

Livre blanc : L'état actuel des connaissances scientifiques sur le gluten

27 avril 2018

Copyright © 2018, Association canadienne de la maladie cœliaque

Publié par :

Allergen Control Group Inc.

420 Main Street East, Unit 553

Milton, Ontario

Canada L9T 5G3

www.glutenfreecert.com

info@glutenfreecert.com

L'Association canadienne de la maladie coeliaque tient à remercier Agriculture et Agroalimentaire Canada pour le financement de ce projet ainsi que le Allergen Control Group inc. et Groupe Environex qui ont dirigés et contribués à ce document.

Tous droits réservés. Aucune partie de ce document ne peut être reproduite sous quelque forme que ce soit sans l'autorisation écrite de l'Association canadienne de la maladie cœliaque ou du Allergen Control Group Inc.

Avis de non-responsabilité : Ce guide est conçu pour être descriptif et non normatif de quelque manière que ce soit, et devrait être adapté au besoin dans le cadre d'une approche fondée sur les risques. Il ne vise pas à remplacer les services de consultants professionnels.

Table des matières

Introduction	2
1. Le gluten – Un groupe complexe de protéines de céréales	4
1.1 Définition	4
1.2 La classification des protéines dans les céréales contenant du gluten.....	4
1.3 Céréales contenant du gluten dans l'industrie alimentaire	6
1.4 Solutions de remplacement sans gluten.....	6
1.5 Effets des procédés de transformation sur les protéines du gluten	7
2. Troubles liés au gluten.....	8
2.1 La maladie cœliaque	8
2.2 La dermatite herpétiforme.....	9
2.3 L'ataxie au gluten.....	10
2.4 L'allergie au blé	10
2.5 La sensibilité au gluten non cœliaque.....	10
2.6 Épidémiologie	11
3. Réglementations.....	12
3.1 Vue d'ensemble des réglementations à travers le monde.....	12
3.2 Détermination de la limite de 20 ppm	17
3.3 Effets des conditions environnementales et de la contamination croisée	18
3.4 Cas spécifique : l'avoine sans gluten.....	18
4. Techniques d'analyses pour la détection et la quantification du gluten.....	20
4.1 Techniques immunochimiques.....	21
4.2 Méthodes fondées sur la génomique	27
4.3 Approche protéomique	28
4.4 Méthode d'analyse non spécifique de surface	29
4.5 Technologies émergentes dans la détection du gluten	30
Conclusion	32
Glossaire.....	34
Bibliographie	37
ANNEXE 1 – Comparaison des trousse d'analyse ELISA offertes sur le marché.....	i

Introduction

Au cours de la dernière décennie, la demande pour des produits sans gluten a fortement augmenté. D'ailleurs, de plus en plus de produits portant la mention « sans gluten » sont apparus sur les tablettes des magasins. Les nombreuses personnes souffrant de la maladie cœliaque ou d'autres troubles liés au gluten bénéficient de cette plus grande offre de produits puisque, pour celles-ci, un régime sans gluten strict est essentiel afin de ne pas aggraver leur état. Cependant, ces produits doivent être suffisamment sécuritaires et fiables pour être réellement sans gluten et conformes aux spécifications réglementaires. De l'autre côté de la médaille, on retrouve sur le marché une grande variété de méthodes analytiques permettant de détecter et de quantifier le gluten. Il est souvent difficile pour l'industrie des produits sans gluten de sélectionner une méthode d'analyse fiable et qui convient à leurs besoins.

Ce livre blanc constitue une source de renseignements détaillés sur l'état actuel des connaissances scientifiques sur le gluten. Il s'adresse plus particulièrement à toutes les personnes qui travaillent dans le domaine de l'industrie des produits sans gluten et qui ont envie d'approfondir leurs connaissances sur le sujet. Le vocabulaire utilisé est parfois technique, ainsi il est possible de consulter le glossaire situé à la fin de ce document.

La première section de ce document fait le point sur l'état actuel des connaissances scientifiques relatives à la chimie du gluten, un groupe de protéines fort complexe. Cette section permet de comprendre les défis que représentent sa détection et sa quantification de manière précise. Des solutions de remplacement aux céréales contenant du gluten seront aussi présentées dans cette section, ainsi que l'incidence des procédés de transformation sur les protéines de gluten.

La section suivante traite des principaux troubles de santé liés au gluten. En effet, les protéines de gluten peuvent déclencher différents types de réactions physiologiques et une grande variété de symptômes chez les personnes sensibles. Les maladies et conditions qui y sont associées comprennent la maladie cœliaque, la dermatite herpétiforme, l'ataxie au gluten, l'allergie au blé, la sensibilité au gluten non cœliaque et autres. La maladie cœliaque ou l'entéropathie au gluten (1) est le trouble de santé lié au gluten le plus connu. Il est estimé que la maladie cœliaque touche environ 1 % de la population. Actuellement, le seul traitement contre cette maladie consiste à maintenir un régime sans gluten strict.

Ensuite, une vue d'ensemble des différentes réglementations à l'échelle mondiale est présentée, plus particulièrement en ce qui a trait à la réglementation du Canada, des États-Unis, de l'Union européenne et de la Nouvelle-Zélande/Australie. Il est important de

savoir que ces réglementations sont principalement fondées sur les normes du Codex Alimentarius, qui définissent les aliments sans gluten comme des aliments diététiques spéciaux composés d'ingrédients qui ne contiennent pas de blé, de seigle, d'orge, d'avoine et leurs variétés croisées, et dans lesquels la teneur en gluten n'excède pas 20 ppm. Toutefois, selon la Commission du Codex Alimentarius, l'autorisation de l'avoine sans gluten, c'est-à-dire qui n'a pas été contaminée par du blé, du seigle ou de l'orge, devrait être évaluée au niveau national.

La dernière section de ce livre blanc présente les différentes techniques d'analyse pour la détection et la quantification du gluten disponibles sur le marché. Plusieurs tests ont été développés, par exemple les immunoessais, les méthodes basées sur la détection de l'ADN et les approches génomiques qui utilisent la spectrométrie de masse. Le choix d'une méthode d'analyse appropriée dépend de plusieurs facteurs comme la matrice, le procédé de transformation, le temps, le coût, le savoir-faire et la précision des résultats (résultats quantitatifs, résultats qualitatifs, identification de la source de contamination). Cette section permettra aux lecteurs de comprendre les concepts importants reliés au choix de la méthode d'analyse optimale selon le type de matrice et/ou de procédé.

1. Le gluten – Un groupe complexe de protéines de céréales

La présente section fait le point sur l'état actuel des connaissances scientifiques relatives à la chimie du gluten. Une bonne compréhension des nombreux concepts qui y sont présentés permet de faire un lien avec les différents enjeux reliés aux techniques d'analyse pour la détection et la quantification du gluten.

1.1 Définition

Selon le **Codex Alimentarius**, le gluten est la « 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 intolérantes et qui est insoluble dans l'eau et dans le NaCl à 0,5 M » (2).

Le gluten comprend différentes espèces de blé (p. ex. le blé dur, l'épeautre, le farro, le blé khorasan, le petit épeautre, l'amidonnié, etc.), de seigle et d'orge ainsi que les hybrides croisés de ces céréales (p. ex. le triticale qui est un croisement entre le blé et le seigle).

1.2 La classification des protéines dans les céréales contenant du gluten

Le gluten est un mélange complexe de protéines de réserve généralement divisé en deux sous-groupes différents : les **prolamines** et les **glutélines** (3). Les **prolamines** sont une fraction protéique pouvant être extraite en utilisant de l'éthanol de 40 à 70 %, tandis que les **glutélines** sont la fraction protéique soluble dans des solutions alcalines ou acides. Selon la source, les **prolamines** et les **glutélines** se retrouvent sous différentes formes dans le gluten (tableau 1). D'autres fractions protéiques se trouvent aussi dans les céréales tel qu'illustré à la figure 1. Par exemple l'**albumine**, qui est hydrosoluble, et les **globulines**, qui sont solubles dans des solutions salines (4).

Tableau 1 : Fractions protéiques du gluten selon la variété

Variété	Prolamines	Glutélines
Blé	α/β -gliadines γ -gliadines ω -gliadines	LMW ¹ gluténine HMW ² gluténine
Seigle	γ -40-sécalines ω -sécalines	γ -75 sécalines HMW ² sécalines
Orge	C-hordéines γ -hordéines	B-hordéines D-hordéines
Avoine	α/β -avénines γ -avénines	LMW ¹ avénines

1. LMW : low molecular weight (faible poids moléculaire) 2. HMW : high molecular weight (poids moléculaire élevé)

La figure 1 donne un portrait général de la composition protéique des différentes céréales contenant du gluten. Elle permet de constater que la composition des différentes fractions protéiques varie grandement entre les céréales, mais aussi entre les variétés d'un même type. En général, il est estimé que les **prolamines** et les **glutélines** sont présentes en proportions identiques dans le gluten en fonction de la composition typique du blé. C'est pourquoi un facteur de multiplication par deux est souvent utilisé pour calculer la teneur totale en gluten dans les méthodes ELISA. Or, cette proportion varie selon la variété, les facteurs génétiques, les conditions de croissance et les influences environnementales (4).

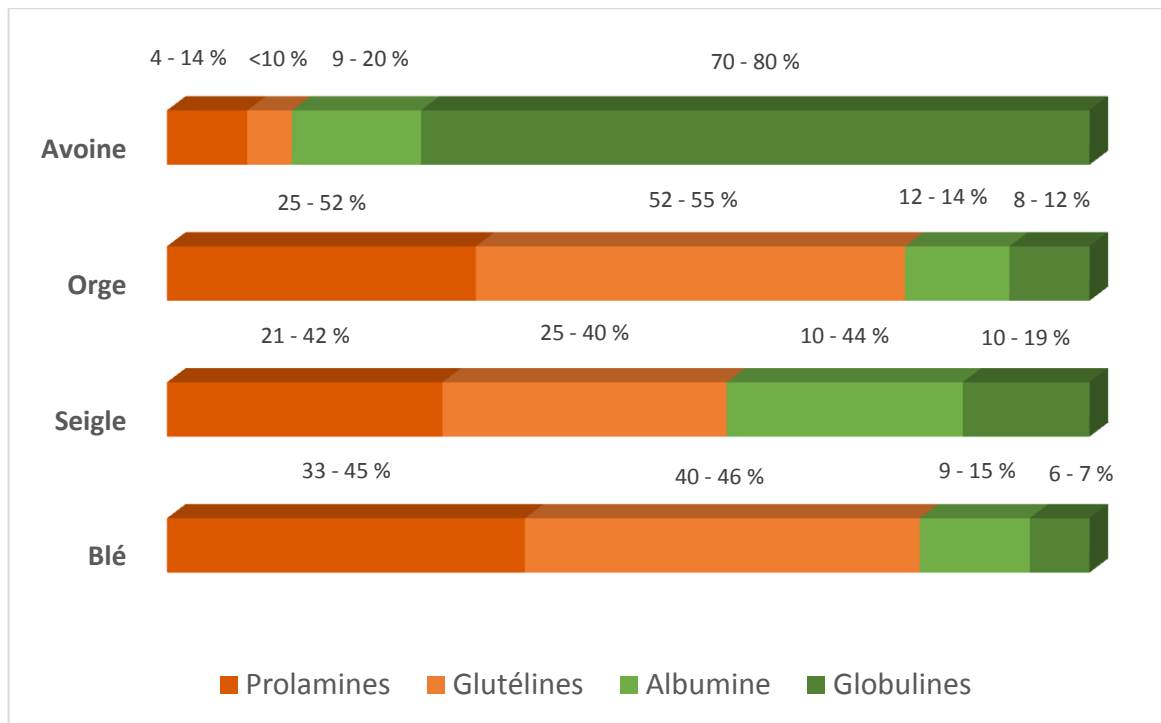


Figure 1. Composition des protéines dans les céréales contenant du gluten

Les fractions protéiques du gluten ne sont pas toutes nocives pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque. Les **peptides** qui sont responsable du déclenchement de la maladie cœliaque sont les **prolamines** et les **glutélines**. À la figure 1, ces groupes de protéines sont représentés par la couleur orangée. La fraction protéique participant au déclenchement de la maladie cœliaque varie donc grandement selon la source. Cependant, il est important de noter que l'**albumine** et les **globulines** (en vert), peuvent être dangereuses pour les gens présentant une allergie au blé, puisque les mécanismes de déclenchement de ces deux maladies sont différents.

Les protéines de gluten se distinguent aussi en fonction de leur teneur en soufre, de leurs propriétés structurales et de leur taille (5). Par exemple, les **prolamines** monomériques contiennent des liaisons disulfures intramoléculaires ainsi que de faibles liaisons hydrogène, et elles sont facilement solubles dans l'alcool aqueux (6). Cependant, les **glutélines** polymériques contiennent également des liaisons intermoléculaires qui leur permettent de former un réseau lorsqu'elles sont chauffées ou cuites (7). L'utilisation d'agents réducteurs, d'acide ou **d'enzymes** est nécessaire pour briser les liaisons disulfures avant leur solubilisation dans des solutions alcooliques durant la procédure **d'extraction**. C'est pourquoi des solutions cocktail sont parfois utilisées.

Finalement, les variations observées dans la composition protéique des différentes sources de gluten rendent leur détection et leur quantification ardue. Pour plus de détails à ce sujet, veuillez vous référer à la section 4 qui traite des méthodes d'analyse.

1.3 Céréales contenant du gluten dans l'industrie alimentaire

Les protéines de gluten sont largement reconnues pour leurs propriétés technologiques. Le gluten du blé peut former une pâte viscoélastique qui est essentielle au processus de fabrication du pain, alors que les **prolamines** des autres variétés de céréales n'ont pas cette propriété (7). Cette caractéristique unique peut être attribuée à la fraction polymérique du blé qui permet au gluten de former un réseau complexe. Les protéines de blé sont aussi utilisées comme épaississants, émulsifiants, agents de satinage et rehausseurs de saveur pour divers aliments comme les sauces et les soupes (5). De plus, le gluten peut être utilisé en tant qu'agent de remplissage pour les produits de viande et de poisson, les desserts et les médicaments. La farine de blé est souvent utilisée comme substrat pour les **enzymes**, les cultures bactériennes et les levures. Les **peptides** hydrolysés et fermentés provenant du seigle, de l'orge et du blé se retrouvent aussi dans plusieurs produits transformés comme la bière, l'alcool distillé, le vinaigre, les aliments pour bébés, la sauce soja et le sirop de glucose. (8)

1.4 Solutions de remplacement sans gluten

L'amarante, le sarrasin, le maïs, le millet, le quinoa, le riz, le sorgho, le soja, le tef et d'autres solutions de remplacement sans gluten ne contiennent pas de protéines de gluten. Leurs protéines diffèrent en ce qui concerne leur composition en **acides aminés**, car elles contiennent moins de **prolamines** et de **glutélines**, ce qui les rend inoffensives pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque ou pour celles souffrant d'une intolérance au gluten. Elles peuvent être utilisées dans des formulations sans gluten en les combinant à des ingrédients riches en amidon comme les fécules de pommes de terre ou de tapioca.

1.5 Effets des procédés de transformation sur les protéines du gluten

Les protéines de gluten sont souvent modifiées pour être utilisées dans différentes applications, ce qui peut aussi influencer la conformation de la protéine sans réduire son effet sur les personnes atteintes de la maladie cœliaque (5). Par exemple, chauffer ou cuire des protéines de gluten les rend plus difficiles à extraire, puisque les protéines de gluténine forment de nouvelles liaisons disulfures et des agrégats. Ces changements diminuent la solubilité des protéines de gluten et conduisent, par conséquent, à un niveau de détection plus faible si le protocole d'extraction n'est pas modifié.

Certains ingrédients comme l'amidon de blé, les hydrolysats d'amidon de blé (p. ex. le sirop de glucose) (9), les alcools de sucre (p. ex. le sorbitol et le maltitol) et la maltodextrine de blé peuvent être fabriqués sans gluten à l'aide de certains procédés spéciaux (10). De manière similaire, la distillation de l'alcool et du vinaigre permet généralement d'éliminer toute protéine résiduelle (11). Durant la distillation, le liquide est chauffé et les composés volatils comme l'alcool et les arômes sont séparés des substances non volatiles comme les protéines et les sucres. Les produits résultants sont généralement sécuritaires pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque, mais un processus de distillation inadéquat pourrait avoir une incidence sur la pureté du produit fini. De plus, le risque potentiel de contamination croisée augmente dans un environnement riche en gluten. La teneur en protéine totale d'un produit distillé devrait être testée pour vérifier sa pureté.

Les produits fermentés (p. ex. la bière) et les produits hydrolysés (p. ex. les protéines de blé hydrolysées, les rehausseurs de saveur) peuvent ne pas convenir aux personnes souffrant de la maladie cœliaque. Durant les processus de **fermentation** et d'**hydrolyse**, les protéines sont décomposées en petits fragments, ce qui les rend difficiles à détecter et à quantifier. D'autres processus comme la **désamination** et la **transamination** peuvent aussi avoir une incidence sur la conformation des protéines et les rendre difficiles à détecter (5). Il faut donc porter une attention particulière à la méthode d'analyse et à l'interprétation des résultats pour ces types de produits (voir section 4).

2. Troubles liés au gluten

Les céréales contenant du gluten peuvent déclencher différents types de réactions immunitaires chez les personnes à risque. Cette section traite des troubles liés au gluten les plus connus, soient la maladie cœliaque, l'allergie au blé, la sensibilité au gluten non cœliaque, la dermatite herpétiforme et l'ataxie au gluten.

2.1 La maladie cœliaque

La maladie cœliaque est une entéropathie chronique à médiation immunitaire de l'intestin grêle déclenchée par l'ingestion de protéines de gluten chez les personnes génétiquement prédisposées (12). La réaction immunitaire cause des lésions typiques caractérisées par l'amincissement des villosités de l'intestin grêle, ce qui entraîne une inflammation généralisée et une malabsorption des nutriments.

Les signes et symptômes caractéristiques de la maladie cœliaque varient grandement d'une personne à l'autre, autant par leur portée que leur gravité. De plus, les symptômes de cette maladie sont souvent similaires à plusieurs autres troubles, ce qui rend le diagnostic difficile. Les nourrissons et les enfants manifestent généralement des symptômes comme de la diarrhée et un gonflement anormal de l'abdomen. Ils peuvent aussi présenter des symptômes de malnutrition comme une petite taille, de l'anémie, des problèmes dentaires, un retard staturo-pondéral ou un retard de développement. Chez les adultes, les troubles gastro-intestinaux sont fréquents et comprennent des douleurs abdominales, des flatulences et de la diarrhée. Une perte de poids est fréquente, mais des symptômes comme un gain de poids ou de la constipation ont aussi été observés. Les autres symptômes peuvent varier et comprendre des ulcères buccaux, de la fatigue extrême, des douleurs osseuses et autres. Seules certaines personnes atteintes de la maladie cœliaque souffrent des symptômes gastro-intestinaux typiques, tandis que d'autres ne présentent aucun symptômes visibles. En effet, certaines personnes présenteront des résultats de sérologie positifs et des dommages intestinaux typiques, mais n'auront aucun symptôme de la maladie pendant une longue période de temps. Toutefois, la malnutrition à long terme peut causer des troubles plus graves comme des maladies des os (p. ex. ostéoporose), des retards de croissance chez les enfants, l'infertilité et une prédisposition à d'autres maladies (p. ex. le diabète de type 1, la thyroïdite, le syndrome de Sjögren et des cancers) (13).

Le pédiatre néerlandais W. K. Dicke est le premier à avoir établi le lien entre la maladie et la consommation de la gliadine de blé dans les années 1950. Il recommandait de traiter les patients au moyen d'un régime sans gluten durant toute leur vie (12). Peu de temps après, il a été suggéré que l'orge, le seigle et l'avoine étaient aussi nocifs en raison de leur lien étroit avec le blé (5).

Depuis ce temps, des progrès majeurs ont été réalisés en vue d'expliquer la pathogenèse de la maladie cœliaque. Il est maintenant reconnu que deux gènes (HLA-DQ2 et HLA-DQ8) sont principalement responsables de la réaction immunitaire contre les **peptides** de gluten (13). En raison de leur teneur élevée en proline (P) et en glutamine (Q), les protéines de gluten sont particulièrement résistantes aux **enzymes** digestifs. Chez les personnes souffrant de la maladie cœliaque, les **anticorps** transglutaminase-2 tissulaire (tTG2) convertissent les résidus de glutamine des **peptides** de gluten en acide glutamique, ce qui déclenche une réaction en chaîne menant à l'atrophie des villosités muqueuses (5). Toutefois, cette réaction n'explique pas entièrement les lésions des tissus puisqu'environ 30 % de la population en général est porteuse de ces gènes sans développer la maladie (14). Les facteurs environnementaux, les anomalies du système immunitaire et les syndromes génétiques peuvent aussi avoir des effets sur l'incidence de la maladie cœliaque (15).

Les réactions immunitaires déclenchées par la maladie cœliaque sont probablement causées par les **épitopes** avec une courte séquence toxique d'**acides aminés** qui se lient aux **anticorps** (16). Il a été découvert que plusieurs **peptides** étaient actifs chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque (17) et leur présence dans les protéines de gluten a été étudiée. Le 33-mer, un **peptide** qui contient 33 **acides aminés** (LQLQPFQPLPYPQPQLPYP-QPQLPYPQPQPF) est considéré comme le facteur de contribution le plus important de la maladie cœliaque (5). Plusieurs études ont testé sa nocivité chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque. Cependant, ce **peptide** n'explique pas la pathogenèse globale de la maladie cœliaque et des centaines d'autres **peptides** provenant des protéines de blé, de seigle et d'orge pourraient jouer un rôle dans cette maladie (4). La plupart des peptides semblent contenir une grande quantité de résidus de proline (P) et de glutamine (Q), ce qui leur donne la capacité spécifique de protéger les **épitopes** contre les **enzymes** digestifs et d'améliorer l'efficacité des sites de liaison des **anticorps**. Récemment, il a été découvert que des fractions gluténines de blé pouvaient aussi être nocives pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque (18).

2.2 La dermatite herpétiforme

La dermatite herpétiforme est une maladie de la peau auto-immune liée à l'exposition au gluten chez les personnes génétiquement prédisposées. Le gluten déclenche la production d'**anticorps** immunoglobuline A (IgA), ce qui entraîne une réaction immunitaire dans la circulation sanguine (19). Les manifestations sur la peau sont caractérisées par des lésions qui démangent, des papules et des vésicules principalement situées sur les coudes, les genoux, les fesses et l'arrière du cou (15). Les gens atteints de cette maladie présentent aussi des lésions sur les villosités de l'intestin grêle, mais n'ont

généralement pas de symptômes digestifs. Les patients doivent respecter un régime sans gluten strict (20) pour prévenir les manifestations cutanées liées à la maladie. Une biopsie de la peau (prélèvement et analyse) est généralement effectuée pour confirmer le diagnostic.

2.3 L'ataxie au gluten

L'ataxie au gluten est une maladie auto-immune rare et grave, qui est déclenchée par l'ingestion de gluten chez les personnes génétiquement prédisposées (21). L'ataxie au gluten est similaire à la maladie cœliaque, mais au lieu de toucher l'intestin, elle affecte le cerveau et le système nerveux central. Plus concrètement, les **anticorps** produits en réaction à l'ingestion du gluten attaquent le cervelet, ce qui cause éventuellement des effets irréversibles comme des problèmes d'équilibre, une perte de coordination, de la fatigue, des difficultés d'élocution et de déglutition (22). Actuellement, ce trouble neurologique n'est pas encore bien compris par les experts et le diagnostic peut être difficile à établir puisque les personnes atteintes ne présentent pas de symptômes gastro-intestinaux (23). Elles doivent toutefois suivre un régime sans gluten strict.

2.4 L'allergie au blé

L'allergie au blé est une maladie à médiation immunitaire causée par l'immunoglobuline E (IgE) qui est déclenchée par l'ingestion de protéines de blé. Cette réaction n'est pas seulement due aux protéines de gluten, mais aussi dues à l'**albumine** et aux **globulines**. Lorsque le blé est ingéré, le système immunitaire du corps devient sensibilisé et surréagit en produisant des **anticorps** IgE contre les protéines de blé, ce qui cause la libération de molécules inflammatoires. Cette réaction entraîne une variété de symptômes qui peuvent passer rapidement de légers (p. ex. éruptions cutanées, urticaire, démangeaisons cutanées, gonflement, crampes, diarrhées, vomissements) à graves (p. ex. problèmes respiratoires, baisse de la pression artérielle, perte de conscience) (24). Les réactions allergiques à des aliments se produisent généralement de quelques minutes à plusieurs heures après l'ingestion et peuvent être mortelles. Les effets de l'allergie au blé sont complètement différents de la pathologie de la maladie cœliaque et la sensibilité au gluten non cœliaque.

2.5 La sensibilité au gluten non cœliaque

La sensibilité au gluten non cœliaque (SGNC) est une réaction non auto-immune au gluten. Les gens souffrant de cette condition ne présentent pas d'atrophies villositaires comme les personnes atteintes de la maladie cœliaque, mais peuvent présenter des symptômes gastro-intestinaux lorsqu'ils consomment des aliments contenant du gluten

(25). Les symptômes disparaissent généralement lorsque le gluten est éliminé du régime alimentaire et réapparaissent lorsque ce dernier est réintroduit (26). Les symptômes caractéristiques comprennent des douleurs abdominales, des gonflements, de la diarrhée et de la constipation, mais les personnes atteintes peuvent aussi présenter d'autres symptômes comme des reflux gastriques, de la fatigue, des éruptions cutanées, des douleurs musculaires, des maux de tête et la dépression. Il n'y a actuellement pas de méthodes de détection pour diagnostiquer la sensibilité au gluten non cœliaque.

2.6 Épidémiologie

La maladie cœliaque touche environ 1 % de la population totale des pays occidentaux comme le Canada, les États-Unis et les pays du nord de l'Europe (13). Elle est aussi présente chez d'autres populations, mais rarement en Russie et dans le nord de l'Asie (5). Sa prévalence semble être en hausse, mais il est difficile d'estimer combien de personnes peuvent souffrir d'une forme silencieuse ou latente de la maladie cœliaque (27). La dermatite herpétiforme touche approximativement 0,001 % de la population générale (20). La prévalence de la sensibilité au gluten non cœliaque est difficile à établir, car les gens posent souvent eux-mêmes leur diagnostic en l'absence de marqueurs génétiques (25). Cependant, la prévalence est estimée à au moins 6 % (28). Au Canada, les allergies alimentaires de toute sorte touchent environ 6 % des enfants et de 3 à 4 % des adultes (29). Une prévalence similaire a été déterminée aux États-Unis (13), bien que l'occurrence des allergies au blé et à l'orge soit seulement d'environ 0,1 % (10).

3. Réglementations

La section suivante donne un portrait des différentes législations en vigueur à travers le monde, plus particulièrement au Canada, aux États-Unis, dans les pays membres de l'Union européenne ainsi qu'en Nouvelle-Zélande et en Australie. Comme les réglementations peuvent changer rapidement, il est important de consulter la plus récente version de la législation applicable dans le pays où les produits sans gluten en question sont vendus.

3.1 Vue d'ensemble des réglementations à travers le monde

À l'échelle internationale, les normes, directives et codes de pratiques relatifs aux aliments sont recueillis dans le Codex Alimentarius. De nombreux pays à travers le monde utilisent ces normes pour établir leurs propres normes et réglementations. Le Comité du Codex sur la nutrition et les aliments diététiques ou de régime (CCNFSDU) est responsable de l'élaboration des normes pour l'étiquetage des produits sans gluten depuis plusieurs années. Les aliments exempts de gluten sont actuellement définis dans le CODEX STAN 118-1979 de la manière suivante : « des aliments diététiques composés ou fabriqués uniquement à partir d'un ou plusieurs ingrédients qui ne contiennent pas de blé (à savoir toutes les espèces de *Triticum*, telles que le blé dur, l'épeautre et le blé de Khorasan, qui est aussi commercialisé sous différents noms comme le KAMUT), de seigle, d'orge, d'avoine ou de leurs variétés croisées, dont la teneur en gluten ne dépasse pas 20 mg/kg au total, sur la base des aliments tels que vendus ou distribués au consommateur final » et/ou « des aliments diététiques constitués d'un ou plusieurs ingrédients issus du blé (à savoir toutes les espèces de *Triticum*, telles que le blé dur, l'épeautre et le blé de Khorasan, qui est aussi commercialisé sous différents noms comme le KAMUT), de seigle, d'orge, d'avoine ou de leurs variétés croisées, qui ont été traités spécialement pour retirer le gluten, et dont la teneur en gluten ne dépasse pas 20 mg/kg au total, sur la base des aliments tels que vendus ou distribués au consommateur final ». (2)

Conformément à ces directives, de nombreux pays ont mis en place leurs propres normes et réglementations pour l'étiquetage volontaire des aliments sans gluten en plus de la déclaration des ingrédients sur l'étiquette des emballages. La plupart des pays qui disposent de telles réglementations (p. ex. le Canada, l'Union européenne, la Nouvelle-Zélande et l'Australie) ont décidé d'inclure le blé, l'orge, le seigle, l'avoine et leurs variétés croisées dans leur définition du gluten. Le tableau 2 résume les allégations « sans gluten » autorisées ainsi que leurs conditions d'utilisation.

Il est important de noter que plusieurs normes de certification volontaire privées sont fondées sur ces réglementations. Cependant, plusieurs de ces normes et processus de certification axés sur le consommateur sont généralement plus restrictives que les

réglementations gouvernementales afin d’offrir la perception d’un niveau de protection supérieur désiré par les consommateurs.

Tableau 2 : Allégations « sans gluten » autorisées et conditions d’utilisation

Type de produit	Canada	États-Unis	Union européenne	Australie/ Nouvelle-Zélande
Aliments naturellement sans gluten (p. ex. légumes frais, lait, œufs)	Allégations sans gluten généralement non autorisées (vérifier auprès de l’ACIA et de Santé Canada)	Sans gluten si < 20 ppm	Sans gluten si < 20 ppm	Sans gluten si aucun gluten détectable
Aliments contenant du gluten ayant été transformés pour éliminer le gluten¹ (p. ex. l’amidon de blé, le sirop de glucose et la maltodextrine)	Sans gluten si ≤ 20 ppm (vérifier auprès de l’ACIA et de Santé Canada)	Sans gluten si < 20 ppm	Sans gluten si ≤ 20 ppm Très faible teneur en gluten si ≤ 100 ppm	Faible teneur en gluten si < 200 ppm
Aliments sans gluten qui pourraient contenir du gluten en raison de la contamination croisée	Sans gluten si ≤ 20 ppm	Sans gluten si < 20 ppm	Sans gluten si ≤ 20 ppm	Sans gluten si aucun gluten détectable Faible teneur en gluten si < 200 ppm
Avoine	Sans gluten si ≤ 20 ppm ²	Sans gluten si < 20 ppm ³	Sans gluten si ≤ 20 ppm ² Très faible teneur en gluten si ≤ 100 ppm	Allégations non autorisées

1. Les étapes de transformation devraient être validées afin de démontrer leur efficacité pour éliminer le gluten.
2. Les allégations « sans gluten » sont autorisées uniquement pour l’avoine spécialement produite sans gluten et s’il est possible de vérifier qu’elle est sans gluten.
3. L’avoine est considérée comme une céréale sans gluten, mais pourrait contenir du gluten à la suite d’une contamination croisée.

3.1.1 Réglementation canadienne

Au Canada, les aliments sans gluten sont réglementés selon les exigences en matière d’étiquetage des aliments à usage diététique spécial en vertu du titre 24 du Règlement sur les aliments et drogues. Les aliments à usage diététique spécial comprennent les aliments qui ont été spécialement transformés ou formulés pour satisfaire les besoins alimentaires particuliers d’une personne manifestant un état physique ou physiologique particulier à la suite d’une maladie, d’une blessure ou d’un désordre fonctionnel; ou chez qui l’on cherche à obtenir un résultat particulier, y compris, sans s’y limiter, une perte de poids grâce au contrôle de sa ration alimentaire. L’article B.24.018 de la Loi sur les aliments et drogues stipule que :

Il est interdit d'étiqueter, d'emballer ou de vendre un aliment qui contient une protéine de gluten ou une protéine de gluten modifiée, y compris toute fraction protéique de gluten, visée à la définition de « gluten » au paragraphe B.01.010.1 (1), ou d'en faire la publicité, de manière qui puisse donner l'impression qu'il est sans gluten. (30)

Le gluten est défini comme toute protéine de gluten provenant des grains d'une des céréales suivantes ou des grains d'une lignée hybride issue d'au moins une de ces céréales : l'orge, l'avoine, le seigle, le triticale, le blé ou toute protéine de gluten modifiée, y compris toute fraction protéique du gluten, qui est dérivée des grains d'une de ces céréales.

Pour respecter la réglementation canadienne, les aliments étiquetés « sans gluten » ne doivent pas contenir plus de 20 ppm de gluten provenant de la contamination croisée et ne doivent pas contenir de sources de gluten ajoutées intentionnellement. Toutefois, si une entreprise peut démontrer qu'un produit fabriqué à partir d'un ingrédient contenant du gluten a été transformé pour réduire la teneur en gluten à un niveau inférieur à 20 ppm (ex. amidon de blé, maltodextrine de blé, sirop de glucose de blé), ce produit pourra porter une allégation « sans gluten ». (31)

Les allégations « sans gluten » pour l'avoine spécialement produite et qui ne contient pas plus de 20 ppm de gluten provenant du blé, du seigle, de l'orge, ou de leurs souches hybrides sont aussi autorisées depuis mai 2015. L'objectif est d'aider les personnes atteintes de la maladie cœliaque à avoir accès à un plus grand choix de produits nutritifs.

Les aliments fermentés et hydrolysés ou les aliments contenant des ingrédients fermentés et hydrolysés, sont également autorisés à porter des allégations « sans gluten » pourvu qu'ils soient bien identifiés. Cependant, les bières ne sont pas autorisées à porter des allégations « sans gluten » puisqu'elles doivent respecter les normes de composition du Règlement sur les aliments et drogues, ce qui signifie qu'elles sont toujours fabriquées à partir d'orge et/ou de blé. Santé Canada et l'ACIA ne s'opposent toutefois pas à l'utilisation de la déclaration préventive suivante: « La fermentation de ce produit est faite à partir de céréales contenant du gluten et [transformées ou traitées ou confectionnées] pour en retirer le gluten. La teneur en gluten de ce produit ne peut être vérifiée, et ce produit pourrait contenir du gluten». Dans ce cas, le fabricant doit être prêt à fournir des preuves justifiant l'utilisation de l'allégation, y compris une description détaillée de la méthode utilisée pour retirer le gluten du produit, des résultats d'essai appropriés sur le produit fini ainsi que le nom et le fabricant de l'essai.

Il est important de noter que la plupart des programmes de certification (p. ex. PCSG) n'autorise pas les produits fermentés dont un ingrédient contenant du gluten a été intentionnellement ajouté, ni les déclarations préventives autorisées par la réglementation. Par contre, les produits similaires fabriqués à partir de céréales ne

contenant pas de gluten peuvent utiliser une allégation « sans gluten » s'ils respectent toutes les autres exigences.

Les produits qui ne contiennent naturellement pas de gluten (p. ex. légumes frais, lait, œufs) ne sont pas autorisés à porter une allégation « sans gluten », car ils ne respectent pas l'objectif du titre 24 du Règlement sur les aliments et drogues concernant les exigences en matière d'étiquetage des aliments à usage diététique spécial.

3.1.2 Réglementation américaine

Aux États-Unis, le règlement concernant l'étiquetage sans gluten des aliments (21 CFR partie 101.91) est en vigueur depuis août 2014 (32). La Food and Drug Administration (FDA) définit les aliments étiquetés sans gluten comme des aliments et des suppléments alimentaires :

- 1) *qui ne contiennent aucun des éléments suivants :*
 - *un ingrédient qui est une céréale contenant du gluten (p. ex. l'épeautre);*
 - *un ingrédient qui est dérivé d'une céréale contenant du gluten et qui n'a pas été transformé pour éliminer le gluten (p. ex. farine de blé);*
 - *un ingrédient qui est dérivé d'une céréale contenant du gluten et qui a été transformé pour éliminer le gluten (p. ex. amidon de blé), si l'utilisation de cet ingrédient entraîne une présence de 20 ppm ou plus de gluten dans l'aliment;*
- ou*
- 2) *qui sont naturellement exempts de gluten et dont toute autre présence inévitable de gluten est inférieure à 20 ppm de gluten.*

D'autres allégations comme « aucun gluten », « exempt de gluten » ou « ne contient pas de gluten » sont aussi autorisées sur les emballages d'aliments, mais doivent respecter l'esprit de la réglementation.

Contrairement au Canada, l'étiquetage volontaire des aliments sans gluten aux États-Unis s'applique à tous les aliments qui respectent les exigences, y compris les aliments naturellement sans gluten et l'avoine. Toutefois, étant donné que ces produits pourraient faire l'objet d'une contamination croisée par le gluten, ils doivent aussi respecter le seuil de 20 ppm.

Les réglementations américaines sur l'étiquetage « sans gluten » excluent les médicaments, les cosmétiques et les produits réglementés par le *United States Department of Agriculture* (USDA) et par le *Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau* (TTB), ce qui comprend les viandes, la volaille, certains produits à base d'œufs ainsi que la plupart des boissons alcoolisées.

La plupart des boissons fermentées sont réglementées par le TTB en vertu de la *Federal Alcohol Administration Act* (FAA Act). Les boissons maltées sont définies comme des

boissons faites à partir d'orge maltée et de houblon et ne peuvent pas être étiquetées « sans gluten ». Toutefois, le TTB accepte les mentions préventives suivantes: « La fermentation de ce produit est faite à partir de céréales contenant du gluten et [transformées ou traitées ou confectionnées] pour en retirer le gluten. La teneur en gluten de ce produit ne peut être vérifiée, et ce produit pourrait contenir du gluten. » et « Ce produit a été distillé à partir de céréales contenant du gluten, ce qui a retiré une partie du gluten ou tout le gluten. La teneur en gluten de ce produit ne peut être vérifiée, et ce produit pourrait contenir du gluten. ». Toutefois, la plupart des programmes de certification (p. ex. PCSG) n'autorise pas les produits dont un ingrédient contenant du gluten a été intentionnellement ajouté, ni les déclarations préventives autorisées par la réglementation. Les boissons alcoolisées produites sans ingrédients contenant du gluten (p. ex. le vin fermenté à partir de raisins et la vodka) peuvent porter une allégation « sans gluten ».

Finalement, les bières qui ne répondent pas à la définition d'une boisson maltée en vertu du *FAA Act* sont assujetties aux mêmes exigences en matière d'étiquetage que les aliments sous la législation de la FDA. Le 18 novembre 2015, la FDA a publié une proposition de règlement dans le *Federal Register* afin d'établir les exigences pour les aliments fermentés, hydrolysés et distillés qui portent la mention « sans gluten ». En vertu du règlement proposé, ces produits ont reçu l'autorisation de porter une allégation « sans gluten » si l'entreprise conserve la documentation indiquant que les ingrédients étaient sans gluten avant la fermentation et que les risques de contamination sont contrôlés. La documentation démontrant la conformité de ces produits doit être conservée.

3.1.3 Réglementation de l'Union européenne

Depuis le 20 juillet 2016, le « *Règlement d'exécution (UE) no 828/2014 de la Commission du 30 juillet 2014 relatif aux exigences applicables à la fourniture d'informations aux consommateurs concernant l'absence ou la présence réduite du gluten dans les aliments* » est entré en vigueur dans l'Union européenne (33). Ces exigences à propos de l'étiquetage s'appliquent à tous les aliments préemballés ou non (y compris les repas servis dans les cafés, les restaurants, les écoles, les hôpitaux, etc.).

Les aliments vendus en Europe peuvent porter une allégation « sans gluten » s'ils ne contiennent pas plus de 20 ppm de gluten. De plus, les aliments contenant un ou plusieurs ingrédients faits à partir de blé, de seigle, d'orge, d'avoine ou de leurs variétés croisées qui ont été spécialement produites ou préparées de manière à réduire la teneur en gluten à un niveau ne dépassant pas 100 ppm peuvent porter la mention « très faible teneur en gluten ». Ces mentions peuvent être accompagnées des affirmations suivantes: « Convient aux personnes souffrant d'une intolérance au gluten », « Convient aux personnes atteintes de la maladie cœliaque », « Spécialement formulé pour les personnes souffrant d'une intolérance au gluten » ou « Spécialement formulé pour les personnes

atteintes de la maladie cœliaque ». Toutes autres mentions utilisées pour fournir des renseignements aux consommateurs à propos de l'absence ou la présence réduite de gluten ne sont pas autorisées.

3.1.4 Réglementation en Australie et en Nouvelle Zélande

Les normes de l'Australie et de la Nouvelle-Zélande sont définies dans l'*Australia New Zealand Food Standards Code* (FSANZ). Selon la norme 1.2.7, les aliments sans gluten ne doivent pas contenir de gluten détectable et d'avoine, ni de céréales contenant du gluten qui ont été maltées (34). Le seuil de détection est basé sur la meilleure méthode d'analyse disponible qui est actuellement de 3 ppm. L'étiquette « faible teneur en gluten » peut aussi être utilisée si l'aliment contient une teneur en gluten inférieure à 200 ppm.

3.2 Détermination de la limite de 20 ppm

Il est reconnu que les personnes atteintes de la maladie cœliaque peuvent tolérer des quantités variables de traces de gluten dans les aliments sans que ceux-ci entraînent des effets néfastes sur leur santé (13) (31). Toutefois, la quantité de gluten qui est nocive pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque fait encore l'objet de discussions (35). La FDA a abordé cette question en créant un groupe multidisciplinaire : le Threshold Working Group (15). Selon leur rapport, 20 ppm représentent le niveau le plus bas auquel les méthodes d'analyse pouvaient, au moment de la publication (2013), détecter de manière fiable et constante le gluten dans la plupart des matrices alimentaires. De plus, un examen des études de provocation chez les humains a été effectué et a permis de conclure que la plupart des personnes atteintes de la maladie cœliaque pouvait tolérer des quantités variables de traces de gluten dans les aliments (y compris des teneurs inférieures à 20 ppm) sans qu'ils ne causent d'effets néfastes sur leur santé (36). Une étude canadienne a aussi établi que si les produits alimentaires ne dépassaient pas une teneur en gluten de 20 ppm, l'exposition au gluten resterait inférieure à 10 mg par jour. Cela représente le niveau maximal auquel il est peu probable que des lésions à la muqueuse intestinale surviennent et qui ne pose pas de risque pour la santé chez la plupart des Canadiens atteints de la maladie cœliaque (37). Ce seuil est généralement considéré comme acceptable dans la plupart des pays qui ont en place des exigences en matière d'étiquetage du gluten et par la majorité des organisations non gouvernementales qui représentent les consommateurs qui doivent suivre un régime alimentaire sans gluten pour des raisons médicales.

Puisqu'il est extrêmement difficile de fabriquer des aliments complètement exempts de gluten, même lorsque cette fabrication est bien gérée, une limite de 20 ppm permet aussi aux consommateurs d'acheter une variété d'aliments sécuritaires qui conviennent à leurs

besoins. L'établissement d'un seuil beaucoup plus bas pourrait restreindre la disponibilité des produits étiquetés « sans gluten » et ne serait pas avantageux pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque. Il est possible de soutenir que c'est le cas en Australie et en Nouvelle-Zélande, où la mention sans gluten signifie qu'il n'y a aucun gluten détectable. Toutefois, il faut aussi considérer que le seuil de sensibilité est beaucoup plus bas pour les cas d'allergie au blé.

3.3 Effets des conditions environnementales et de la contamination croisée

Lorsque des céréales, des graines et d'autres cultures naturellement sans gluten sont cultivés, récoltés, entreposés et transportés dans les mêmes régions que le blé, l'orge et le seigle, cela peut conduire à une contamination croisée. La rotation des cultures ainsi que les champs agricoles adjacents, l'équipement de récolte, les véhicules de transport et les silos d'entreposage partagés sont de bons exemples de risques de contamination croisée (35). La contamination peut aussi survenir pendant des étapes de transformation, lors du partage des équipements (p. ex. équipement de meunerie et d'emballage) et lorsque les bonnes pratiques de fabrication ne sont pas respectées (38). Les erreurs de substitution avec des ingrédients contenant du gluten, la circulation des employés et la volatilité de certaines substances (p. ex. les farines et les poudres) peuvent aussi entraîner une contamination si elles ne sont pas bien gérées.

Par conséquent, les consommateurs et les entreprises vendant des produits sans gluten doivent être au fait que la teneur en gluten de certains produits peut ne pas être précisément reflétée dans la liste d'ingrédients. Certains produits présentent des avertissements, mais l'utilisation de mise en garde est volontaire. Les consommateurs ne peuvent donc pas entièrement se fier à l'étiquetage et les mises en garde sur les allergènes pour prendre des décisions d'achat. De plus, de nombreuses études ont conclu que même lorsqu'ils portaient la mention « sans gluten », certains aliments contenaient plus de 20 ppm de gluten (p. ex. les céréales de déjeuner, les farines) (35) (39). La gestion des programmes de sécurité alimentaire est essentielle pour prévenir la présence du gluten, même dans les installations dédiées aux aliments sans gluten. La contamination croisée représente un enjeu de conformité important. Les cas de contamination croisée, lorsque découverts, sont sujets à une évaluation des risques et, en fonction des résultats, des produits pourraient être rappelés.

3.4 Cas spécifique : l'avoine sans gluten

De nombreuses études ont examiné les effets de la consommation d'avoine chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque. Tel qu'illustré à la figure 1, la protéine d'avoine est structurellement différente des autres céréales contenant du gluten, puisque

les **globulines**, qui ne sont pas des déclencheurs de la maladie cœliaque, représentent environ de 70 à 80 % de la teneur totale en protéine (5). De plus, l'avoine contient moins d'**acides aminés** proline (P) et glutamine (Q) dans ses séquences de protéine (3). C'est d'ailleurs ce qui pourrait expliquer les raisons pour lesquelles les recherches suggèrent que la majorité des personnes atteintes de la maladie cœliaque peuvent consommer en quantité modérée de l'avoine qui n'a pas été contaminée par du blé, du seigle ou de l'orge, sans causer d'effets néfastes sur leur santé (40) (41) (42). Toutefois, certaines personnes semblent être sensibles à l'avoine (c.-à-d. aux avénines) et des publications ont démontré que des variétés d'avoine pouvaient être néfastes pour certaines personnes atteintes de la maladie cœliaque (43) (44) (45).

Selon le **Codex Alimentarius**, l'autorisation de l'avoine dans les aliments devrait être établie à l'échelle nationale (2). Les États-Unis autorisent une quantité illimitée d'avoine dans les produits sans gluten. Au Canada, les allégations « sans gluten » ont été autorisées en mai 2015 pour l'avoine spécialement produite à une teneur maximale de 20 ppm de gluten (46) afin d'aider les personnes atteintes de la maladie cœliaque à accéder à une plus grande variété de produits nutritifs (5) (38). Toutefois, Santé Canada recommande que les personnes atteintes de la maladie cœliaque consultent un professionnel de la santé avant et durant l'introduction de l'avoine sans gluten dans leur régime alimentaire. L'Union européenne utilise une approche similaire.

Une étude canadienne a conclu que l'approvisionnement général de l'avoine commerciale est hautement contaminé puisqu'environ 88 % des échantillons d'avoine testés contenaient des sources de gluten à une teneur supérieure à 20 ppm (38). Une étude américaine a obtenu des résultats similaires (47). Ces conclusions signifient que pour obtenir un résultat sécuritaire constant de < 20 ppm de gluten, des mesures particulières doivent être prises pour assurer que l'avoine soit sans gluten et qu'elle respecte les exigences réglementaires et celles des consommateurs.

Un important débat existe au sein de la communauté des personnes atteintes de la maladie cœliaque et de l'industrie alimentaire quant à la manière d'obtenir une production d'avoine sans gluten. Les organismes de réglementation sont davantage préoccupés par le résultat, tandis que la communauté des personnes atteintes de la maladie cœliaque et l'industrie alimentaire désirent une approche proactive et préventive. Les défaillances de l'industrie sont coûteuses en ce qui concerne la confiance des consommateurs et peuvent potentiellement entraîner des rappels. Bien que les organismes de réglementation soutiennent généralement le concept des mesures préventives, ils n'exigent pas de telles mesures pour l'avoine sans gluten.

4. Techniques d'analyses pour la détection et la quantification du gluten

L'analyse des produits sans gluten, malgré qu'elle ne soit actuellement pas prescrite par la réglementation, permet d'augmenter le degré de confiance face aux processus en place pour garantir le statut sans gluten d'un produit. Ainsi, l'industrie est encouragée à analyser les intrants, les produits finis et les produits en cours de transformation en fonction de l'évaluation des risques pour détecter la présence de gluten. Cette section permet d'explorer les différentes techniques d'analyse du gluten disponibles sur le marché et de comprendre leurs spécifications dans l'optique de déterminer la méthode d'analyse optimale.

Le **Codex Alimentarius** recommande que la quantification et la détection du gluten dans les aliments soient basées sur des méthodes sensibles et précises comme une méthode immunologique avec une limite de détection de 10 ppm ou moins. La méthode devrait être validée et étalonnée par rapport à un matériel de référence certifié. De plus, la méthode devrait utiliser un **anticorps** qui réagit aux fractions protéiques de céréales qui sont toxiques pour les personnes intolérantes au gluten et qui ne présente pas de réaction croisée avec d'autres constituants pouvant entraîner une sous-estimation ou une surestimation du gluten (2).

La plupart des organisations internationales et organismes de réglementation recommandent d'utiliser des méthodes d'analyse qui sont entièrement validées et certifiées par l'Association of Analytical Communities (AOAC INTERNATIONAL). Des directives harmonisées ont récemment été publiées afin d'aider les concepteurs de tests à élaborer des protocoles de validation fiables à des fins de soumission à l'AOAC INTERNATIONAL ou à d'autres organismes de réglementation (48). L'AOAC INTERNATIONAL possède deux programmes pour évaluer et approuver les méthodes : le AOAC Official Methods of Analysis Program (OMA) et le AOAC-RI Performance Tested Methods Program (PTM). Le programme PTM consiste en une évaluation indépendante qui permet de vérifier si les méthodes respectent les allégations du fabricant. Il comprend une étude indépendante en laboratoire et une vérification des données par un expert. La certification est accordée à certaines matrices seulement. Le programme OMA est beaucoup plus rigoureux et comprend le programme PTM ainsi qu'une étude en collaboration. De plus, pour obtenir le statut OMA Final Action, la méthode doit être utilisée au sein de l'industrie pendant deux ans sans rencontrer de problème. Certains tests ont aussi obtenu les approbations de l'American Association of Cereal Chemists International (AACC International).

Bien qu'une méthode immunologique soit recommandée pour les analyses relatives au gluten, l'utilisation d'autres méthodes n'est pas exclue. Une grande variété d'approches analytiques ont été élaborées et sont actuellement utilisées, y compris des méthodes

fondées sur l'ADN et des méthodes protéomiques. Les entreprises doivent choisir la méthode d'analyse qui convient le mieux à leurs besoins en fonction du type d'aliments qu'ils produisent et du type de contamination possible. Il peut souvent être difficile de choisir la méthode d'analyse adéquate. Certaines méthodes produisent des résultats quantitatifs, alors que d'autres donnent des résultats qualitatifs. Certaines techniques produisent des résultats en moins de 15 minutes, tandis que d'autres nécessitent plusieurs heures.

Chaque méthode utilise un processus d'analyse similaire. Les premières étapes essentielles concernent l'échantillonnage et la préparation des échantillons. Étant donné qu'une quantité très minime de produit est testée, il est important de choisir un échantillon représentatif du produit entier. Il est possible d'obtenir un échantillon représentatif en utilisant un plan d'échantillonnage reconnu et des méthodes statistiques. Des plans d'échantillonnage efficaces peuvent être formulés en tenant compte de la taille du lot, de l'homogénéité et de la nature de l'échantillon. Un échantillon non représentatif ne fournira pas des résultats d'analyse qui reflètent réellement le processus de production avec un haut niveau de confiance. L'étape de préparation des échantillons peut inclure le séchage, le broyage, le meulage pour obtenir une poudre et le mélange. Les protéines sont ensuite extraites et les échantillons sont analysés à l'aide de différentes techniques. Finalement, les résultats sont interprétés en tenant compte des limites de la méthode.

4.1 Techniques immunochimiques

Les techniques immunochimiques sont les méthodes les plus fréquemment utilisées pour l'analyse du gluten dans les aliments. Les essais d'immunoabsorption enzymatique (ELISA) sont basés sur des **anticorps** dirigés contre des séquences d'**acides aminés** précises (nommées **épitopes**), et le résultat est visible à l'aide d'une réaction colorée quantifiable (49). Les immuno-essais sont précis, sensibles et faciles à utiliser, particulièrement pour les analyses de routine. Ils nécessitent de l'équipement relativement peu coûteux et donnent des résultats rapidement pour une grande variété d'aliments (50). Il est possible d'effectuer plusieurs analyses simultanément en seulement quelques minutes à quelques heures. Par contre, certaines matrices alimentaires peuvent être difficiles à analyser en raison des interférences de matrice et des réactions croisées (voir section 4.1.4). Les trousseaux d'analyse ELISA sont offerts sous deux formats : de type sandwich et de type compétitif.

Dans les trousseaux d'analyse ELISA de type sandwich, un **anticorps** de surface est attaché au fond des puits d'une microplaque pour détecter l'**antigène** (c'est-à-dire la protéine de gluten). Un **anticorps** de détection se lie ensuite à l'**antigène** fixé à l'**anticorps** de surface

puis un **enzyme** lié provoque une réaction colorée (5). La concentration de l'**antigène** est calculée en comparant la mesure d'absorbance à la courbe d'étalonnage de référence. Cette méthode est fiable pour évaluer la teneur en gluten des aliments lorsque les protéines de gluten sont intactes ou relativement intactes. Toutefois, elle ne convient pas pour mesurer la teneur en gluten des protéines fortement hydrolysées ou fermentées. En effet, la taille de ces protéines n'est pas toujours suffisante pour que les **anticorps** se fixent à deux sites de liaison différents, entraînant ainsi une sous-estimation de la teneur en gluten (51). Le cas échéant, la méthode de type compétitif doit être utilisée.

Lors de l'utilisation des trousseaux d'analyse ELISA de type compétitif, une quantité connue de la protéine de référence est liée à une plaque recouverte. L'échantillon est mélangé aux **anticorps** liés aux **enzymes** et le mélange est ajouté à la plaque ELISA. Une compétition pour les sites de liaison a lieu durant l'incubation. Après le lavage, le substrat enzymatique est ajouté et une réaction colorée pouvant être comparée à la courbe d'étalonnage se produit. Dans ce test, l'intensité de la réaction colorée est inversement proportionnelle à la quantité d'**antigènes** dans l'échantillon. Les méthodes ELISA de type compétitif utilisent seulement un **anticorps** et conviennent donc à la détection des protéines de petite taille et hydrolysées (5). Toutefois, le résultat de cette méthode peut ne pas être aussi précis que la méthode de type sandwich pour les protéines intactes, car un seul site de liaison est requis, ce qui peut influencer la spécificité du résultat du test (3).

Des trousseaux d'analyse qualitatives ELISA comme les tests à bandelette (lateral flow devices) sont aussi offerts sur le marché. Dans ce test, une ligne d'**anticorps** est fixée à une bandelette. Lorsque la solution d'**extraction** du gluten est absorbée par la bandelette, l'échantillon et les **anticorps** migrent ensemble vers la surface de la bandelette. Si l'échantillon contient du gluten, les **anticorps** reconnaîtront les **épitopes** spécifiques et se lieront à ceux-ci, comme dans le test d'analyse de type sandwich. Le complexe s'accumulera sur la surface de la bandelette et la réaction deviendra visible si une concentration précise est atteinte (51). Une ligne de contrôle apparaît sur la bandelette si le test fonctionne correctement. Les versions simplifiées de la méthode ELISA offrent une lecture directe des résultats en moins de 15 minutes et ne nécessitent aucun matériel de laboratoire. Elles sont donc moins coûteuses et requièrent moins d'expertise. Toutefois, les échantillons sont analysés individuellement et les résultats sont parfois difficiles à lire.

Plusieurs entreprises offrent différents types de trousseaux d'analyse ELISA sur le marché et l'annexe 1 présente leurs principales caractéristiques. Lorsqu'elles sont comparées entre elles, les trousseaux d'analyse ne donnent pas nécessairement des résultats similaires. Les **anticorps** ciblent différentes séquences de **peptides**, des standards différents sont utilisés pour l'étalonnage et les protocoles d'**extraction** diffèrent (49) (4). De plus, il n'est pas

possible d'effectuer une mesure précise, car les tests ELISA ne peuvent pas distinguer la source des céréales et un facteur standardisé de multiplication par deux est souvent utilisé pour calculer la teneur totale en gluten (49). Cette prédiction est basée sur l'hypothèse que les gliadines fournissent environ 50 % des protéines de gluten dans le blé, mais ce nombre varie en fonction des variétés et des cultivars de céréales, tel que mentionné à la section 1.2 (4). Pour surmonter ce problème, des études récentes ont suggéré d'élaborer des méthodes fondées sur la reconnaissance des gliadines et des gluténines, en combinaison avec un matériel de référence adapté (52).

4.1.1 Anticorps

Les différentes trousse d'analyse commerciales offertes sur le marché utilisent différents types d'**anticorps**, principalement les **anticorps** Skerritt, R5 et G12. Chaque **anticorps** réagit avec des sites distincts de différents **peptides**, et ce, à un degré différent. Les différentes fractions protéiques du gluten ont été précédemment détaillées au tableau 1 de la première section de ce document. Vous pouvez vous y référer pour une meilleure compréhension.

4.1.1.1 Anticorps Skerritt

Cet **anticorps** (401.21) a été créé par Skerritt et Hill à la fin des années 1980 (5). Cet **anticorps** monoclonal reconnaît principalement les HMW gluténines, vraisemblablement les LMW gluténines et les ω -gliadines et, dans une plus petite mesure, les α -gliadines et les γ -gliadines (52). Plus précisément, il reconnaît les **épitopes** PQQPFPQE et PQQPPFEE (50). Cet **anticorps** peut être utilisé autant avec les aliments crus qu'avec les aliments transformés puisque les fractions de ω -gliadine sont thermostables. Cependant, les résultats peuvent différer considérablement, car la quantité de ω -gliadines varie grandement entre les espèces et les variétés de céréales (53). Il a été établi que cet **anticorps** réagissait faiblement aux **prolamines** d'orge, qu'il sous-estimait les gliadines dans le blé et qu'il surestimait les **prolamines** dans le triticale et le seigle (4). De plus, il a aussi été démontré que l'anticorps Skerritt avait une plus forte affinité avec les gluténines qu'avec les gliadines, ce qui pourrait causer des erreurs de calcul de la teneur totale en gluten en fonction du matériel de référence utilisé (54).

La première méthode ELISA offerte sur le marché pour la détection du gluten fut un test de type sandwich basé sur l'anticorps Skerritt qui a été adopté en tant que méthode officielle 991.19 de l'AOAC en 1995. Elle a été utilisée pendant plusieurs années pour l'analyse du gluten (51). À cette époque, cette méthode avait une limite de quantification (LOQ) de 160 ppm de gluten, ce qui n'est pas compatible avec les réglementations actuelles. De nos jours, la performance des trousse d'analyse ELISA basées sur cet **anticorps** et actuellement offertes sur le marché a été grandement amélioré. La limite de

détection (LOD) est maintenant aussi faible que 5 ppm de gluten. Toutefois, seule la méthode originale et moins sensible a reçu le titre de méthode officielle de l'AOAC (55).

4.1.1.2 Anticorps R5

L'**anticorps** R5 a été développé par Méndez pour cibler les ω -sécalines du seigle. Cet **anticorps** monoclonal réagit aussi fortement avec les α -gliadines et les γ -gliadines ainsi que possiblement avec les ω -gliadines (52). Une réactivité limitée a été observée avec les fractions de gluténine. Toutefois, le R5 se lie parfois à certaines fractions de LMW gluténine, ce qui pourrait entraîner une surestimation de la teneur totale en gluten dans le blé (55). Cet anticorps surestime aussi les hordéines de l'orge (56). Des analyses ont révélé que l'anticorps R5 réagit principalement avec l'**épitope** QQPFP, mais qu'il reconnaît aussi d'autres **épitopes** potentiellement nocives pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque comme le LQPFP, le PQPFP, le QLPFP, le QLPYP, le QQTFP et le QQPFP, bien que leur réactivité soit plus faible (5) (4). Il a d'abord été découvert qu'il présentait une réaction croisée avec les protéines de soja et de lupin (53), mais les protocoles d'**extraction** ont été adaptés en utilisant une solution cocktail plutôt qu'une solution d'éthanol, ce qui a éliminé les faux positifs (5).

Depuis 2006, la trousse d'analyse de type sandwich R5 ELISA RIDASCREEN® Gliadin est approuvée par la Commission du **Codex Alimentarius** pour la détection du gluten dans les aliments sans gluten (57). En 2012, elle a aussi été approuvée par l'institut de recherche de l'AOAC en tant que méthode officielle de première action à la suite d'une étude interlaboratoire (58). Elle est particulièrement recommandée pour l'analyse du gluten dans les matrices de maïs (50). Elle a aussi reçu l'approbation de l'American Association of Cereal Chemists International (**AACCI**).

4.1.1.3 Anticorps G12

L'**anticorps** monoclonal G12 reconnaît précisément le 33-mer (LQLQFPQPQLPYQPQLPY) de la protéine de gliadine. Il a été démontré que ce **peptide** est l'un des principaux facteurs de l'immunotoxicité du gluten (8). Des tests utilisant l'**anticorps** G12 ont été développés après que des chercheurs aient recommandé de mettre à jour le concept de la détection du gluten afin de prendre en considération l'immunotoxicité du gluten. Plus précisément, cet **anticorps** reconnaît les séquences QPQLPY (blé), QPQQPY (seigle) et QPQLPF (orge) (5). Il n'a démontré aucune réactivité croisée avec le soja, le maïs ou le riz (53). Il diffère des autres anticorps, car il réagit positivement à certaines variétés d'avoine qui sont soupçonnées déclencher une réaction chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque (53). Il a même été suggéré que le G12 pourrait être un outil fiable pour

détecter les variétés d'avoine potentiellement sécuritaires pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque (43).

La trousse d'analyse AgraQuant® ELISA Gluten G12 a été acceptée par l'AOAC INTERNATIONAL en tant que méthode officielle de première action et a reçu l'approbation de l'American Association of Cereal Chemists International (**AACCI**) (59). Toutefois, le comité de la Commission du **Codex Alimentarius** s'est entendu pour ne pas inclure la méthode ELISA G12 dans la *Norme pour les aliments diététiques ou de régime destinés aux personnes souffrant d'une intolérance au gluten* (CODEX STAN 118-1979), car il manque encore les résultats de l'étude de comparabilité avec la méthode R5. Cette méthode pourrait être considérée ultérieurement, lorsque les résultats des études de comparabilité en cours effectuées par l'International Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity seront accessibles (60).

4.1.1.4 Anticorps polyclonaux

Contrairement aux **anticorps** monoclonaux, les **anticorps** polyclonaux détectent plus d'un **épitope** sur le même **antigène**, ce qui les rend moins précis et pourrait donner des résultats inexacts. D'autre part, ils sont généralement très sensibles. Par exemple, la trousse ELISA Wheat/gluten (gliadin) de la Morinaga Institute of Biological Science inc. a une limite de détection aussi faible que 0,26 ppm de gluten. Cet **anticorps** se lie spécifiquement à la gliadine du blé, mais peut aussi reconnaître les hordéines de l'orge et les sécalines du seigle à un degré moindre avec une réaction plus faible. Ce test a été validé par une étude interlaboratoire appuyée par le ministère de la Santé, du Travail et du Bien-être du Japon. La FDA l'utilise et le recommande, conjointement avec le test d'analyse RIDASCREEN® Gliadin, comme méthode d'application des réglementations pour les produits sans gluten.

4.1.2 Matériel de référence

La PWG-gliadine produite dans le cadre du Prolamin Working Group (PWG) est actuellement le matériel de référence le plus reconnu à l'échelle internationale. La PWG-gliadine a été produite en effectuant l'extraction de la gliadine dans les 28 variétés de blé européennes les plus fréquemment cultivées (61). Plusieurs autres étalons ont été calibrés avec ce matériel de référence, tel que la gliadine du blé G3375-SIGMA de Sigma-Aldrich.

Le choix d'un matériel de référence adéquat est l'un des plus grands défis de l'évaluation quantitative du gluten, car ce dernier est un groupe complexe de protéines et sa composition peut varier grandement dans les différentes matrices alimentaires. Certains auteurs ont suggéré d'utiliser des étalons spécifiques en fonction des applications (62). Par exemple, il a été démontré que les étalons d'orge, présents dans certaines trousse

d'analyse, offraient une meilleure évaluation quantitative dans les échantillons contaminés par l'orge. Cependant, le plus souvent, le type de contamination dans un échantillon demeure inconnu et cette contamination ne provient pas nécessairement d'une seule variété.

Les procédés de fabrication peuvent aussi modifier le contenu en gluten de certains produits. Le choix du bon matériel de référence est particulièrement complexe en ce qui concerne les produits hydrolysés et fermentés en raison des différences dans le type et le degré d'**hydrolyse**. Récemment, un étalon spécifique a été élaboré pour quantifier le gluten partiellement hydrolysé dans les produits de blé, de seigle et d'orge fermentés avec des trousse d'analyse de type compétitif. Cet étalon a été préparé à partir d'un mélange de fractions de **prolamine** isolées de farines d'orge et de seigle avec le matériel de référence PWG-gliadine, qui ont tous deux été digérés successivement. Toutefois, certains auteurs ont suggéré que ce matériel de référence pourrait ne pas imiter parfaitement le gluten fragmenté ou partiellement hydrolysé se trouvant dans la bière et que des améliorations sont donc nécessaires (28) (63). D'autres matériaux de référence ont aussi été préparés afin de mieux quantifier une contamination par de l'orge et du seigle dans les échantillons.

4.1.3 Protocoles d'extraction

La gliadine peut facilement être extraite en utilisant des solutions d'éthanol pour les aliments non transformés. Cependant, il a été découvert que ce type d'**extraction** est substantiellement moins efficace pour les échantillons de produits transformés. Les fabricants de trousse d'analyse ont donc élaboré différentes solutions cocktails pour améliorer la récupération. Par exemple, le cocktail de R-Biopharm est composé d'un mélange de β -mercaptoéthanol, un agent réducteur, et de chlorhydrate de guanidine, un agent de dissociation, dilués dans une solution saline tamponnée au phosphate (64). D'autres fabricants de trousse d'analyse utilisent aussi des solutions cocktails ou des additifs similaires.

Malheureusement, l'utilisation de solutions cocktails entraîne aussi l'**extraction** de certaines gluténines, ce qui peut causer une surestimation de la teneur finale en gluten si l'**anticorps** utilisé se lie aussi à ces fractions (49). Un autre inconvénient de l'**extraction** par solution cocktail est qu'elle n'est pas compatible avec les méthodes de type compétitif. Néanmoins, le UPEX (Universal Prolamin and Glutelin Extractant Solution) a récemment donné des résultats prometteurs pour résoudre ce problème (51) et pourrait bientôt être commercialisé.

4.1.4 L'importance de la validation

Les aliments sont des matrices complexes formées de différents constituants et l'interaction entre leurs ingrédients peut avoir une incidence sur l'efficacité de l'**extraction** et la détection des protéines de gluten. Les étapes de transformation comme la cuisson, l'extrusion, le séchage, la purification, la **fermentation** et l'**hydrolyse** peuvent modifier la structure des protéines. De plus, certaines matrices alimentaires, comme les aliments contenant une grande quantité de polyphénols ou de tanins (p. ex. le thé, le houblon, les produits à base de cacao, le café, les épices, la farine de châtaigne, le sarrasin et le millet) peuvent interférer avec la détection du gluten dans les aliments en raison de leur interaction avec les protéines. Il est possible d'éviter une sous-estimation de la teneur en **prolamine** en ajoutant des additifs d'**extraction** comme de la gélatine à base de poisson, de la poudre de lait écrémé, de la polyvinylpyrrolidone (PVP) ou de l'urée à la solution d'**extraction** (3). Ces additifs peuvent rompre les interactions entre la protéine de gluten et les polyphénols. D'autres éléments peuvent affecter la quantification du gluten tels qu'une réactivité croisée avec d'autres céréales, la présence d'un acide ou d'un alcali puissant, une teneur élevée en sel, une teneur élevée en gras ou encore la présence d'une gomme alimentaire (65). Les fournisseurs de trousse d'analyse rendent souvent accessibles les études sur la réactivité croisée.

Une **validation** doit toujours être effectuée pour chaque type de matrice avant d'utiliser une méthode de détection afin d'éviter une mauvaise interprétation (50). Les fabricants de trousse d'analyse peuvent vous aider dans l'élaboration de protocoles d'**extraction** et de **validation** pour des matrices spéciales. La **validation** des échantillons consiste à ajouter une quantité connue de gluten dans une matrice et de tenter de récupérer la même quantité (66). Les taux de récupération acceptables suggérés varient de 80 à 120 %. Toutefois, dans le cas du gluten, une récupération de 50 à 150 % est généralement considérée comme étant acceptable, pourvu qu'elle soit constante (66). Il est important de tenir compte du fait que même si l'AOAC a reconnu plusieurs trousse d'analyse au cours des dernières années, les études de **validation** ont seulement été menées sur un nombre limité de matrices alimentaires.

4.2 Méthodes fondées sur la génomique

Les méthodes fondées sur l'ADN s'appuient sur l'amplification de fragments d'acide désoxyribonucléique (ADN) à l'aide des méthodes conventionnelles d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) ou de la PCR en temps réel (49). L'ADN est tout d'abord extrait de l'échantillon, puis les gènes cibles sont sélectionnés à des fins de détection. Les méthodes PCR amplifient ensuite de petits fragments de l'ADN cible jusqu'à ce qu'un nombre suffisant de copies soit obtenu pour la visualisation ou la quantification. Il est possible d'ajouter un colorant fluorescent pour obtenir une meilleure quantification (66).

Ces méthodes ont été développées dans les années 1980 et sont relativement rapides et sensibles (66). Par exemple, la trousse d'analyse SureFood® ALLERGEN QUANT Gluten indique une limite de détection aussi basse que 0,04 ppm (67). Cette trousse d'analyse par PCR en temps réel est un peu plus coûteuse que les trousse d'analyse ELISA.

Une comparaison entre les méthodes immunochimiques et les méthodes PCR donne une bonne corrélation entre les résultats obtenus (68). Par contre, comme cette méthode ne détecte pas directement les protéines de gluten, mais plutôt le gène qui code la protéine, il est possible d'obtenir des faux positifs ou des faux négatifs pour certaines matrices (69). En fait, l'ADN peut exister sans la présence de protéines, par exemple dans les échantillons d'amidon de blé (5). De plus, la teneur en ADN pourrait ne pas corrélérer avec la concentration des protéines de gluten puisque le rapport protéine/ADN varie généralement en fonction du degré d'expression des gènes (49). Un autre inconvénient majeur est que les échantillons fortement transformés ou hydrolysés ne peuvent pas être analysés par cette méthode en raison de l'importante destruction et dégradation de l'ADN qui rend l'amplification difficile ou impossible (70) (50).

Toutefois, les méthodes fondées sur l'ADN sont utiles pour établir la nature du gluten dans les cas de contamination où les méthodes immunochimiques ne conviennent pas. Par exemple, elles ont été désignées comme des méthodes acceptables pour détecter une contamination croisée avec le blé dans les échantillons d'avoine (71). Finalement, certaines techniques ont permis de détecter plusieurs allergènes en un seul test (69).

4.3 Approche protéomique

Les méthodes protéomiques sont basées sur la séparation des protéines et l'identification des protéines individuelles (4). Premièrement, un échantillon est mélangé avec un tampon d'**extraction** contenant généralement des agents réducteurs pour briser les liaisons disulfures des protéines (66). Les protéines sont extraites des autres constituants qui pourraient avoir une incidence sur la résolution du profil protéique comme les sels, les protéases, les polysaccharides, les acides nucléiques, les lipides, les phénols et autres (4). La teneur en protéines totales est ensuite mesurée et le mélange de protéines est digéré enzymatiquement en de petits fragments de **peptides** qui sont séparés par la suite. La séparation des **peptides** peut être effectuée à l'aide de différentes techniques, y compris la chromatographie en phase liquide, les techniques électrophorétiques ou la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (4). Finalement, une spectrométrie de masse est effectuée pour recueillir des données sur chaque **peptide** et celles-ci seront comparées aux bases de données afin d'identifier la séquence d'**acides aminés** des **peptides**.

Les techniques de séparation sont utiles pour caractériser et identifier les **peptides** avec une sensibilité élevée (49). Par exemple, les études d'électrophorèse ont permis aux scientifiques de séparer les fractions de gliadine en quatre groupes en fonction de leur poids moléculaire et de leur charge électrique (α , β , γ et ω). La spectrométrie de masse a été utilisée pour identifier les **peptides** toxiques associés à la maladie cœliaque (72). Toutefois, les méthodes protéomiques s'appuient sur les informations publiées dans les bases de données et, actuellement, un nombre limité de séquences de blé, d'orge et de seigle γ sont enregistrées (3). Des recherches plus approfondies sont encore nécessaires pour que cette méthode puisse être utilisée efficacement pour analyser une grande variété de produits sans gluten. De plus, dans certains cas, il est difficile d'exprimer les résultats obtenus dans les mêmes unités que celles précisées dans le règlement, soit en ppm ou mg/kg (50).

Toutefois, la spectrométrie de masse combinée à la chromatographie liquide est particulièrement prometteuse pour obtenir une quantification précise du gluten. Au cours des dernières années, l'utilisation de cette méthode a augmenté et celle-ci a démontré un excellent potentiel pour l'analyse du gluten (49). Par exemple, il a été possible de détecter le blé dans des farines d'avoine sans gluten à une concentration d'environ 1 ppm (72). Cette méthode a aussi été utilisée pour mesurer les **peptides** dans les boissons fermentées comme la bière, alors que certaines méthodes ELISA ont échoué (56). Cette méthode peut atteindre un niveau de précision très élevé (66) et dépister de nombreux allergènes à l'aide d'une seule analyse. Il a été démontré qu'elle est un outil efficace pour confirmer les résultats de la méthode ELISA en cas de doute par rapport à sa capacité à cibler la protéine. Par contre, cette méthode nécessite plus de travail que les autres approches utilisées pour l'analyse du gluten et nécessite un grand niveau d'expertise, en plus de matériel de laboratoire spécialisé et coûteux (49).

4.4 Méthode d'analyse non spécifique de surface

4.4.1 Détection des protéines totales

Les tests de détection des protéines totales permettent à l'industrie de vérifier la propreté des surfaces en mesurant la quantité de protéines restantes après le nettoyage. Ce test est basé sur la réaction du biuret selon laquelle un ion de cuivre forme un complexe coloré en présence de liaisons **peptidiques** dans un milieu alcalin. Il est ensuite possible de comparer la couleur à une charte de couleurs pour évaluer le degré de contamination.

Les méthodes basées sur l'analyse des protéines totales sont sensibles, peu coûteuses, faciles à transporter et à utiliser, rapides et offertes par plusieurs fabricants. Toutefois, les sucres réducteurs, l'acide urique, l'acide ascorbique, les tanins et certains désinfectants

peuvent causer de l'interférence, produisant ainsi des faux positifs et des faux négatifs. Puisque cette méthode n'est pas spécifique au gluten, elle devrait seulement être utilisée en tant qu'indicateur. Il est possible de l'utiliser pour une **vérification** générale de la propreté. Toutefois, elle devrait toujours être validée à l'aide de méthodes spécifiques.

4.4.2 ATP-métrie par bioluminescence

L'ATP-métrie par bioluminescence est aussi une méthode qui permet de vérifier rapidement la propreté des surfaces. Elle est fondée sur la détection de l'adénosine triphosphate (ATP), une molécule chimique utilisée pour transporter l'énergie dans les cellules qui se retrouve dans tous les organismes vivants. En d'autres mots, les méthodes ATP mesurent les résidus organiques restants sur une surface. Un **enzyme** convertit les résidus d'ATP se trouvant sur les surfaces après le nettoyage en un signal lumineux mesuré à l'aide d'un luminomètre. Les résultats sont exprimés en unités relatives de lumière (URL).

Cette méthode est largement utilisée par l'industrie, car elle permet de démontrer rapidement l'efficacité des procédures de nettoyage et la propreté générale des surfaces. Il s'agit d'une méthode sensible et moins coûteuse que les méthodes ELISA. Toutefois, comme les méthodes ATP ne peuvent pas faire la distinction entre les différentes sources d'ATP, elles ne doivent pas être favorisées par rapport à d'autres méthodes spécifiques au gluten. De plus, les résultats analytiques devraient être interprétés avec prudence, car il est difficile d'établir une limite acceptable. Cette méthode devrait donc uniquement être utilisée en complément à d'autres méthodes spécifiques au gluten dans un programme complet de **vérification**.

4.5 Technologies émergentes dans la détection du gluten

Étant donné que la détection du gluten demeure un problème analytique complexe, de nombreux efforts ont été déployés au cours des dernières années. Les technologies émergentes ont démontré qu'il était possible de détecter rapidement plusieurs allergènes de manière simultanée. Par exemple, un essai basé sur des billes magnétiques a permis de détecter simultanément 14 allergènes différents, y compris le gluten, dans une seule plaque de microtitration, et ce, en moins de six heures (73).

Les biocapteurs ont aussi donné des résultats prometteurs en utilisant différents éléments de reconnaissance biologique (69). Plusieurs dispositifs ont été conçus selon une réaction **anticorps-antigène** ou parfois selon une approche basée sur l'ADN. Ces dispositifs sont généralement faciles à utiliser et peu coûteux, et ils permettent d'obtenir rapidement des résultats (74). Par exemple, le test Nima est un dispositif portatif qui utilise des capteurs électroniques pour détecter le gluten en moins de cinq minutes. Il suffit d'insérer un petit échantillon d'aliment dans une capsule jetable. La capsule est

ensuite chargée dans l'appareil Nima, puis l'échantillon est automatiquement broyé en petites particules avec une solution tampon d'extraction. Une fois que l'échantillon est prêt, la solution est transférée sur une bandelette-test préchargée d'anticorps, ce qui rend la réaction chimique possible. Une paire d'anticorps que se lie au fragment 33-mer de gluten est utilisée, de manière similaire aux autres trousse d'analyse ELISA. Le résultat qualitatif du test est affiché directement sur le dispositif et synchronisé sur l'application mobile. Il s'agit d'une technologie rapide qui permet aux utilisateurs du test d'obtenir des résultats sans l'utilisation de matériel de laboratoire. Selon le fabricant, ce dispositif peut détecter un niveau très faible de gluten (c.-à-d. inférieur à 2 ppm). Cependant, le fabricant de la trousse d'analyse Nima n'a pas encore publié de rapport de validation dans la littérature scientifique. De plus, des faux positifs et faux négatifs ont été obtenus avec cette trousse d'analyse lors d'une comparaison avec d'autres méthodes validées (75). Bien que cette technologie présente de nombreux avantages, son utilisation par les entreprises de produits alimentaires n'est pas recommandée.

Malgré tout, plusieurs avancées scientifiques ont permis dans les dernières années de développer de nouvelles méthodes d'analyse prometteuses et d'améliorer les méthodes existantes.

Conclusion

Le gluten est une source importante de protéine qui peut être utilisé à plusieurs fins en raison de ses propriétés physicochimiques variées. On le retrouve dans le blé, l'orge, le seigle, l'avoine et leurs variétés croisées. Toutefois, l'autorisation de l'avoine pure sans gluten varie à travers le monde, car elle est considérée sécuritaire pour la plupart des personnes atteintes de la maladie cœliaque.

Le gluten est parfois dissimulé dans des sources inattendues comme les médicaments, les saucisses, les sauces et les assaisonnements. Une contamination croisée peut aussi se produire entre autre durant la récolte, l'entreposage, le transport et la transformation de produits considérés naturellement sans gluten. Des méthodes de détection appropriées doivent donc être sélectionnées pour assurer une détection et une quantification adéquates du gluten dans une grande variété d'aliments. Chaque méthode possède ses avantages et désavantages.

Les méthodes immunochimiques sont les plus utilisées pour la détection du gluten, car elles offrent des résultats spécifiques en peu de temps. Plusieurs de ces méthodes ont été validées et reconnues par l'AOAC. Les méthodes quantitatives sont généralement plus sensibles que les méthodes qualitatives. Les trousse d'analyse ELISA quantitatives sont principalement utilisées dans des laboratoires externes, car la personne effectuant l'analyse doit posséder certaines connaissances techniques et utiliser certains équipements de laboratoire. D'un autre côté, les tests à bandelette offrent une solution rapide, économique et facile à utiliser pour l'industrie des produits sans gluten. D'ailleurs, les analyses peuvent être réalisées dans leurs propres installations. D'un autre côté, ces méthodes qualitatives sont moins fiables pour certaines matrices, moins sensibles et possèdent des limites de détection plus élevées.

Il est important de noter que les trousse d'analyse ELISA peuvent donner des résultats différents d'une trousse à l'autre. La différence entre les résultats d'analyse s'explique par les différents types d'anticorps utilisés, les différents matériaux de référence ainsi que les différentes méthodes d'**extraction**. De plus, certaines matrices peuvent produire une réaction croisée avec certains **anticorps**, alors que d'autres constituants peuvent aussi causer de l'interférence. Ainsi, chaque matrice devrait idéalement être validée afin de vérifier la récupération du gluten.

En conclusion, il n'existe actuellement aucune méthode d'analyse parfaite pour détecter et quantifier le gluten dans tous les types d'aliments. Chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque, le gluten déclenche une réaction en chaîne similaire à la réaction **antigène-anticorps** utilisée dans les méthodes immunochimiques. Cependant, le gluten est un groupe de protéines extrêmement complexe qui cause une grande variété de

troubles touchant différents mécanismes. Cette complexité représente un défi important pour l'élaboration de méthodes pouvant quantifier de manière précise le gluten dans tous les aliments. Davantage de recherches sont nécessaires pour améliorer les méthodes de quantification du gluten.

Les trousseaux d'analyse ELISA restent adéquates et font partie des meilleures méthodes de détection et de quantification du gluten pour une grande variété de matrices alimentaires. Des méthodes complémentaires comme le PCR et la spectrométrie de masse peuvent être utilisées pour confirmer la source de contamination, ce qui ne peut pas être effectué à l'aide des méthodes ELISA.

L'analyse d'échantillons devrait toujours faire partie intégrante d'un système de sécurité alimentaire afin d'améliorer la confiance par rapport aux résultats visés, du début à la fin. Les entreprises devraient développer des plans d'échantillonnage documentés et validés dans le cadre de leur système de contrôle du gluten afin d'appuyer leurs allégations sans gluten.

Glossaire

AACCI : AACCI International est une association mondiale sans but lucratif regroupant plus de 2 000 scientifiques et professionnels de l'industrie alimentaire œuvrant pour faire progresser la compréhension et la connaissance de la science des céréales et de ses applications de développement de produits par la recherche, le leadership et l'éducation.

Albumine : L'albumine forme un groupe de protéines globulaires. L'albumine n'est pas toxique pour les personnes atteintes de la maladie coéliquaue, mais elle peut causer des réactions allergiques si elle se lie aux anticorps humains IgE. Elle est soluble dans les solutions aqueuses et modérément soluble dans les solutions salines concentrées. Elle se dénature lorsqu'elle est chauffée.

Acide aminé : Les acides aminés sont des molécules contenant un groupement carboxylique, un atome d'hydrogène, un groupement amino et un groupe latéral organique lié à un atome de carbone. Les acides aminés sont reliés par des liaisons peptidiques pour former une longue chaîne de ce qu'on appelle les protéines. Il existe 22 acides aminés différents dans la nature.

Anticorps : Un anticorps est une protéine de grande taille en forme d'Y qui est produite par les cellules B après avoir été stimulée par un agent appelé antigène. Les anticorps, aussi appelés immunoglobulines (Ig), font partie du système immunitaire et reconnaissent un épitope précis sur un antigène, ce qui permet à l'anticorps et à l'antigène de se lier. Les anticorps sont aussi utilisés avec les troussees d'analyse ELISA pour détecter la présence d'une substance précise.

Antigène : Un antigène est une substance pouvant provoquer une réaction immunitaire. Le cas échéant, l'hôte produira des anticorps spécifiques contre l'antigène lorsque les cellules du système immunitaire entrent en contact avec ce dernier.

Codex Alimentarius : Le Codex Alimentarius est un ensemble de normes, de codes de pratique, de directives et d'autres recommandations relatives aux aliments qui est reconnu à l'échelle mondiale. Ses textes sont écrits et tenus à jour par la Commission du Codex Alimentarius qui a été créée en 1963 par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) dans le but de protéger la santé des consommateurs et d'assurer des pratiques équitables dans le commerce alimentaire international.

Désamination : La désamination est un processus caractérisé par le retrait d'un groupement amino pour modifier la structure d'une protéine.

Enzymes : Un enzyme est un type de protéine qui accélère ou catalyse une réaction chimique.

Épitope : Un épitope est le segment spécifique d'un antigène auquel l'anticorps se lie. Il est composé d'une série d'acides aminés.

Extraction : L'extraction est l'action de séparer une substance d'une autre à l'aide d'un solvant. Extraire le gluten d'un aliment est la première étape pour détecter le gluten. Toutefois, puisque le gluten n'est pas soluble dans l'eau, un processus d'extraction spécial est nécessaire pour séparer le gluten dans une matrice alimentaire.

Fermentation : La fermentation est une réaction métabolique qui convertit le sucre en acides, en gaz et en alcool. Ce processus est largement utilisé pour produire des aliments et des boissons (p. ex. cornichons, kimchi, fromage, bière, yogourt, etc.). Si des protéines de gluten sont présentes, elles seront décomposées en petits fragments de peptides durant la fermentation. Ce processus se nomme l'hydrolyse.

Globulines : Les globulines sont un groupe de protéines globulaires présent chez les espèces animales et les plantes. Les protéines globulines ne sont pas toxiques pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque, mais elles peuvent causer des réactions allergiques si elles se lient aux anticorps humains IgE. Elles sont insolubles dans l'eau, mais se dissolvent dans les solutions salines diluées.

Glutélines : Les glutélines sont un groupe de protéines de réserve des plantes présent dans les graines de céréales. Avec les prolamines, elles forment le gluten. La glutéline présente dans le blé est la plus commune, mais on en retrouve aussi dans l'orge et le seigle. Les glutélines sont principalement responsables des propriétés panifiables du blé. Elles sont riches en acides aminés phénylalanine, valine, arginine, leucine et proline. Elles sont solubles dans les acides ou les bases diluées, les détergents et les agents réducteurs.

Hydrolyse : L'hydrolyse est un procédé chimique dans lequel une molécule d'eau est ajoutée à une substance, causant ainsi le clivage des liaisons chimiques et, par conséquent, la dégradation de la substance. L'hydrolyse des protéines permet de créer de plus petites molécules comme les acides aminés.

Peptides : Les peptides sont de courtes chaînes d'acides aminés libres liées par des liaisons peptidiques.

Prolamines : Les prolamines sont un groupe de protéines de réserve des plantes présent dans les graines de céréales comme le blé (gliadine), l'orge (hordéine), le seigle (sécaline), le maïs (zéine), le sorgho (kafirine) et l'avoine (avénine). Avec les gluténines,

les prolamines forment le gluten. Elles sont caractérisées par une forte teneur en glutamine et en proline. Elles sont généralement solubles uniquement dans des solutions d'alcool fortes.

Transamination : La transamination est un processus visant à produire des acides aminés. Les enzymes transglutaminases sont largement utilisés dans différents procédés de fabrication afin d'améliorer la fermeté, la viscosité et l'élasticité des aliments comme le fromage, les produits laitiers, la viande et les produits de boulangerie.

Validation : La validation est la collecte et l'évaluation de renseignements scientifiques, techniques et liés à l'observation pour déterminer si les mesures de contrôle atteignent leur objectif précis en matière de contrôle des risques. La validation nécessite de mesurer la performance par rapport à une cible ou un résultat de sécurité alimentaire déterminé en fonction d'un niveau requis de contrôle des risques.

Vérification : La vérification est l'utilisation de méthodes, de procédures, d'analyses ou d'autres méthodes d'évaluation, en plus de la surveillance, pour déterminer si une mesure de contrôle fonctionne ou a fonctionné comme prévu.

Bibliographie

1. **Health Canada.** Celiac Disease. [Online] [Cited: 01 20, 2017.] <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/allerg/cel-coe/index-eng.php>.
2. **Codex Alimentarius Commission. Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization Food Standards.** *Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten (CODEX STAN 118-1979).* 2008.
3. **Mena, M Carmen and Sousa, Carolina.** *Analytical Tools for Gluten Detection. Policies and Regulation.* In Arranz E, Fernandez-Banares F. Rosell CM, Rodrigo L, Pena AS, editors. *Advances in the understanding of Gluten related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods.* Barcelona, Spain : OmniaScience, 2015. pp. 527-564.
4. **Haraszi, Reka, et al.** Analytical Methods for Detection of Gluten in Food - Method Developments in Support of Food Labeling Legislation. *Journal of AOAC INTERNATIONAL.* 2011, Vol. 94, pp. 1006-1025.
5. **Kanerva, Päivi.** *Immunochemical analysis of prolamins in gluten-free foods.* Helsinki, Finland : Department of Food and Environmental Sciences, University of Helsinki, 2011.
6. **Jacek, Waga.** Structure and Allergenicity of Wheat Gluten Proteins - A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences.* 2004, Vol. 13/54, 4, pp. 327-338.
7. **Wieser, Herbert.** Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology.* 2007, Vol. 24, pp. 115-119.
8. **de Lourdes Moreno, María, et al.** Selective Capture of Most Celiac Immunogenic Peptides from Hydrolyzed Gluten Proteins. *Food Chemistry.* 2016, Vol. 205, pp. 36-42.
9. **Dostálek, Pavel, et al.** Determination of gluten in glucose syrups. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2009, Vol. 22, pp. 762-765.
10. **Taylor, Steve L. and Baumert, Joseph L.** Achieving Gluten-Free Status. *Food Safety Magazine.* December 2013/January 2014, pp. 30-66.
11. **U.S. Food and Drug Administration.** Proposed Rule for Gluten-Free Labeling of Fermented or Hydrolyzed Foods. *Questions & Answers.* [Online] 06 29, 2016. [Cited: 09 07, 2016.] <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Allergens/ucm472735.htm>.
12. **Meresse, Bertrand, Malamut, Georgia and Cerf-Bensussan, Nadine.** Celiac Disease: An Immunological Jigsaw. *Immunity Review.* 2012, Vol. 36, pp. 907-919.
13. **Food and Drug Administration. The Threshold Working Group.** *Approaches to Establish Thresholds for Major Food Allergens and for Gluten in Food.* March 2006.
14. **Armstrong, David, Don-Wauchope, Andrew C and Verdu, Elena F.** Testing for Gluten-related disorders in Clinical Practice: The Role of Serology in Managing the Spectrum of Gluten Sensitivity. *The Canadian Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2011, Vol. 25, 4, pp. 193-197.

15. **Food and Drug Administration. Office of Food Safety.** *Health Hazard Assessment for Gluten Exposure in Individuals with Celiac Disease: Determination of Tolerable Daily Intake Levels and Levels of Concern for Gluten.* May 2011.
16. **Waga, Jacek.** Structure and Allergenicity of Wheat Gluten Proteins - A Review. *POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES.* 2004, Vol. 13/54, 4, pp. 327–338.
17. **Vader, Willemijn, et al.** The gluten response in children with celiac disease is directed toward multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology.* 2002, Vol. 122, 7, pp. 1729–1737.
18. **Bruins Slot, Ilona D., et al.** Evaluating the Performance of Gluten ELISA Test Kits: The Number of Do Not Tell the Tale. *Cereal Chemistry.* 2015, Vol. 92, 5, pp. 513-521.
19. **Celiac Disease Foundation.** Dermatitis Herpetiformis. [Online] [Cited: 08 09, 2016.] <https://celiac.org/celiac-disease/understanding-celiac-disease-2/dermatitis-herpetiformis/>.
20. **Canadian Celiac Association.** Dermatitis Herpetiformis. [Online] [Cited: 08 05, 2016.] http://www.celiac.ca/?page_id=889.
21. **Hadjivassiliou, M, et al.** Dietary Treatment of Gluten Ataxia. *Journal Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003, Vol. 74, pp. 1221-1224.
22. **Gluten Free Society.** Ataxia - Another Symptom of Gluten Induced Damage. [Online] [Cited: 09 08, 2016.] <https://www.glutenfreesociety.org/ataxia-another-symptom-of-gluten-induced-damage/>.
23. **Yeager, David.** Gluten Ataxia. *Today's Dietitian.* [Online] March 2014. [Cited: 08 08, 2016.] <http://www.todaysdietitian.com/newarchives/030314p16.shtml>.
24. **CFIA & Health Canada.** Wheat: One of the ten priority food allergens. [Online] 2012. [Cited: 09 08, 2016.] http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/pubs/securit/2016-allergen_wheat-ble/index-eng.php.
25. **Canadian Celiac Association.** Non-Celiac Gluten Sensitivity: How to Diagnose and Differentiate it from Celiac Disease. [Online] [Cited: 09 08, 2016.] http://www.celiac.ca/?page_id=883.
26. **Volta, Umberto, et al.** Non-celiac gluten sensitivity: questions still to be answered despite increasing awareness. *Cellular & Molecular Immunology.* 2013, Vol. 10, pp. 383-392.
27. **U.S. Government.** Federal Register - Rules and Regulations. *Vol. 78, No. 150.* [Online] 08 05, 2013. [Cited: 09 08, 2016.] <https://www.federalregister.gov/articles/2013/08/05/2013-18813/food-labeling-gluten-free-labeling-of-foods>.
28. **Don, C and Koehler, P.** Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for the Detection and Quantitation of Gluten in cereal-Based Foods. *Cereal Foods World.* 2014, Vol. 59, 4, pp. 171-178.
29. **Canadian Food Inspection Agency.** *Plan d'action pour assurer la sécurité des produits alimentaires. Allergènes non déclarés dans des sachets d'arômes.* Enquêtes ciblées 2010-2011.

30. **Minister of Justice.** *Food and Drug Regulations, C.R.C., c. 870.* 2013.
31. **Health Canada.** Health Canada's Position on Gluten-Free Claims. *Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Products and Food Branch.* June 2012.
32. **U.S. Food and Drug Administration.** Food Labeling; Gluten-Free Labeling of Foods, Final Rule. Fed. Regist. 78:47154–47179. [Online] 2013. [Cited: 09 09, 2016.] <https://www.federalregister.gov/articles/2013/08/05/2013-18813/food-labeling-gluten-free-labeling-of-foods>.
33. **Commission of the European Communities.** Commission Implementing Regulation (EU) No 828/2014 of 30 July 2014 on the requirements for the provision of information to consumers on the absence or reduced presence of gluten in food. *Official Journal of the European Union.* [Online] [Cited: 01 25, 2017.] <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A32014R0828>.
34. **Australian and New Zealand Government.** Australia New Zealand Food Standards Code – Standard 1.2.7 – Nutrition, health and related claims. *Federal Register of Legislation.* [Online] [Cited: 09 09, 2016.] <https://www.legislation.gov.au/Details/F2016C00161>.
35. **Lee, Hyun Jung, Anderson, Zach and Ryu, Dojin.** Gluten Contamination in Foods Labeled as “Gluten Free” in the United States. *Journal of Food Protection.* 2014, Vol. 77, 10, pp. 1830–1833.
36. **FDA.** *Questions and Answers: Gluten-Free Food Labeling Final Rule.* [Online] [Cited: 01 24, 2017.] <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Allergens/ucm362880.htm>.
37. **La Vieille, Sébastien, et al.** Estimated Levels of Gluten Incidentally Present in a Canadian Gluten-Free Diet. *Nutrients.* 6, 2014, pp. 881-896.
38. **Koerner, T. B., et al.** Gluten contamination in the Canadian commercial oat supply. *Food Additives & Contaminants: Part A.* 2011, Vol. 28, 6, pp. 705-710.
39. **Gélinas, Pierre, et al.** Gluten contamination of cereal foods in Canada. *International Journal of Food Science and Technology.* 2008, Vol. 43, pp. 1245–1252.
40. **Rashid, Mohsin, et al.** Consumption of Pure Oats by Individuals with Celiac Disease: A Position Statement by the Canadian Celiac Association. *Can Journal Gastroenterol.* 2007, Vol. 21, 10.
41. **Health Canada.** Celiac Disease and the Safety of Oats. *Health Canada's Position on the Introduction of Oats to the Diet of Individuals Diagnosed with Celiac Disease (CD).* [Online] 2007. [Cited: 09 09, 2016.] http://hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/allerg/cel-coe/oats_cd-avoine_e.html.
42. —. Celiac Disease and Gluten-Free Claims on Uncontaminated Oats. [Online] May 2015. [Cited: 09 09, 2016.] <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/consult/2014-cel-oats-contam-avoine-coel/document-consultation-eng.php>.
43. **Comino, Isabel, et al.** Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease. *Gut.* 2011.

44. **de Souza, M. Cristina P., et al.** Pure Oats as Part of the Canadian Gluten-Free Diet in Celiac Disease: The Need to Revisit the Issue. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016, pp. 1-8.
45. **Lundin, K. E. A., et al.** Oats induced villous atrophy in coeliac disease. *Gut*. 2003, Vol. 52, pp. 1649–1652.
46. **Health Canada.** Gluten-free labelling claims for products containing specially produced "gluten-free oats". [Online] May 19, 2015. [Cited: 09 09, 2016.] <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/secureit/allerg/cel-coe/avoine-gluten-oats-eng.php>.
47. **Thompson, Tricia.** Gluten Contamination of Commercial Oat Products in the United States. *The New England Journal of Medicine*. 2004, Vol. 351, 19, pp. 2021-2022.
48. **Koerner, Terry B, et al.** Validation procedures for quantitative gluten ELISA methods: AOAC allergen community guidance and best practices. *Journal of AOAC international*. 2013, Vol. 96, 5, pp. 1033-1040.
49. **Diaz-Amigo, Carmen and Popping, Bert.** Gluten and gluten-free: issues and considerations of labeling regulations, detection methods and assay validation. *Journal of AOAC International*. 2012, Vol. 95, 2, pp. 337-348.
50. **Scherf, Katharina Anne and Poms, Roland Ernest.** Recent developments in analytical methods for tracing gluten. *Journal of Cereal Science*. 2016, Vol. 67, pp. 112-122.
51. **Mena, Maria C. , et al.** Comprehensive analysis of gluten in processed foods using a new extraction method and a competitive ELISA based on the R5 antibody. *Talanta*. 2012, Vol. 91, pp. 33-40.
52. **van Eckert, R., et al.** Reactivity of gluten detecting monoclonal antibodies to a gliadin reference material. *Journal of Cereal Science*. 51, 2010, pp. 198–204.
53. **Hammer, Elisabeth.** Gluten-Free : How can you Prove it? *Food Quality Magazine*. [Online] August 2012. [Cited: 09 12, 2016.] <http://www.foodsafetymagazine.com/signature-series/gluten-free-how-can-you-prove-it/>.
54. **Allred, Laura K. and Ritter, Bruce W.** Recognition of Gliadin and Glutenin Fractions in Four Commercial Gluten Assays. *JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL*. 2010, Vol. 93, 1, pp. 190-196.
55. **Diaz-Amigo, Carmen and Yeung, Jupiter.** Critical Evaluation of Uncertainties of Gluten Testing: Issues and Solutions for Food Allergen Detection. *Pathogens and Toxins in foods: challenges and Interventions*. 2010, pp. 286-300.
56. **Colgrave, Michelle L, et al.** Using mass spectrometry to detect hydrolysed gluten in beer that is responsible for false negatives by ELISA. *Journal of Chromatography A*. 2014, pp. 105–114.
57. **Codex Alimentarius Commission. Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization Food Standards.** *Report of the Twenty-sixth session of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling*. 2005.

58. **Koehler, Peter, et al.** AACCI Approved Methods Technical Committee Report: Collaborative Study on the Immunochemical Determination of Intact Gluten using an R5 Sandwich ELISA. *Cereal Foods World*. 2013, Vol. 58, 1.
59. **Don, Clyde, et al.** AACCI Approved Methods Technical Committee Report: Collaborative Study on the Immunochemical Quantitation of Intact Gluten in Rice Flour and Rice-Based Products using G12 Sandwich ELISA. *Cereal Foods World*. 2014, Vol. 59, 4.
60. **Codex Alimentarius Commission.** Report of the thirty-eighth session of the Codex Committee on nutrition and Foods for special dietary uses. *Hamburg, Germany*. 5-9 December 2016.
61. **van Eckert, R., et al.** Towards a new gliadin reference material— isolation and characterisation. *Journal of Cereal Science*. 2006, Vol. 43, pp. 331–341.
62. **Kanerva, Päivi M., et al.** Analysis of barley contamination in oats using R5 and w-gliadin antibodies. *Journal of Cereal Science*. 2006, Vol. 44, pp. 347–352.
63. **Panda, Rakhi, et al.** Detection and Quantification of Gluten during the Brewing and Fermentation of Beer Using Antibody-Based Technologies. *Journal of Food Protection*. 78, 2015, Vol. 6, pp. 1167–1177.
64. **Méndez, Enrique, et al.** Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 17, 2005, pp. 1053-1063.
65. **Halbmayer-Jech, Elisabeth, et al.** Gluten in Rice Flour and Baked Rice Products by G12 Sandwich ELISA: First Action 2014.03. *Journal of AOAC International*. 98, 2015, Vol. 1, pp. 103-111.
66. **Rogers, Adrian, Brunner, Kurt and Kraus, Jasmin.** Challenges in Allergen Testing: Spiking and Recoveries. *Spot On: Diagnostic Solutions*. Issue 2.
67. **R-Biopharm.** SureFood® ALLERGEN ID Gluten. [Online] [Cited: 01 25, 2017.] <http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis/allergens/gliadin-gluten/item/surefood-allergen-gluten>.
68. **Dahinden, Isabelle, von Büren, Michael and Lüthy, Jürg.** A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *Eur Food Res Technol*. 212, 2001, pp. 228–233.
69. **Monaci, Linda and Visconti, Angelo.** Immunochemical and DNA-based methods in food allergen analysis and quality assurance perspectives. *Trends in Food Science & Technology*. 21, 2010, Vol. 6, p. 272e283.
70. **Koppel, Esther, Stadler, Markus and Luthy, Jurg.** Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Z Lebensm Unters Forsch A*. 206, 1998, pp. 399-403.
71. **Sandberg, Martin, et al.** Real Time PCR for the detection and discrimination of cereal contamination in gluten free foods. *Eur Food Res Technol*. 217, 2003, pp. 344–349.

72. **Fiedler, Katherine L., et al.** Characterization of Grain-Specific Peptide Markers for the Detection of Gluten by Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, Vol. 62, p. 5835–5844.
73. **Cho, Chung Y., et al.** Multiplex detection of food allergens and gluten. *Anal Bioanal Chem*. 407, 2015, pp. 4195–4206.
74. **Immer, Ulrike and Haas-Lauterbach, Sigrid.** Gluten Detection (Chapter 19). *Molecular Biological and Immunological Techniques and Applications for Food Chemists*. s.l. : John Wiley & Sons, Inc., 2010.
75. **Thompson, Tricia.** Gluten Free Watchdog Position Statement on Consumer Use of the Nima Sensor to Test Food for Gluten. [Online] 04 23, 2017. [Cited: 08 08, 2017.] <https://www.glutenfreewatchdog.org/news/gluten-free-watchdogs-position-statement-on-consumer-use-of-the-nima-sensor-to-test-food-for-gluten/>.

ANNEXE 1 – Comparaison des trousse d’analyse ELISA offertes sur le marché

Trousse d’analyse	Aller-Tek Gluten ELISA	Wheat/gluten (gliadin)	Veratox® for gliadin	Veratox® for Gliadin R5	RIDASCREEN® Gliadin
Fabricant	ELISA Technologies	Morinaga Institute	Neogen	Neogen	R-Biopharm
Méthode	ELISA de type sandwich	ELISA de type sandwich	ELISA de type sandwich	ELISA de type sandwich	ELISA de type sandwich
Type de résultats	Quantitatif	Quantitatif	Quantitatif	Quantitatif	Quantitatif
Matériel de référence	Matériel de référence disponible pour le blé et l’orge	NIST SRM 1567a - Farine de blé	Gliadin G3375 (Sigma-Aldrich)	Gliadin G3375 (Sigma-Aldrich)	PWG gliadin
Anticorps	Skerritt monoclonal (401.21)	Anticorps polyclonal anti-gliadine	Skerritt monoclonal (401.21)	R5 monoclonal	R5 monoclonal
Protocole d’extraction	Éthanol à 40 % avec une solution d’extraction	Solution d’extraction spécifique	Éthanol à 40 % ou solution cocktail	Éthanol à 60 % ou solution cocktail	Éthanol à 60 % ou solution cocktail
Intervalle de quantification (ppm de gluten)	5-80 ppm	0,26-68 ppm	10-100 ppm	5-80 ppm	5-80 ppm
Limite de détection (LD) (ppm de gluten)	5 ppm	0,26 ppm	10 ppm	2,2 ppm	1 ppm
Validation	AOAC-RI 081202	Étude interlaboratoires appuyée par le ministère de la Santé, du Travail et du Bien-être du Japon	Non-disponible	AOAC-RI 061201	AOAC-OMA 2012.01 AOAC-RI 120601 AACCI 38.50.01 Méthode de référence du Codex Alimentarius (Type I)
Utilisation	Aliments transformés et non transformés, surfaces	Aliments transformés et non transformés, surfaces	Aliments transformés et non transformés, surfaces	Aliments transformés et non transformés, surfaces	Aliments transformés et non transformés, surfaces
Autres caractéristiques	- Sous-estime l’orge.	- Bon taux de récupération du gluten dans les aliments transformés. - Utilisée par la FDA pour les produits sans gluten (conjointement au RIDASCREEN® Gliadin). - Sous-estime l’orge et le seigle.	- N’est plus utilisée depuis qu’elle a été remplacée par la trousse d’analyse R5.	- Surestime l’orge et le seigle.	- Surestime l’orge. - Utilisée par la FDA pour les produits sans gluten (conjointement à la trousse Morinaga Wheat/gluten [gliadin]).

Trousse d'analyse	AgraQuant®	RIDASCREEN® Gliadin de type compétitif	GlutenTox® Pro	GlutenTox® Sticks Plus	EZ Gluten®
Fabricant	Romer Labs®	R-Biopharm	Biomedal Diagnostics	Biomedal Diagnostics	ELISA Technologies
Méthode	ELISA de type sandwich	ELISA de type compétitif	Test à bandelette	Test à bandelette	Test à bandelette
Type de résultats	Quantitatif	Quantitatif	Semi-qualitatif	Semi-quantitatif ou quantitatif	Qualitatif
Matériel de référence	VWG gliadin	Hydrolysate de blé, de seigle et d'orge	N/A	N/A	N/A
Anticorps	G12 monoclonal	R5 monoclonal	G12 monoclonal	G12 monoclonal	Skerritt monoclonal (401.21)
Protocole d'extraction	Éthanol à 60 % ou solution cocktail	Éthanol à 60 %	Universal Gluten Extraction Solution (UGES)	Universal Gluten Extraction Solution (UGES)	Tampon d'extraction
Intervalle de quantification (ppm de gluten)	4-200 ppm	10-150 ppm	N/A	8-85 ppm	N/A
Limite de détection (LD) (ppm de gluten)	2 ppm	2,7 ppm	Échantillons : 5, 10, 20 ou 40 ppm Écouvillons : 16 ng/16 cm ²	Échantillons : 3, 10, 20, 30 ou 100 ppm Écouvillons : 16 ng/16 cm ²	Échantillons : 10 ppm Écouvillons : 1 µg/25 cm ²
Validation	AACCI 38.52.01 AOAC-OMA 2014.03	AACCI 38.55.01 AOAC-OMA 2015.05	AOAC-RI 061502	Validée par FAPAS et l'AESAN seulement (Espagne)	AOAC-RI 051101
Utilisation	Aliments transformés et non transformés, surfaces	Aliments hydrolysés et fermentés	Aliments légèrement transformés et non transformés, surfaces	Aliments légèrement transformés et non transformés, surfaces	Aliments légèrement transformés et non transformés, surfaces
Autres caractéristiques	- Détecte certaines variétés d'avoine (qui sont soupçonnées de déclencher une réaction chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque).	- Peut être utilisée pour détecter les protéines intactes et non transformées, mais moins précise. - Ne peut pas être utilisée avec la solution cocktail.	- Ne doit pas être utilisée pour les matrices ayant une teneur élevée en polyphénols et en tanins. - Détecte certaines variétés d'avoine (qui sont soupçonnées de déclencher une réaction chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque).	- Détecte certaines variétés d'avoine (qui sont soupçonnées de déclencher une réaction chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque). - Des résultats quantitatifs peuvent être obtenus avec le GlutenTox® Reader.	- Sous-estime l'orge.

Trousse d'analyse	AllerFlow Gluten	Reveal® 3-D	Alert® for Gliadin R5	RIDA®QUICK Gliadin	AgraStrip®
Fabricant	Hygiena	Neogen	Neogen	R-Biopharm	Romer Labs®
Méthode	Test à bandelette	Test à bandelette	Test à bandelette	Test à bandelette	Test à bandelette
Type de résultats	Qualitatif	Qualitatif	Qualitatif	Qualitatif	Semi-qualitatif
Matériel de référence	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Anticorps	G12 monoclonal	R5 monoclonal	R5 monoclonal	R5 monoclonal	G12 monoclonal
Protocole d'extraction	Solution d'extraction avec agents réducteurs et agents de dissociation	Solution d'extraction	Éthanol à 80 % ou solution cocktail	Éthanol à 60 % ou solution cocktail	Éthanol à 60 %
Intervalle de quantification (ppm de gluten)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Limite de détection (LOD) (ppm de gluten)	Écouvillons : 5 µg/100 cm ²	Échantillons : 5 ppm Écouvillons : 80 µg/100 cm ²	Échantillon : 20 ppm Écouvillons : 1-2 µg/100 cm ²	Échantillons : 5 ppm Écouvillons : 2-4 µg/100 cm ²	Échantillons : 5, 10 ou 20 ppm Eau de rinçage : 35 ppb Écouvillons : 4 µg/25 cm ²
Validation	Validation interne	Validation interne	Validation interne	AOAC-OMA 2015.16 (AACCI en cours)	AOAC-RI 061403
Utilisation	Surfaces et eau de rinçage	Surfaces et eau de rinçage	Aliments légèrement transformés et non transformés, surfaces et eau de rinçage	Aliments légèrement transformés et non transformés, surfaces	Aliments légèrement transformés et non transformés, surfaces et eau de rinçage
Autres caractéristiques	- Similaire à la trousse GlutenTox® de Biomedal. - Détecte certaines variétés d'avoine (qui sont soupçonnées de déclencher une réaction chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque).				- Détecte certaines variétés d'avoine (qui sont soupçonnées de déclencher une réaction chez les personnes atteintes de la maladie cœliaque).