

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 4 del programa

**CX/NFSDU 03/4
Octubre de 2003**

S

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS

COMITÉ DEL CODEX SOBRE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS PARA REGÍMENES ESPECIALES 25ª reunión

Informe del Grupo de Trabajo sobre Análisis y Toxicidad de la Prolamina

1. ANTECEDENTES

La enfermedad celíaca es un trastorno autoinmunitario provocado por el gluten, una proteína cereal. La relación causal entre el gluten y su “toxicidad” en los individuos genéticamente propensos a contraer la enfermedad celíaca está bien establecida y constituye la base para incluir el gluten en los reglamentos y declaraciones alimentarias con el fin de prevenir los efectos adversos que provoca entre dichos pacientes la ingestión de alimentos o ingredientes que contienen gluten. Un entramado de predisposición genética, procesos bioquímicos modificadores de la proteína desencadenante y una respuesta inmune compleja mediada por las células T a nivel del intestino delgado, caracteriza esta enfermedad que presenta numerosas formas clínicas. El grado de difusión de la enfermedad celíaca, incluidas todas esas formas, es de 1:200, según los datos actuales. La terapia se reduce a una dieta exenta de gluten.

El Grupo de Trabajo sobre Análisis y Toxicidad de la Prolamina (WGPAT) funciona desde 1985. Su actividad tiene por objeto la coordinación de las investigaciones consagradas al análisis de laboratorio del gluten en la alimentación y a la evaluación clínica de la sensibilidad de los pacientes a las prolaminas. La labor de análisis ha hecho progresos considerables durante estos últimos años: se dispone ya de una Referencia Europea para Gliadina y se han publicado informes sobre un método de inmunovaloración enzimática (ELISA) que es sensible y fiable. Se ha recopilado asimismo nuevos datos clínicos sobre los umbrales potenciales de tolerancia al gluten en pacientes celíacos, pudiendo esperarse resultados clínicos definitivos en el transcurso de los dos años próximos (Stern *et al.*, 2001).

2. IRMM-480, LA REFERENCIA EUROPEA DE GLIADINA

Está disponible una Referencia Europea para Gliadina (IRMM-480) establecida por el Instituto de

Materiales y Medidas de Referencia de la Unión Europea. La certificación final está prevista para mediados de 2004. La gliadina es la fracción de gluten soluble en etanol y contiene epítopes activos en la enfermedad celíaca. El material de referencia resultó ser soluble, homogéneo, y estable. El preparado incluye todos los componentes de la gliadina procedentes de 28 variedades de trigo cultivadas en Europa. El IRMM-480 puede utilizarse como referencia para determinaciones inmunoquímicas de gliadina/gluten (van Eckert, 2002). El material de referencia para gliadina se puede obtener previa solicitud directa a IRMM (European Commission, Directorate-General Joint Research Centre [JRC], Institute for Reference Materials and Measurements, Reference Materials Unit, Retieseweg, 2440 Geel, Belgium).

3. EL SANDWICH ELISA R5 PARA LA DETERMINACIÓN DE GLIADINA/GLUTEN

Se ha desarrollado un fiable sistema ELISA basado en el reconocimiento del epítopo QQPFP, potencialmente celíaco-tóxico, contenido en la gliadina y en prolaminas afines (Valdés *et al.*, 2003). En breves términos, el ensayo consiste en una operación de extracción de alimento y en un sandwich ELISA de anticuerpo doble monoclonal, utilizando un conjugado de peroxidasa de rábano picante. El sistema está destinado a las prolaminas provenientes del trigo, el centeno, y la cebada. No produce reacciones cruzadas con la avena. El límite de detección es igual a 1,5 mg/kg de gliadina. El ensayo es sólido y simple. La especificidad y la sensibilidad son elevadas. La variación intraensayo fue de 7,5%; la variación interensayo fue del 8,7% (Valdés *et al.*, 2003). El sistema demostró su capacidad para funcionar con las muestras no elaboradas y con las elaboradas con la intervención del calor.

El Grupo de Trabajo sobre Análisis y Toxicidad de la Prolamina ha llevado a cabo un ensayo basado en la colaboración internacional (Immer *et al.*, 2003). Veinte laboratorios se encargaron de analizar doce muestras (maíz y arroz conteniendo gliadina, muestras comerciales de harina exenta de gluten). La evaluación estadística independiente realizada por IRMM arrojó resultados comparables para dos kits basados en el mismo método (véase arriba). La desviación estándar de la repetibilidad relativa fue del 19%; la desviación estándar de la reproducibilidad relativa fue del 30%.

El sistema de ensayos fue capaz de resolver los problemas técnicos originados por el tratamiento térmico y los efectos matriciales. El citado Grupo ha descrito en fecha reciente un sistema ELISA alternativo y competitivo basado en el mismo anticuerpo R5 que puede utilizarse para productos que contienen gluten hidrolizado.

El sistema ELISA R5 es superior a ensayos anteriores (Denery-Papini *et al.*, 1999). Este método es propuesto ahora por el Grupo de Trabajo para su evaluación ulterior por el Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS). Sin embargo, el avance de los trabajos pertinentes (desarrollo de nuevos métodos) no debe ser frenado por ninguna reglamentación.

4. DATOS CLÍNICOS SOBRE EL UMBRAL DE SENSIBILIDAD AL GLUTEN

La dieta exenta de gluten es el tratamiento fundamental de la enfermedad celíaca. Ello no obstante, continúa sin definirse la relación entre la cantidad de gluten ingerido (cantidades muy pequeñas) y la gravedad de los síntomas clínicos y las anomalías histológicas en los pacientes celíacos. La variación individual y la heterogeneidad clínica de los pacientes celíacos plantean serios problemas cuando se intenta identificar valores-umbral aceptables para cantidades muy pequeñas de gluten cuya presencia podría permitirse en alimentos exentos de esa sustancia (Stern *et al.*, 2001). Son muy pocos los estudios controlados que se han emprendido para solucionar esta cuestión. En fecha muy reciente, uno de esos estudios controlados (Peräaho *et al.*, 2003) permitió establecer que los productos de harina exentos de gluten que contienen almidón de trigo son aceptables en una dieta exenta de gluten. El estudio en cuestión no especifica sin embargo la ingesta diaria de gluten por parte de los pacientes incluidos en él. Estudios *in vivo* anteriores (Catassi *et al.*, 1993) que detectaron en su momento efectos "tóxicos" en una ingesta diaria de 100 mg de gliadina están siendo ampliados para transformarlos en un estudio prospectivo que incluirá controles adecuados y criterios idóneos de

inclusión y exclusión. Se espera obtener datos definitivos procedentes de ambos grupos en el transcurso de los dos años próximos. No hay justificación para reanudar el debate sobre cantidades y niveles hasta que no estén disponibles tales datos. El límite vigente de [200] mg/kg de gluten para alimentos exentos de gluten puede exigir reconsideración en un futuro próximo.

5. CONCLUSIÓN

En vista de los progresos respecto a la referencia para gliadina IRMM-480 y al método del sandwich ELISA R5 que fueron publicados hace poco (Valdés *et al.*, 2003), el Grupo de Trabajo sobre Análisis y Toxicidad de la Prolamina propone al Comité del Codex sobre Nutrición y Alimentos para Regímenes Especiales que recomiende el método ELISA R5 para su evaluación ulterior por parte del Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras y que adopte las medidas necesarias a tal fin.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

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

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

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

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