

INDICE

	PREMESSA	1
	INTRODUZIONE	2
0.1	Celiachia	2
0.2	Glutine	2
0.3	Limiti legislativi	2
0.4	Misurazione del contenuto di glutine	3
0.5	Considerazioni generali per l'utilizzo del presente documento	3
1	SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE	4
2	RIFERIMENTI NORMATIVI	4
3	TERMINI E DEFINIZIONI	4
4	INFORMAZIONI GENERALI SUL SISTEMA DI PROVA	4
5	REQUISITI PRESTAZIONALI	5
5.1	Generalità	5
5.2	Campo di applicabilità	5
5.3	Limite di rivelazione (LOD)	5
5.4	Limite di quantificazione (LOQ)	5
5.5	Recupero	5
5.6	Precisione	5
5.7	Specificità	5
5.8	Reattività crociata	5
5.9	Robustezza	6
5.10	Panoramica sui requisiti prestazionali minimi	6
prospetto 1	Requisiti prestazionali minimi per il glutine non frammentato e frammentato	6
	BIBLIOGRAFIA	7

PREMESSA

Il presente documento (EN 17254:2019) è stato elaborato dal Comitato Tecnico CEN/TC 275 "Food analysis - horizontal methods", la cui segreteria è affidata al DIN.

Alla presente norma europea deve essere attribuito lo status di norma nazionale, o mediante pubblicazione di un testo identico o mediante notifica di adozione, al più tardi entro aprile 2020, e le norme nazionali in contrasto devono essere ritirate al più tardi entro aprile 2020.

Si richiama l'attenzione alla possibilità che alcuni degli elementi del presente documento possano essere oggetto di brevetti. Il CEN non deve essere ritenuto responsabile di avere citato tali brevetti.

In conformità alle Regole Comuni CEN/CENELEC, gli enti nazionali di normazione dei seguenti Paesi sono tenuti a recepire la presente norma europea: Austria, Belgio, Bulgaria, Cipro, Croazia, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Islanda, Italia, Lettonia, Lituania, Lussemburgo, Malta, Norvegia, Paesi Bassi, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Repubblica Ceca, Repubblica di Macedonia del Nord, Romania, Serbia, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia e Ungheria.

INTRODUZIONE

0.1

Celiachia

La celiachia (CD) è una malattia autoimmune dell'intestino tenue che colpisce principalmente gli individui geneticamente sensibili. La sua prevalenza è stata stimata essere pari all'1% della popolazione mondiale. La CD si manifesta con un'enteropatia cronica, causata da un'intolleranza irreversibile al glutine. Con l'ingestione di glutine, la digestione gastrointestinale incompleta di queste proteine determina la comparsa di peptidi derivati dal glutine. Essi contengono epitopi sovrapposti delle cellule T e la loro forma deamidata è un potente stimolatore delle cellule T. I peptidi tossici del glutine causano la stimolazione del sistema immunitario innato e adattativo. Ciò determina cambiamenti istologici nella mucosa dell'intestino tenue dei pazienti celiaci, causando sintomi gravi tra cui diarrea cronica, distensione addominale e malassorbimento dei nutrienti. La celiachia, se non trattata, è associata a un aumento della morbidità e l'unico trattamento accettato è l'osservanza rigorosa e permanente di una dieta priva di glutine, che interrompe la risposta immunitaria innescata dal glutine [1].

0.2

Glutine

La definizione di glutine differisce leggermente a seconda del contesto in cui è utilizzata. Nel presente documento è utilizzata la definizione di glutine (vedere punto 3.1) secondo il frazionamento di Osborne, simile alla definizione riportata nel Codex Alimentarius.

Il glutine nell'industria dell'amido si riferisce alla frazione ricca di proteine che è separata dall'amido durante il processo di produzione dell'amido. Il termine è quindi applicato a diversi cereali, principalmente frumento e mais, che sono utilizzati prevalentemente per la produzione di amido. Nell'industria della panificazione, il glutine si riferisce a un ingrediente ricco di proteine, che determina un aumento del volume e della "sofficità" dei prodotti da forno come il pane. In questo contesto, solo il frumento contiene glutine, poiché solo la frazione ricca di proteine di questo cereale determina un miglioramento delle caratteristiche fisico-chimiche dei prodotti da forno. La definizione di glutine nel contesto della celiachia si riferisce alla frazione proteica, che è tossica per i pazienti affetti da CD. Questa definizione si basa sul frazionamento di Osborne delle proteine dei cereali (per esempio del frumento e delle sue varietà incrociate), precisamente le proteine insolubili in soluzione di acqua e 0,5 mol/l di cloruro di sodio.

A causa del trattamento termico e dell'idrolisi enzimatica durante la produzione alimentare, il glutine negli alimenti spesso non è presente nella sua forma nativa. Il trattamento suddetto può determinare la denaturazione e/o la frammentazione delle proteine del glutine in peptidi. I peptidi del glutine hanno caratteristiche parzialmente differenti per quanto riguarda la solubilità e la rivelabilità con tecniche immuno-analitiche, ma sono comunque in grado di innescare reazioni immunitarie nei pazienti celiaci [2].

Il Regolamento di esecuzione (UE) n. 828/2014 [3] della Commissione stabilisce che l'avena contenuta nei prodotti alimentari per persone intolleranti al glutine deve essere stata prodotta, preparata e/o lavorata in modo speciale per evitare la contaminazione da frumento, segale, orzo o dalle loro varietà incrociate e il contenuto di glutine di tale avena non deve eccedere 20 mg/kg.

0.3

Limiti legislativi

Il Regolamento di esecuzione (UE) n. 828/2014 della Commissione dell'Unione europea stabilisce due livelli di soglia differenti per il glutine nei prodotti alimentari.

Il termine "senza glutine" può essere utilizzato per i prodotti alimentari se il contenuto di glutine non eccede 20 mg di glutine/kg. D'altra parte, se il contenuto di glutine non eccede 100 mg di glutine/kg, i prodotti possono riportare "con contenuto di glutine molto basso".

L'avena può essere tollerata dalla maggior parte delle persone intolleranti al glutine, ma non da tutte. Pertanto, la tolleranza dell'avena non contaminata da frumento, segale o orzo negli alimenti trattati dalla presente norma può essere determinata a livello nazionale [4], [5].

Misurazione del contenuto di glutine

La concentrazione di glutine nei campioni alimentari può essere misurata con metodi di prova differenti. Sebbene l'utilizzo della spettrometria di massa e dei metodi a base di acido nucleico (per esempio PCR) sia possibile, la tecnica più comunemente utilizzata è il saggio di immunoassorbimento enzimatico (ELISA).

L'ELISA utilizza anticorpi specifici (monoclonali o policlonali) che hanno come bersaglio gli epitopi del glutine. L'ELISA competitivo e diretto (sandwich) sono attualmente utilizzati per quantificare il livello di glutine confrontando le reazioni cromatiche di soluzioni campione con soluzioni di taratura.

Metodi analitici affidabili sono raccomandati per la conformità ai regolamenti nazionali e internazionali in tutti i settori di analisi. Attualmente non sono disponibili linee guida armonizzate riguardo ai requisiti specifici per le prestazioni dell'ELISA quantitativo per il glutine e riguardo alle informazioni specifiche che devono essere fornite dallo sviluppatore del metodo.

Alcune indicazioni sono fornite dalle pubblicazioni dell'AOAC [6], [7].

Considerazioni generali per l'utilizzo del presente documento

Per l'utilizzo del presente documento il termine:

- "deve" indica un requisito;
- "dovrebbe" indica una raccomandazione;
- "può" (may)¹⁾ indica un permesso; e
- "può"(can)²⁾ indica una possibilità e/o una capacità.

1) Nota nazionale - Nella presente norma è utilizzato lo stesso verbo per la traduzione in italiano di "may" e "can". La diversa accezione è desumibile dal contesto relativo alla specifica frase.

2) Nota nazionale - Nella presente norma è utilizzato lo stesso verbo per la traduzione in italiano di "may" e "can". La diversa accezione è desumibile dal contesto relativo alla specifica frase.

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente documento specifica i requisiti prestazionali minimi del metodo per i saggi di immunoassorbimento enzimatici che quantificano il glutine non frammentato o frammentato di frumento (per esempio *Triticum aestivum*), segale e orzo in prodotti alimentari grezzi e trasformati.

Il presente documento è destinato ad essere utilizzato unitamente alla EN 15842.

RIFERIMENTI NORMATIVI

Nel testo si fa riferimento ai seguenti documenti in modo tale che il loro contenuto, in tutto o in parte, costituisca i requisiti per il presente documento. Per quanto riguarda i riferimenti datati, si applica esclusivamente l'edizione citata. Per i riferimenti non datati vale l'ultima edizione del documento a cui si fa riferimento (compresi gli aggiornamenti).

EN 15633-1 Foodstuffs - Detection of food allergens by immunological methods - Part 1: General considerations

EN 15842 Foodstuffs - Detection of food allergens - General considerations and validation of methods

TERMINI E DEFINIZIONI

Ai fini del presente documento si applicano i termini e le definizioni di cui alla EN 156331 e alla EN 15842 e i termini e le definizioni seguenti.

Per l'utilizzo in ambito normativo l'ISO e l'IEC dispongono di banche dati terminologiche ai seguenti indirizzi:

- IEC Electropedia: disponibile all'indirizzo <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform: disponibile all'indirizzo <https://www.iso.org/obp>

glutine: Frazione proteica del frumento, della segale, dell'orzo, dell'avena o delle loro varietà incrociate nonché dei loro derivati, cui alcune persone sono intolleranti, e che è insolubile in acqua e in soluzione di cloruro di sodio 0,5 mol/l;

Nota Il Codex Alimentarius ha una definizione simile [2]

[FONTE: Regolamento (UE) N° 828/2014, Articolo 2 a)[3]]

prolammina: Frazione da glutine solubile dal 40% al 70% in etanolo.

Nota La prolammina del frumento è la gliadina, della segale è la secalina, dell'orzo la ordeina e dell'avena la avenina.

INFORMAZIONI GENERALI SUL SISTEMA DI PROVA

Deve essere fornita una descrizione dei principi del metodo che comprenda, tra l'altro ma non limitatamente, i parametri seguenti:

- Nome dell'anticorpo (se disponibile).
- Antigene bersaglio dell'anticorpo,

Nota 1 Per i monoclonali: epitopo o multimer(i) all'interno del glutine; per gli anticorpi policlonali specificare la sostanza utilizzata per l'immunizzazione

- Materiale di taratura.
- Tipo di campione e matrici.
- Presentazione dei risultati.

Nota 2 Secondo il Codex Alimentarius, indicare i risultati come mg glutine/kg; gliadina $\times 2$ = mg glutine/kg

- Interferenze.

Nota 3 Una descrizione dei principi del metodo è elencata nel CEN/TR 16338:2012 [8]