

commission du codex alimentarius



ORGANIZATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANIZATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 4 de l'ordre du jour

CX/NFSDU 00/4
Mars 2000

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITÉ DU CODEX SUR LA NUTRITION ET LES ALIMENTS DIÉTÉTIQUES OU DE REGIME

Vingt-deuxième session
Berlin, Allemagne, 19-23 juin 2000

PROJET DE NORME REVISEE POUR LES ALIMENTS EXEMPTS DE GLUTEN ¹

1. CHAMP D'APPLICATION

- 1.1. La présente norme s'applique aux aliments et ingrédients qui ont été spécialement traités ou conçus pour répondre aux besoins diététiques des personnes sensibles au gluten.
- 1.2. La présente norme concerne uniquement l'usage diététique particulier auquel les aliments et ingrédients sont destinés.

2. DESCRIPTION

2.1 DÉFINITIONS

Les aliments "exempts de gluten" sont des produits décrits comme suit:

- a) composés ou fabriqués uniquement à partir d'ingrédients qui ne contiennent pas de prolamines provenant de toutes les espèces de Triticum, telles que l'épeautre (*Triticum spelta* L.), le kamut (*Triticum polonicum*) ou le blé dur, le seigle, l'orge, [l'avoine] ou de leurs variétés croisées dont la teneur en gluten ne dépasse pas [20 ppm] ou
- b) composés d'amidons de blé, seigle, orge, avoine, épeautre, kamut ou de leurs variétés croisées rendus "exempts de gluten" et dont la teneur en gluten ne dépasse pas [200 ppm]; ou
- c) tout mélange des deux ingrédients énoncés en a) et en b) dont la teneur en gluten ne dépasse pas [200 ppm].

¹ Publié précédemment sous la cote CX/NFSDU 98/4.

2.2 DÉFINITIONS SUBSIDIAIRES

2.2.1 *Gluten*

Aux fins de la présente norme, on entend par "gluten" une fraction protéique du blé, du seigle, de l'orge, [de l'avoine], ou de leurs variétés croisées et de leurs dérivés, à laquelle certaines personnes sont sensibles et qui est insoluble dans l'eau et dans le NaCl à 0,5 M.

2.2.2 *Prolamines*

On entend par prolamines la fraction du gluten qui peut être extraite à l'aide d'éthanol à 40-70 %. La prolamine du blé est la gliadine, celle du seigle la sécaline, celle de l'orge l'hordéine et celle de l'avoine l'avénine.

Toutefois, on parle habituellement de sensibilité au gluten. La teneur en prolamine du gluten est généralement de 50 %.

3. FACTEURS ESSENTIELS DE COMPOSITION ET DE QUALITE

3.1 EXEMPT DE GLUTEN

Aux fins de la présente norme, "exempt de gluten" signifie que le contenu total en gluten dans les produits définis au 2.1a) ne doit pas dépasser [20 ppm], que le contenu total en gluten provenant du blé, seigle, orge, [de l'avoine] ou de variétés croisées, utilisé dans des produits ne dépasse pas [200 ppm] dans la matière sèche de ces aliments et ingrédients. La teneur en prolamine des produits alimentaires liquides s'exprime de la même manière, en ppm du produit d'origine.

3.2 Les aliments "exempts de gluten" qui sont appelés à remplacer d'importantes denrées de base, doivent fournir approximativement la même quantité de vitamines et de sels minéraux que les aliments qu'ils remplacent.

3.3 Le produit doit être préparé avec un soin particulier, dans le respect des bonnes pratiques de fabrication (BPF) pour éviter toute contamination par les prolamines.

4. ETIQUETAGE

L'expression "exempt de gluten" doit figurer à proximité immédiate du nom du produit.

5. ALLEGATIONS

5.1 Un aliment ou un ingrédient qui satisfait aux spécifications de la section 3.1 peut être étiqueté "exempt de gluten".

6. SCHEMA GENERAL DE LA METHODE D'ANALYSE ET D'ECHANTILLONNAGE

6.1 INTRODUCTION

Afin de respecter les limites fixées pour les produits exempts de gluten dans les paragraphes précédents, une méthode analytique ayant un degré élevé de précision est nécessaire,. Jusqu'ici, il n'a pas été possible de concevoir dans le détail une telle méthode car plusieurs facteurs empêchent son application:

- l'importance de la disparité en ce qui concerne la composition entre les protéines contaminantes ou résiduelles et une norme sur le gluten;
- l'existence d'une norme sur le gluten;
- la sélectivité de l'antisérum;
- l'effet du réchauffement du produit sur l'extractibilité et l'intégrité des épitopes.

Etant donné que la limite proposée est proche du niveau qui pourrait être toxique pour les personnes atteintes de maladies coeliaques, des recherches plus détaillées doivent être effectuées pour aborder

ces questions. Le schéma général de la méthode d'analyse et d'échantillonnage présenté ci-après servira de cadre pour de telles recherches.

Lorsqu'une norme est généralement acceptée comme point de référence, le schéma général peut servir de base pour la détermination de la gliadine jusqu'à ce que tous les réactifs et le matériel nécessaire pour la détermination aient été normalisés et évalués..

6.2 DOSAGE DU GLUTEN DANS LES ALIMENTS ET LES INGRÉDIENTS

Le dosage du gluten dans les aliments et les ingrédients doit reposer sur une méthode immunologique. L'anticorps à utiliser doit réagir en présence des céréales qui sont toxiques pour les personnes sensibles au gluten et ne doit pas donner lieu à une réaction croisée avec les autres céréales et autres éléments constitutifs des denrées et ingrédients.

6.3 EXTRACTION DES PROLAMINES

6.3.1 *Traitement préalable des aliments et ingrédients solides*

Selon la teneur en matières grasses du produit, on a recours à un des deux traitements préalables ci-après:

- a) Produits ayant une teneur en matières grasses de plus de 10 pour cent: cinq grammes du produit sont homogénéisés à l'aide d'un mélangeur dans 50 ml d'hexane. La suspension est centrifugée pendant 30 minutes à 1 500 xg; le surnageant est enlevé et l'opération d'extraction est répétée jusqu'à ce que l'échantillonnage soit exempt de matière grasse. Le culot est séché à 60°C, pesé, moulu, et une portion est utilisée pour l'analyse.
- b) Dans les produits ayant une teneur en matières grasses de moins de 10 pour cent, l'extraction n'est généralement pas nécessaire. Cinq grammes du produit sont séchés à 60°C, moulus et une portion est utilisée pour l'analyse.

6.3.2 *Extraction*

a) Aliments et ingrédients solides

Une fraction aliquote de l'échantillon séché est homogénéisée à l'aide d'éthanol aqueux à 60 % dans un volume dix fois supérieur à son poids; homogénéisée pendant deux minutes et après 15 minutes, centrifugée pendant 10 minutes à 1 500 xg. Le surnageant est enlevé et stocké au besoin à 4°C avant le dosage. Lorsqu'un précipité se forme, il est éliminé par centrifugation.

b) Aliments et ingrédients liquides

Une fraction aliquote du produit liquide est diluée à l'aide d'éthanol; le volume d'éthanol ajouté étant calculé pour donner de l'éthanol à 60 % dans le mélange qui en résulte. Le mélange est homogénéisé et traité ensuite comme les extraits d'aliments solides.

6.4 DOSAGE DE LA GLIADINE

6.4.1 *Préparation des plaques*

Des plaques de microtitrage sont enduites pendant la nuit à l'aide d'un anticorps contre la gliadine dans une solution appropriée (par exemple 1 pour 600) dans un tampon de carbonate de sodium. La plaque est lavée à trois reprises avec un tampon phosphate salin à l'aide de Tween (PBS-T) à 0,5 pour cent et une fois encore avec de l'eau déminéralisée contenant de l'acide de sodium à 0,03 pour cent. Les plaques peuvent être stockées à 4°C dans un sac en plastique fermé hermétiquement.

6.4.2 *Etalon*

Il est nécessaire d'utiliser un étalon de gliadine afin de réduire au minimum les variations entre les tests. En outre, un "étalon-or" doit être utilisé pour effectuer des comparaisons entre les résultats obtenus par divers laboratoires à l'aide de différentes techniques ELISA et différents antisérums

possibles. Cet "étalon-or" doit être préparé par un seul laboratoire dans des conditions strictement normalisées.

6.4.3 Dosage

Après la dilution appropriée de l'extrait, les échantillons et les dilutions étalons nécessaires afin d'obtenir une courbe étalon sont déposés dans les plages de la plaque. Après un délai d'incubation de deux heures, les plaques sont lavées à trois reprises au PBS-T froid. On ajoute dans les plages l'anticorps mono- ou polyclonal contre la gliadine conjugué à un enzyme et, après un délai d'incubation de deux heures, les plaques sont vidées et lavées à trois reprises au PBS-T. On ajoute ensuite un substrat pour l'enzyme. Après un délai approprié, la réaction est stoppée. L'absorption est mesurée directement sur les plaques de microtitrage.

6.4.4 La gliadine est dosée à partir de la courbe étalon obtenue. Le résultat est multiplié par deux pour obtenir la teneur en gluten, et est exprimé en ppm du produit initial.

7. OBSERVATIONS

- 7.1 La méthode permet de doser la prolamine dans un produit. Il importe toutefois de souligner que la dose journalière totale de prolamine pour les patients souffrant de maladies coeliaques ne doit pas dépasser 10 mg par jour.
- 7.2 La méthode est sensible pour les prolamines natives. La sensibilité en ce qui concerne les produits chauffés est - selon la température et le temps de réchauffement - plus faible. Elle peut être réduite à 10 pour cent de la sensibilité initiale. La diminution de la sensibilité est liée à la quantité de α -gliadine dans l'échantillon et à la sensibilité de l'anticorps pour diverses sous-fractions dans la gliadine.
- 7.3 Selon la spécificité de l'anticorps, la méthode dose également les prolamines du seigle, de l'orge et de l'avoine en équivalent de gliadine. La réaction dans le test peut toutefois être différente de celle obtenue avec la gliadine et doit être dans ce cas dosée à part à l'aide d'un étalon approprié.
- 7.4 Si la méthode donne un résultat positif et s'il existe quelque doute quant à la spécificité, on peut effectuer un transfert de Southern après séparation par électrophorèse.
- 7.5 Selon le degré d'hydrolyse, les produits obtenus par hydrolyse partielle des prolamines ne peuvent pas toujours être dosés par la méthode décrite.
- 7.6 Les polyphénols, tels que ceux du thé, du houblon ou du cacao, diminuent le taux d'extraction des prolamines en se liant à celles-ci. L'addition de caséine comme protéine concurrente ainsi que comme urée est nécessaire dans ce cas.
- 7.7 La limite de détermination de la méthode devrait être d'au moins 10 ppm dans le produit par rapport au poids sec.