

commission du codex alimentarius



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

ORGANISATION
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 03/4
Octobre 2003**

F

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITÉ DU CODEX SUR LA NUTRITION ET LES ALIMENTS DIÉTÉTIQUES OU DE RÉGIME Vingt-cinquième session

Rapport du Groupe de travail sur l'analyse et la toxicité de la prolamine (WGPAT)

1. HISTORIQUE

La maladie coeliaque est une maladie auto-immune causée par le gluten, une protéine contenue dans le grain des céréales. La relation causale entre le gluten et sa « toxicité » chez des individus génétiquement prédisposés à développer une maladie coeliaque est solidement établie et constitue la base de l'incorporation du gluten dans les réglementations et déclarations alimentaires aux fins de prévenir les effets nuisibles d'aliments ou de composants alimentaires contenant du gluten chez les patients coeliaques. Un réseau de prédisposition génétique, de processus biochimiques qui modifient la protéine déclenchant la maladie et d'une réaction immunitaire complexe médiée par les cellules T au niveau de l'intestin grêle caractérise cette maladie qui présente de nombreuses formes cliniques. La prévalence de la maladie coeliaque, toutes formes confondues, est de 1/200 selon les données actuelles. Le traitement repose sur un régime alimentaire dépourvu de gluten.

Le Groupe de travail sur l'analyse et la toxicité de la prolamine (WGPAT) existe depuis 1985. Son activité a pour objet la coordination de la recherche sur l'analyse en laboratoire du gluten dans l'alimentation et sur l'évaluation clinique de la sensibilité des patients aux prolamines. Les travaux d'analyse ont fait des progrès considérables au cours des dernières années : on dispose maintenant d'une référence européenne pour décélérer la gliadine et des informations sur une méthode immuno-

enzymatique (ELISA) sensible et fiable ont été publiées. De nouvelles données cliniques ont été recueillies sur les seuils potentiels de tolérance au gluten chez les patients coeliaques, on peut espérer des résultats cliniques définitifs dans le courant des deux prochaines années (Stern *et al.*, 2001).

2. LA REFERENCE EUROPEENNE POUR LA GLIADINE IRMM-480

Une référence européenne pour la gliadine (IRMM-480) est désormais disponible. Elle a été établie par l'Institut des matériaux et mesures de référence de l'Union européenne (IMMR). La certification finale est prévue pour le milieu de 2004. La gliadine est la fraction du gluten soluble dans l'éthanol et contient des épitopes actifs dans la maladie coeliaque. Le matériau de référence s'est révélé soluble, homogène et stable. Tous les composants de la gliadine provenant de 28 variétés de blé cultivées en Europe sont présents dans la préparation. IRMM-480 peut servir de référence pour des déterminations immunochimiques de la gliadine (gluten) (van Eckert, 2002). La référence pour la gliadine est disponible sur demande directe au IMMR (Commission européenne, Direction Générale Centre commun de recherche [CCR], Institut des matériaux et mesures de référence, Unité Matériaux de référence, Retieseweg, B-2440 Geel, Belgique).

3. LE SANDWICH ELISA R5 POUR LA DETERMINATION DE LA GLIADINE (GLUTEN)

Un système fiable ELISA a été mis au point sur la base de la reconnaissance de l'épitope QQPFP, potentiellement coeliacotoxique, contenu dans la gliadine et les prolamines afférentes (Valdés *et al.*, 2003). En résumé, l'essai consiste en une opération d'extraction d'aliment et en un sandwich ELISA d'anticorps double monoclonal, qui utilise un conjugué de peroxydase de raifort. Le système est destiné aux prolamines provenant du blé, du seigle et de l'orge. Il ne produit pas de réactions croisées avec l'avoine. La limite de détection est de 1,5 mg/kg de gliadine. Le test est robuste et simple. La spécificité et la sensibilité sont élevées. La variation intra-essais était de 7,5 % ; la variation inter-essais était de 8,7 % (Valdés *et al.*, 2003). Le système a démontré sa capacité de fonctionner avec des échantillons non traités et des échantillons traités thermiquement.

Le WGPAT a entrepris un essai sur la base d'une large collaboration internationale (Immer *et al.*, 2003). Douze échantillons (maïs et riz contenant de la gliadine, échantillons commerciaux de farine exempte de gluten) ont été analysés par 20 laboratoires. L'évaluation statistique indépendante

réalisée par l'IMMR a donné des résultats comparables pour deux systèmes de kits basés sur la même méthode (voir plus haut). L'écart standard de la répétabilité relative était de 19 % ; l'écart standard de la reproductibilité relative était de 30 %.

Le système d'essais était apte à résoudre les problèmes techniques causés par le traitement thermique et les effets matriciels. Le groupe a décrit récemment un système ELISA alternatif et compétitif basé sur le même anticorps monoclonal R5 qui peut être utilisé pour les produits contenant du gluten hydrolysé.

Le système ELISA R5 est supérieur aux tests antérieurs (Denery-Papini *et al.*, 1999). Cette méthode est maintenant proposée par le WGPAT pour évaluation par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage (CCMAS). Toutefois, l'avancée des travaux (mise au point de nouvelles méthodes) ne doit pas être freinée par une quelconque réglementation.

4. DONNEES CLINIQUES SUR LE SEUIL DE SENSIBILITE AU GLUTEN

Un régime alimentaire dépourvu de gluten est le traitement fondamental de la maladie coeliaque. Toutefois, la relation entre la quantité de gluten ingérée (quantités infimes) et la gravité des symptômes cliniques et les anomalies histologiques n'est pas encore définie chez les patients coeliaques. La variation individuelle et l'hétérogénéité clinique des patients coeliaques pose des problèmes sérieux quand on tente d'identifier des valeurs seuil acceptables pour les quantités infimes de gluten qui pourraient être admises dans les aliments exempts de gluten (Stern *et al.*, 2001). Les études contrôlées qui ont été entreprises pour résoudre cette question sont en nombre très faible. Tout récemment, une de ces études contrôlées (Peräaho *et al.*, 2003) a permis d'établir que les produits de farine exempts de gluten qui contiennent de l'amidon de blé étaient acceptables dans un régime alimentaire dépourvu de gluten. Toutefois, l'étude en question ne spécifiait pas la dose journalière de gluten ingérée par les patients examinés. Les études in vivo antérieures (Catassi *et al.*, 1993), qui avaient détecté à l'origine des effets « toxiques » dans une dose journalière de 100 mg de gliadine, sont en train d'être étendues pour être transformées en étude prospective qui comprendra des contrôles appropriés et des critères idoines d'inclusion et d'exclusion. Des données définitives en provenances des deux groupes cités sont prévues pour les deux prochaines années. Il n'est pas justifié de reprendre le débat sur les quantités avant que ces données soient disponibles. La limite en vigueur de [200] mg/kg de gluten pour les aliments exempts de gluten pourra être réexaminée dans un proche avenir.

5. CONCLUSION

Au vu des progrès réalisés concernant la référence pour la gliadine IRMM-480 et la méthode du sandwich ELISA R5 qui ont fait l'objet d'une publication récente (Valdés *et al.*, 2003), le WGPAT propose au Comité du Codex sur la nutrition et les aliments diététiques ou de régime de recommander la méthode ELISA R5 aux fins d'évaluation ultérieure par le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage et de prendre les mesures nécessaires à cet effet.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Valdés I, García E, Llorente M, Méndez E (2003). Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *Eur J Gastroenterol* 15: 465-474. (*Sera disponible à la réunion comme CRD*).

Catassi C, Rossini M, Räscher IM, Bearzi I, Santinelli A, Castagnani R, Pisani E, Coppa GV, Giorgi PL, (1993). Dose dependent effects of protracted ingestion of small amounts of gliadin in coeliac disease children: a clinical and jejunal morphometric study. *Gut* 34: 1515-1519.

Denery-Papini S, Nicolas Y, Popineau Y (1999). Efficiency and limitations of immuno-chemical assays for the testing of gluten-free foods. *J Cereals Sci* 30: 121-131

Immer U, Vela C, Méndez E, Janssen F (2003). PWG collaborative trial of gluten in gluten-free food through "Cocktail Elisa". In: Stern M (ed) *Proceedings of the 17th Meeting. Working Group Prolamin Analysis and Toxicity*. October 3-6, 2002, Londres, Royaume-Uni, Angleterre. Verlag Wissenschaftliche Scripten, Zwickau, Allemagne, pp. 23-33.

Peräaho M, Kaukinen K, Paasikivi K, SievÄnen H, Lohiniemi S, Mäki M, Collin P (2003). Wheat-starch-based gluten-free products in the treatment of newly detected coeliac disease: prospective and randomized study. *Aliment Pharmacol Ther* 17: 587-594.

Stern M, Ciclitira PJ, van Eckert R, Feighery C, Janssen FW, Méndez E, Mothes T, Troncone R, Wieser H (2001). Analysis and clinical effects of gluten in celiac disease. *Eur J Gastroenterology Hepatol* 13: 741-747.

Valdés I, García E, Llorente M, Méndez E (2003). Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *Eur J Gastroenterol* 15: 465-474.

Van Eckert R (2002). The PWG gliadin, a new reference material. In: Stern M (ed) *Proceedings of the 16th Meeting. Working Group Prolamin Analysis and Toxicity*. November 8-11, 2001, Sitges, Espagne. Verlag Wissenschaftliche Scripten, Zwickau, Allemagne, pp. 25-27.