connue ou mal comprise. Le deuxième problème constitue, de toute évidence, une difficulté majeure. Il concerne en effet les limitations techniques que présente l'interprétation des données relatives au dénombrement des bactéries aérobies et des levures et moisissures, ce qui fait obstacle à l'établissement de limites microbiennes adéquates pour les PSN. Un tel problème découle des propriétés bactériostatiques ou antimicrobiennes dont sont dotés de nombreux produits d'herboristerie contrecarrant, par conséquent, les analyses de prolifération microbienne.

Pour surmonter cette difficulté, plusieurs suggestions ont été formulées. À court terme, c'est-à-dire immédiatement, il faut mettre davantage l'accent sur la surveillance de la chaîne d'approvisionnement et l'utilisation de programmes d'échantillonnage adéquats. Il est nécessaire, pour établir une information de référence, de collecter les données sur la contamination microbienne de toute une gamme de produits d'herboristerie. À plus long terme, on doit prévoir des études approfondies pour valider les méthodes d'analyse microbienne actuelles relatives aux PSN en utilisant une méthode secondaire de tests d'ADN microbien, une analyse de la mycotoxine pour vérifier s'il s'agit d'un problème pour les PSN communs et à plus long terme, pour caractériser les dangers.

B. Lancement d'un programme national d'évaluation de l'aptitude des laboratoires

La validation de méthodes appropriées pour se conformer aux normes internationales et une évaluation juste et équitable de l'aptitude des laboratoires ont été entreprises. La validation des méthodes concernant trois produits de santé naturels majeurs pour les fabricants canadiens a été amorcée : le ginseng américain (*Panax quinquefolius*), l'hydraste du Canada (*Hydrastis canadensis*) et l'échinacée spp (*Echinacea angustifolia*, *E. pallida*, *E. purpurea*). Pour ce faire, les méthodes existantes ont été recensées et évaluées. La méthode la plus fiable et la plus rentable a ensuite fait l'objet d'une étude de validation monolaboratoire, d'un essai de robustesse Youden, et chacun d'entre eux faisant l'objet d'une étude en collaboration pour déboucher sur une validation multilaboratoires. Selon l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC), une validation multilaboratoires est nécessaire pour atteindre le plus haut degré de fiabilité dans les performances afin d'obtenir des résultats reproductibles, crédibles et défendables. Seules les méthodes recommandées de l'AOAC® font autorité dans le monde, en raison de leurs tests de caractérisation rigoureux et approfondis et elles sont citées dans le *US Code of Federal Regulations*. Selon l'AOAC International, le processus d'étude en collaboration prend au moins douze mois et exige la participation de huit à dix laboratoires indépendants. À l'issue d'une telle étude, les résultats sont publiés dans le *Journal of AOAC INTERNATIONAL* et suivent alors un processus pour devenir des méthodes d'analyse recommandées (*Official Methods of Analysis*).

Pour le programme d'assurance qualité du ginseng, l'analyse des études de validation préliminaires et des données de l'essai de robustesse Youden ont permis d'établir que la chromatographie liquide à haute performance, sélectionnée par l'AOAC International, n'était pas suffisamment fiable pour passer une étude de validation monolaboratoire, et encore moins une étude en collaboration. En conséquence, il a fallu procéder à une série supplémentaire et exhaustive d'expériences pour optimiser cette méthode. Des essais complets de validation monolaboratoire et un essai de robustesse Youden ont été réalisés sur la méthode optimisée. Ils ont démontré que la méthode validée correspondait aux buts recherchés et que de légers écarts dans les conditions n'influaient pas significativement sur les résultats d'analyse. L'essai de validation monolaboratoire et l'essai de robustesse Youden ont été complétés en janvier 2008 et une ébauche de manuscrit a été soumise au *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. Il s'agit là du niveau maximum de certitude pouvant être atteint dans un unique laboratoire, première étape sur la voie d'une méthode d'analyse recommandée.

En même temps que la validation monolaboratoire, l'Institut de technologie de Colombie-Britannique (ITCB) a préparé un modèle de protocole pour l'étude en collaboration sur le ginseng, car il s'agit d'une exigence pour l'acceptation de tout protocole selon l'examen par les pairs de l'AOAC *avant* d'entreprendre une telle étude, une exigence du processus pour devenir une méthode d'analyse recommandée. En février 2008, ce protocole a été approuvé dans son intégralité et un total de treize laboratoires sur les quatorze pressentis ont participé à l'étude. Au cours de ce projet, la méthode juste et équitable, mise au point pour l'évaluation de l'aptitude des laboratoires comprend la fourniture d'échantillons de pratique de même que le soutien pour régler des problèmes mineurs concernant le protocole jusqu'à obtenir des résultats jugés acceptables. Ces étapes ont occasionné un retard par rapport à l'échéancier prévu, en revanche, le niveau de participation s'est avéré très élevé, puisque douze laboratoires ont poursuivi ce projet. Comme la plupart des laboratoires participants fournissent des services contractuels d'analyse aux secteurs de l'environnement, de la pharmaceutique et de la sécurité alimentaire, ils étaient tous engagés sur d'autres projets, leur participation s'avère donc méritoire. À ce jour, onze des douze laboratoires ont présenté leurs résultats sur les échantillons et l'analyse statistique entre actuellement dans la phase finale. La majorité des données fournies par les laboratoires participants ont été compilées et analysées statistiquement pour éviter les observations aberrantes. Une fois l'analyse en collaboration terminée, un rapport officiel sera soumis pour examen au comité sur les méthodes pour les compléments alimentaires de l'AOAC International, en tant que première action recommandée (*Official First Action*). La date d'achèvement prévue pour finaliser cette étude en collaboration a été fixée à juin 2008.

Pour le programme d'assurance qualité de l'hydraste du Canada, il n'existe pas de méthode validée incluant des mesures pour garantir l'absence d'adultérant commun et l'étude de validation

monolaboratoire a donné lieu à un manuscrit publié en janvier 2008 dans *Pharmaceutical Biology*. À partir de ces travaux, on a utilisé un protocole existant, avec des modifications, afin de maximiser l'utilisation de données provenant des laboratoires participants. Une révision exhaustive et une évaluation statistique des données de laboratoire ont abouti à l'élaboration d'un manuscrit sur l'étude en collaboration. De concert avec un expert en la matière de l'AOAC International et un conseiller en statistique, ces résultats ont été approuvés en tant que première action recommandée et on leur a attribué un numéro de méthodes recommandéesSM, **2008.04**. Une notice sur la méthode adoptée a été publiée dans le magazine de l'AOAC, *Inside Laboratory Management* d'avril 2008, et sera publiée dans la rubrique « À titre documentaire » de l'*AOAC Journal*. Cette méthode sera publiée dans le cadre de l'étude en collaboration et figurera parmi les *méthodes d'analyse recommandées* en ligne et dans la prochaine édition imprimée.

Au cours de cette étude, la méthode de préparation n'a pas été considérée comme idéale pour l'hydraste du Canada à l'état brut. L'essai de validation monolaboratoire et les résultats de l'essai de robustesse Youden ne démontrent aucune variation significative due aux paramètres d'extraction, mais, en passant à un essai multilaboratoires, cette variation est devenue significative. En dépit de son acceptation en tant que première action recommandée par l'AOAC International, il s'agissait d'une note de passage limite pour les substances à l'état brut. Dans l'attente des délibérations de l'AOAC sur les données de l'étude en collaboration, l'Institut de technologie de la Colombie-Britannique (ITCB) a lancé une étude d'optimisation et un essai de validation monolaboratoire de la matrice pour y remédier.

Pour le programme d'assurance qualité de l'échinacée, le comité de révision composé d'experts de l'AOAC International a retenu une méthode de chromatographie liquide à haute performance pour garantir la présence d'extraits actifs et leur concentration par une quantification des marqueurs des composés phénoliques en tant que méthode prometteuse pour poursuivre les recherches. L'obtention des échantillons et des substances de référence s'est faite non sans quelques difficultés. Ces échantillons doivent correspondre aux produits habituellement sur le marché, sous forme de lots identiques et en quantité suffisante pour que chaque échantillon prélevé permette un essai de validation monolaboratoire et une étude en collaboration comprenant un maximum de 15 laboratoires. Par ailleurs, on a entrepris la vérification des substances de référence afin de déterminer leur pureté.

Cette opération a permis de détecter des lacunes dans la méthode originale. En effet, la méthode originale n'utilisait qu'une seule norme à partir de laquelle les composés phénoliques totaux étaient quantifiés grâce aux facteurs de réponse. Cependant, ces analyses n'ont révélé aucun résultat précis, ni exact. Il a donc fallu quantifier chaque composé phénolique selon ses propres normes afin de garantir l'exactitude des résultats. Par conséquent, pour fournir une gamme complète de substance de référence aux participants de l'étude en collaboration, il a fallu élaborer des normes supplémentaires. Le manque d'exactitude et de précision de cette méthode se doit probablement à un processus d'extraction laissant à désirer et à une chromatographie peu rigoureuse. Pour corriger ce problème, on a procédé à une étude d'optimisation sur l'extraction et la chromatographie, ce qui a permis d'apporter d'importantes améliorations à la méthode.

L'essai de robustesse de Youden, réalisé sur la méthode révisée, a démontré la fiabilité de cette dernière et son adéquation aux études de validation. Une évaluation monolaboratoire de la méthode optimisée a donc été effectuée pour l'analyse des substances à l'état brut (racines et parties aériennes) et des extraits, selon les lignes directrices de l'AOAC International. Les données de la validation monolaboratoire ont démontré qu'il s'agissait d'une méthode adéquate pour les fins prévues. Les résultats de l'étude d'optimisation, de la validation monolaboratoire et de l'essai de robustesse Youden ont été rassemblés sous forme de manuscrit et soumis à la revue *Analytical & Bioanalytical Chemistry*. Une fois terminée la validation monolaboratoire, l'ITCB s'est proposé de réaliser une étude en collaboration et a donc recruté les participants potentiels. Néanmoins, les laboratoires en sont arrivés à un consensus unanime, selon lequel une seule étude en collaboration devrait être réalisée à la fois, en raison de l'importance des efforts et de la contribution requise de la part des participants.

En phase de recrutement des laboratoires, un problème potentiel relatif aux analyses a été soulevé, celui de la stabilité de l'un des composés phénoliques dans les extraits. Des études plus approfondies ont indiqué la nécessité d'examiner l'importance de la dégradation et les méthodes possibles pour l'éviter, le cas échéant. Ces études sont en cours et leurs résultats viendront s'intégrer dans le protocole de validation monolaboratoire relatif à la formulation des produits, en incluant une série d'autres substances à l'état brut. Le protocole de la validation monolaboratoire a été soumis à l'AOAC International. Selon les conclusions des expériences sur la dégradation, il se peut que des modifications à la méthode s'avèrent nécessaires et, par conséquent, il faudra apporter des retouches mineures au protocole de cette validation monolaboratoire. Tant que cette méthode ne sera pas définitive et que les laboratoires participants n'auront pas été recrutés et confirmés, on ne préparera pas les échantillons pour les tests ni les normes d'essai et on ne les distribuera pas. Toutes les substances ayant été obtenues, elles pourront être préparées et distribuées dès la fin des expériences de dégradation et de la validation monolaboratoire. Une fois le protocole ratifié avec les détails de la méthode à employer pour les substances à l'état brut touchées par la dégradation enzymatique de l'acide cichorique, une étude en collaboration sur l'échinacée sera programmée.

La conception de l'étude préliminaire pour les trois évaluations des aptitudes des laboratoires pour le ginseng, l'hydraste du Canada et l'échinacée, de même que les substances, sont prêtes. Grâce au soutien de NutriNet Canada(NCC) permettant l'embauche d'un coordonnateur pour cette évaluation de l'aptitude des laboratoires, ces études pourront être entreprises et achevées en 2008-2009.

C. Élaboration d'un plan d'affaires concernant le programme de qualité des produits

Ce volet du projet comporte une analyse du marché pour évaluer l'intérêt de l'industrie en ce qui a trait à la qualité des produits, une évaluation des programmes antérieurs et existants sur la qualité des produits, la préparation d'un modèle d'affaires préliminaire pour un tel programme, un atelier sur la qualité des produits destinés aux intervenants pour y présenter les informations recueillies et prévoir les prochaines étapes de l'analyse de rentabilisation. L'ébauche de ce plan d'affaires est prête.