



# Análisis de alérgenos

## Actividades del JRC y ENFADL

Elena Cubero Leon

JRC-ALLERGENS@ec.europa.eu

*Madrid, 14 June 2022*



# Centro común de investigación (Joint Research Centre, JRC)

El Centro Común de Investigación es el servicio científico interno de la Comisión. Con sus actividades contribuye a la elaboración de las políticas de la UE, aportando un asesoramiento científico independiente y basado en datos contrastados.

# JRC

Oficina central en **Bruselas** y tiene **6 sedes** repartidas en **5 países** de la UE:

- Alemania (Karlsruhe)
- **Bélgica (Geel)**
- España (Sevilla)
- Italia (Ispra)
- Países Bajos (Petten)





Workshop JRC &  
DG SANTE

2017

*Inicio del ENFADL*

2018, 2019, 2020\*, 2021\*

*ENFADL Workshops  
(\*virtuales)*

**Objetivo**  
Mejorar la comparabilidad de los resultados

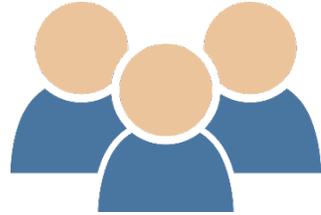


# Actividades de la ENFADL

- **Workshops anuales** para discutir como mejorar la comparabilidad de los resultados
- Facilitar el intercambio de conocimientos para permitir una respuesta armonizada en cuanto la detección/cuantificación de alérgenos e interpretación de los resultados
- **Ensayos de intercomparación (PTs)**



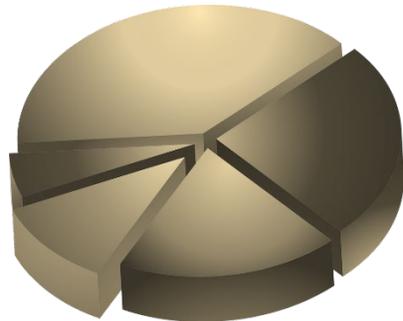
# Workshop ENFADL 2021



**46**  
participantes



**22** países  
miembros de la UE  
y Noruega



**23** Laboratorios oficiales de control  
**4** Organizaciones de seguridad  
alimentaria (evaluación de riesgos)

Comisión Europea

# Sesiones del Workshop 2021

1. Actividades internacionales
2. Evaluación cuantitativa de riesgos
3. Actividades de los miembros de la ENFADL
4. Actividades futuras

# 1. Actividades internacionales

## CEN:

- **prEN 17644** - ‘Detección de alérgenos en alimentos a través de métodos de cromatografía líquida- espectrometría de masas. Consideraciones generales’. Documento enviado a CEN para voto formal.
- **prEN 15634 partes 3, 4 and 5** “Detección de alérgenos en alimentos a través de técnicas de biología molecular – Detección cualitativa a través de PCR en tiempo real de una secuencia de ADN específica (avellana, cacahuete y mostaza)”. Documento enviado a la ENFADL para comentar.
- **N466-NWIP** “Requisitos mínimos para los métodos cuantitativos” Fecha de consulta publica prevista Abril 2022.

## ILSI:

“**Guía práctica para la evaluación cuantitativa de riesgos**” será publicada en el 2022.

## MONIQA:

- Colaboración con el Proyecto ThrAll para establecer **factores de conversión**.
- **Materiales de referencia** en preparación: estándar de gluten en harina de trigo y soja, huevo y clara de huevo en polvo. En un futuro avellana y cacahuete en harina de cacahuete desgrasada .

## FAO/OMS:

Consulta conjunta ad hoc FAO/OMS de expertos:

1. Revisión y validación de la **lista de alérgenos prioritarios** mediante la evaluación del riesgos  
(<https://www.fao.org/3/cb4653en/cb4653en.pdf>),
2. Revisión y establecimiento de **niveles de umbral** de los alérgenos prioritarios en los alimentos  
(<https://www.fao.org/3/cb6388en/cb6388en.pdf>);
3. Revisión y establecimiento del **etiquetado preventivo** sobre alérgenos prioritarios en los alimentos

## 2. Evaluación cuantitativa de riesgos

Mensajes principales:

- Comunicación de los resultados sigue siendo inconsistente, incluso las alertas RASFF no se ajustan al mensurando acordado (magnitud que se pretende medir): **mg de proteína total del ingrediente alergénico/kg de alimento**
- La evaluación cuantitativa de riesgos tampoco esta armonizada. El documento de ILSI debería ayudar en este aspecto
- Avances en el establecimiento de niveles umbral y evaluación de riesgos (FAO/OMS), pero estos dependen de resultados fiables y comparables (objetivo del ENFADL)

### 3. Actividades de los miembros de la ENFADL

#### Foro de discusión ‘gluten en cerveza sin gluten’

FDA/US claims

*“we know of no scientifically valid analytical method effective in detection and quantifying with precision to the protein content in fermented or hydrolyzed food in terms of equivalent amounts of intact proteins.”*



Cebada, trigo y avena → Filtración/reducción enzimática

9 presentaciones y 4 meetings virtuales de 13 instituciones (9 no pertenecientes a la ENFADL) en 10 países (EU, Australia, UK)



**AAΔE**

Independent Authority  
for Public Revenue (IAPR)



European  
Commission



KIT  
Karlsruher Institut für Technologie



FACE  
Federación  
de Asociaciones de  
Celiacos  
de España



CER  
Groupe



DTU



LGC



Oslo  
University Hospital



RUOKAVIRASTO  
Livsmedelsverket • Finnish Food Authority



QUEEN'S  
UNIVERSITY  
BELFAST



WEHI  
brighter together



CSIRO



Istituto di Biochimica e Biologia Cellulare  
Institute of Biochemistry and Cell Biology



European  
Commission



## Objetivo:

Redactar un documento (publicación científica) basado en nuestras discusiones para activar la planificación de proyectos relevantes

# Laboratorios ENFADL: actividades, problemas y necesidades

- La mayoría de laboratorios usan ELISA y PCR para el control oficial
- Estudio comparativo de 7 ELISA test kits de huevo en diferentes matrices
- Falta de materiales de referencia
- Revalidación métodos debido a algunos cambios en el protocolo de ELISA test kits
- Recuperaciones bajas de sulfitos en distintas matrices
- Reactividad cruzada en mostaza
- Necesidades de formación y/o forums: LC-MS, evaluación cuantitativa de riesgo, cálculo de incertidumbres, presentación de los resultados

## 4. Actividades futuras

- Ensayo de intercomparación leche y huevo en matriz galleta
- Material de referencia certificado (leche en galleta)
- Cursos
- Grupos de trabajo
- Encuesta

# Actividades del JRC relacionadas con la ENFADL

2016



2019



2020



2021



2022



**ENFADL**

European Network  
of Food Allergen  
Detection Laboratories



## JRC TECHNICAL REPORTS

Joint DG SANTÉ and DG JRC workshop

Harmonisation of Approaches  
for informing EU allergen  
labelling legislation

*Meeting Location:  
Geel, Belgium  
16-17 June 2016*

G. O'connor, M. Haponiuk (DG  
SANTÉ), F. Ulberth

## 2016. Definición del mensurando

*... The most appropriate reporting unit  
for reporting analytical results is  
“mg total allergenic ingredient protein  
per kg food.”*

Research Paper | [Open Access](#) | [Published: 28 May 2019](#)

# An assessment of the impact of extraction and digestion protocols on multiplexed targeted protein quantification by mass spectrometry for egg and milk allergens

[Chiara Nitride](#), [Jørgen Nørgaard](#), [Jone Omar](#), [Hendrik Emons](#), [María-José Martínez Estesó](#) & [Gavin O'Connor](#) 

[Analytical and Bioanalytical Chemistry](#) **411**, 3463–3475 (2019) | [Cite this article](#)

## 2019. Desarrollo del método

“... optimisation of protein extraction & digestion fundamental to provide reliable quantification of proteotypic peptides .”

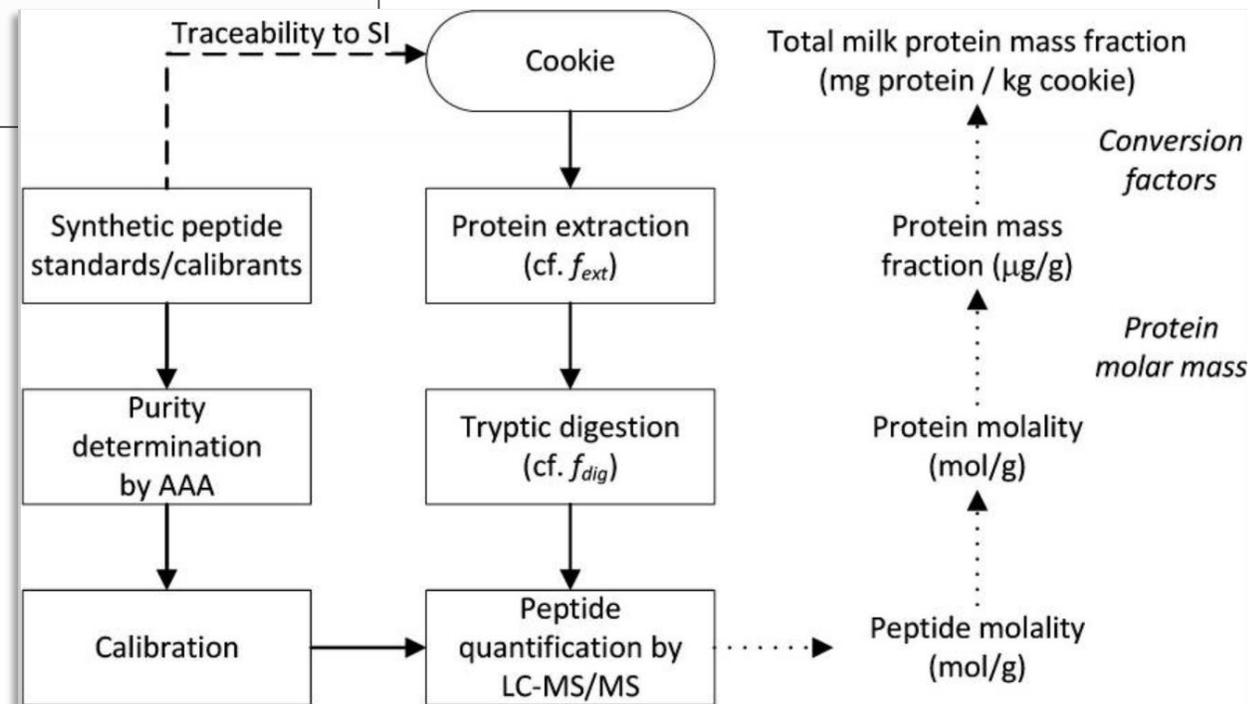
Paper in Forefront | [Open Access](#) | [Published: 02 October 2020](#)

# A reference method for determining the total allergenic protein content in a processed food: the case of milk in cookies as proof of concept

[Maria José Martínez-Esteso](#), [Gavin O'Connor](#), [Jørgen Nørgaard](#), [Andreas Breidbach](#), [Marcel Brohée](#), [Elena Cubero-Leon](#), [Chiara Nitride](#), [Piotr Robouch](#) & [Hendrik Emons](#) 

[Analytical and Bioanalytical Chemistry](#) **412**, 8249–8267 (2020) | [Cite this article](#)

## 2020. Método de referencia



Practitioner's Report | [Open Access](#) | [Published: 25 May 2021](#)

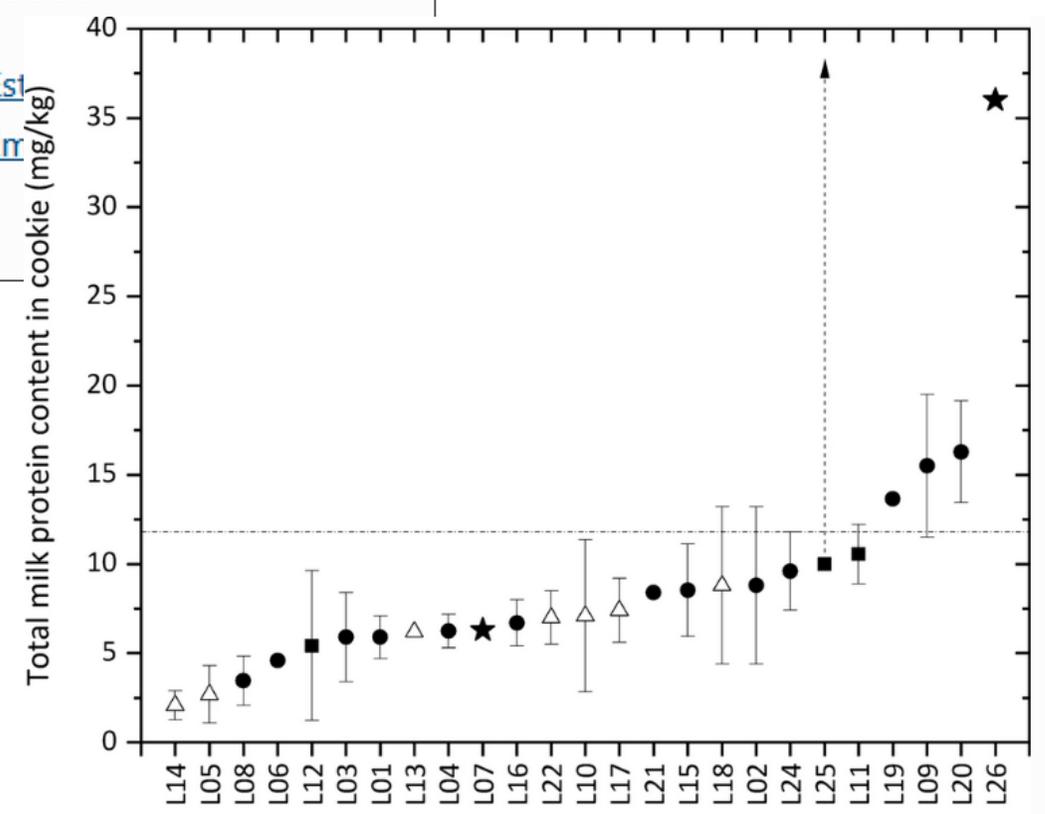
# Total cow's milk protein in cookies: the first interlaboratory comparison with a well-defined measurand fit for food allergen risk assessment

[Fernando Cordeiro](#) , [Elena Cubero-Leon](#), [Jørgen Nørgaard](#), [Maria José Martínez-Est](#)  
[Andreas Breidbach](#), [Aneta Cizek-Stroh](#), [Gavin O'Connor](#), [Piotr Robouch](#) & [Hendrik Er](#)

[Accreditation and Quality Assurance](#) **26**, 177–181 (2021) | [Cite this article](#)

## 2021. 1<sup>er</sup> PT:

- Mensurando acordado
- Valor del referencia



# Assignment of a Reference Value of Total Cow's Milk Protein Content in Baked Cookies Used in an Interlaboratory Comparison

by  Andreas Breidbach <sup>1,\*</sup>  ,  Jørgen Vinther Nørgaard <sup>1</sup> ,  Elena Cubero-Leon <sup>1</sup>  and  Maria Jose Martinez Estesó <sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> European Commission, Joint Research Centre (JRC), 2440 Geel, Belgium

<sup>2</sup> Department of Agrochemistry and Biochemistry, University of Alicante, Carrera de San Vincente del Raspeig s/n, San Vincente del Raspeig, 03690 Alicante, Spain

\* Author to whom correspondence should be addressed.

Academic Editors: Linda Monaci and Elisabetta De Angelis

*Foods* 2022, 11(6), 869; <https://doi.org/10.3390/foods11060869>

Received: 10 February 2022 / Revised: 8 March 2022 / Accepted: 16 March 2022 / Published: 18 March 2022

(This article belongs to the Special Issue **Food Allergens: Labelling, Characterization, Immunological and Allergological Detection in Food Sources**)

## 2022. Cálculo de incertidumbre

*... The uncertainty propagation law applied according to the GUM allowed for the identification of the major contributors to the combined uncertainty*

# Gracias a:

**Jorgen Nørgaard, Piotr Robouch,**

Gavin O'Connor, Hendrik Emons, María J. Martínez Esteso, Andreas Breidbach, Chiara Nitride, Katrien Bouten, Marcel Brohée

# Keep in touch



EU Science Hub: [ec.europa.eu/jrc](https://ec.europa.eu/jrc)



@EU\_ScienceHub



EU Science Hub – Joint Research Centre



EU Science, Research and Innovation



EU Science Hub



EU science

# Gracias

© European Union 2021

Unless otherwise noted the reuse of this presentation is authorised under the [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) license. For any use or reproduction of elements that are not owned by the EU, permission may need to be sought directly from the respective right holders.

Slides 5 and 12: cookies, milk and beer glass, source: Fotolia.com