

## Résumé

Le gluten est la protéine de réserve des céréales, il est constitué de prolamines et de gluténines. Les prolamines de blé (gliadine), d'orge (Hordéine) et de seigle (sécaline) déclenchent des réactions immunitaires chez certaines personnes prédisposées en provoquant l'apparition de certaines maladies telles que la maladie cœliaque (MC). Celle-ci touche 0.7 à 1.4% de la population mondiale et son incidence augmente considérablement au Maroc. Son traitement est basé sur le suivi du régime sans gluten (RSG) qui consiste à consommer des aliments naturellement et industriellement sans gluten. Au cours de la présente recherche, les 127 enfants et les adolescents cœliaques ayant bénéficié des investigations avaient un état nutritionnel médiocre (maigreur et insuffisance staturo-pondérale) avec une moyenne d'indice de masse corporelle (IMC) inférieure par rapport à celle des enfants et adolescents non-cœliaques. Le suivi du RSG a eu un impact positif sur l'état nutritionnel des patients cœliaques en permettant l'amélioration de leur IMC. Cependant, le nombre d'enfants obèses a augmenté significativement au cours du régime. En outre, les instruments d'évaluation de la qualité de vie (CD-Q ; CD-DUX) traduits, adaptés culturellement et validés puis utilisés dans la présente recherche ont montré des propriétés psychométriques acceptables chez les enfants et les adultes cœliaques. La fiabilité [Cohérence interne ( $\alpha$  de Cronbach), la reproductibilité (coefficients de corrélation intraclasse (ICC)), la validité (validité convergente, validité discriminante), et la réactivité (acceptation, effet de plancher et effet de plafond) des versions Arabo-Marocaine (M-CD-Q et M-CD-DUX) ont été étudiées au cours de ce processus d'adaptation montrant une bonne acceptation. M-CD-DUX a montré que la qualité de vie (QV) était médiocre chez 52 enfants et adolescent cœliaques surtout celle perçue par leurs tuteurs. Chez 112 adultes cœliaques, M-CD-Q a montré que leur QV était neutre. Cependant, le RSG n'a pas amélioré la QV ni chez les enfants ni chez les adultes. La QV était médiocre surtout pour les items et dimensions liés au RSG et aux aliments sans gluten (ASG). D'où l'importance accordée à la discussion des facteurs impactant la QV spécialement ceux en rapport avec les ASG.

Dans cette étude, nous avons remarqué que les ASG étaient peu disponibles au Maroc et leur prix était exorbitant (trois à quatre fois celui des produits équivalents contenant le gluten). Tel qu'évalué dans 184 échantillons d'aliments, leur qualité nutritionnelle était déséquilibrée en énergie et en macronutriments (teneur élevée en fibres et faible en protéines), et leur fortification par des suppléments tels que le fer ou les vitamines était quasiment-absente. La qualité microbiologique de ces aliments était caractérisée par l'absence d'agents pathogènes graves tels que *Salmonella* et *Listéria monocytogenes*. Cependant, les aliments naturellement sans gluten étaient contaminés surtout par des levures et moisissures, à cause de mauvaises conditions de stockage, rendant leur qualité microbiologique non-conforme. La qualité microbiologique était non acceptable pour les repas préparés à domicile en raison d'une contamination par *Staphylocoque aureus* et coliformes en rapport avec de mauvaises pratiques d'hygiène lors de la préparation.

En outre, les patients cœliaques étaient également préoccupés par la teneur exacte en gluten des produits sans gluten, qui ne doit pas dépasser un seuil de 20 mg/kg conformément aux recommandations du Codex Alimentarius de l'Organisation Mondiale de Santé. Dans ce cadre, 32 échantillons de produits étiquetés sans gluten (L-PSG) et 52 échantillons d'aliments naturellement sans gluten (N-ASG) ont subi une extraction de gluten par le cocktail solution Art. No. R7006, puis analysés par une technique immunoenzymatique (R5 ELISA Mendez méthode (RIDASCREEN Gliadin R7001)). L'analyse a permis de montrer que 25% des N-ASG et 21.9% des L-PSG étaient contaminés et la contamination était légèrement plus élevée dans les produits alimentaires fabriqués au Maroc comparativement à ceux importés (28.6% vs 16.7%). De plus, tous les produits à base d'avoine analysés étaient contaminés. D'où, l'importance à accorder au contrôle de sécurité des aliments, par la mise en place d'un système de gestion de risque (HACCP) adéquat afin de garantir la teneur en gluten et la qualité microbiologique de ces aliments.

Dans ce contexte, même si la réglementation marocaine concernant l'étiquetage des produits alimentaires contenant des allergènes ou du gluten est très avancée, cependant, la pratique de cette réglementation demeure encore limitée surtout en ce concerne l'utilisation des caractères spéciaux (gras ou italique) pour les distinguer dans la liste des ingrédients.

D'autre part, le patient cœliaque peut être lui-même une source de contamination croisée lors de la manipulation des aliments sans gluten. D'où, l'intérêt d'expliquer et de réexpliquer les bonnes pratiques de conduite du RSG par les médecins et les diététiciens. Dans ce cadre, l'évaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez les professionnels de santé a montré que la majorité des médecins n'ont reçu aucune formation dans ce sens. Cela implique la nécessité d'adopter des programmes d'éducation et de formation à propos de la sécurité alimentaire dans les hôpitaux marocains pour cette catégorie.

**Mots clés :** Maladie Coeliaque ; Régime Sans Gluten ; Aliments Sans Gluten ; Etat nutritionnel ; Cohorte ; Qualité de Vie ; Qualité Nutritionnelle ; Qualité microbiologique ; Teneur en gluten ; ELISA ; Réglementation des allergènes ; Sécurité Sanitaires des Aliments.

Morad GUENNOUNI

Impact du Régime Sans Gluten sur l'Etat Nutritionnel et la Qualité de Vie des patients atteints de la Maladie Coeliaque, Et Évaluation de la Qualité Nutritionnelle et Microbiologique, de la Teneur en prolamine et de la Sécurité Sanitaire des Aliments Sans Gluten

2022. Biologie, Santé et Environnement

Institut Supérieur des Sciences de la Santé-Settat

## THÈSE DE DOCTORAT

 Pour l'obtention de grade de Docteur en *Biologie et Santé*

 Formation Doctorale : **Biologie, Santé et Environnement**

 Spécialité : **Biologie et Santé, Sciences des aliments et Nutrition**

Sous le thème

### Impact du Régime Sans Gluten sur l'Etat Nutritionnel et la Qualité de Vie des patients atteints de la Maladie Coeliaque, Et Évaluation de la Qualité Nutritionnelle et Microbiologique, de la Teneur en prolamine et de la Sécurité Sanitaire des Aliments Sans Gluten

Présentée par :

**Morad GUENNOUNI**

 Soutenue le : **03/02/2021**

A l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé de Settat devant le jury composé de :

Pr. Said HILALI	PES	Faculté de Sciences et Techniques- Settat	Président
Pr. Rekia BELAHSEN	PES	Faculté de Sciences - El Jadida	Rapporteuse
Pr. Brahim BENAJI	PES	École Nationale Supérieur des Arts et Métiers-Rabat	Rapporteur
Pr. Mohamed CHAHBOUNE	PH	Institut Supérieur des Sciences de la Santé- Settat	Rapporteur
Pr. Brahim ADMOU	PES	Faculté de médecine et de Pharmacie- Marrakech	Examineur
Pr. Nouredine ELKHOUDRI	PH	Institut Supérieur des Sciences de la Santé- Settat	Co-Directeur de thèse
Pr. Aicha BOURRAHOUE	PES	Faculté de médecine et de Pharmacie- Marrakech	Co-Directrice de thèse
Pr. Abderraouf HILALI	PES	Institut Supérieur des Sciences de la Santé- Settat	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2021/2022



Institut Supérieur des Sciences de la Santé-Settat

## THÈSE DE DOCTORAT

*Pour l'obtention de grade de Docteur en Biologie et Santé*

Formation Doctorale : **Biologie, Santé et Environnement**

Spécialité : **Biologie et Santé, Sciences des aliments et Nutrition**

Sous le thème

**Impact du Régime Sans Gluten sur l'Etat Nutritionnel et la Qualité de Vie des patients atteints de la Maladie Cœliaque, Et Évaluation de la Qualité Nutritionnelle et Microbiologique, de la Teneur en prolamine et de la Sécurité Sanitaire des Aliments Sans Gluten**

*Présentée par :*

**Morad GUENNOUNI**

Soutenue le : 03/02/2022

A l'Institut Supérieur des Sciences de la Santé de Settat devant le jury composé de :

Pr. Said HILALI	PES	Faculté de Sciences et Techniques- Settat	Président
Pr. Rekia BELAHSEN	PES	Faculté de Sciences - El Jadida	Rapporteuse
Pr. Brahim BENAJI	PES	École Nationale Supérieur des Arts et Métiers-Rabat	Rapporteur
Pr. Mohamed CHAHBOUNE	PH	Institut Supérieur des Sciences de la Santé- Settat	Rapporteur
Pr. Brahim ADMOU	PES	Faculté de médecine et de Pharmacie- Marrakech	Examineur
Pr. Nouredine ELKHOUDRI	PH	Institut Supérieur des Sciences de la Santé- Settat	Co-Encadrant de thèse
Pr. Aicha BOURRAHOUE	PES	Faculté de médecine et de Pharmacie- Marrakech	Co-Encadrante de thèse
Pr. Abderraouf HILALI	PES	Institut Supérieur des Sciences de la Santé- Settat	Directeur de thèse

# REMERCIEMENTS

\*\*\*\*\*

Avant d'exposer les résultats de la présente thèse, mes plus sincères remerciements vont aux :

-Madame la Professeure **Khadija ESSAFI**, Présidente de l'Université Hassan 1<sup>er</sup>

-Monsieur le Professeur **Bouchaib BENCHARKI**, Directeur de centre d'étude doctorale de la Faculté des Sciences et Technique de Settat pour l'intérêt qu'ils portent à la recherche scientifique.

-Monsieur le Directeur **Abderraouaf HILALI**, Directeur de l'Institut Supérieur de Science de la Santé de Settat pour leurs efforts pour l'accédétation d'assez de filière et les partenariats avec beaucoup d'établissement à l'échel national et international.

-Monsieur le Professeur **Saad ELMADANI**, Directeur de centre d'étude doctorale et directeur adjoint de l'Institut Supérieur de Science de la Santé de Settat (ISSS-Settat) pour leur effort qui donne à la recherche scientifique.

-Madame la Professeure **Ibtissam MARFAK YALOUZ**, Directrice adjointe de la recherche scientifique à l'Institut Supérieur de Science de la Santé de Settat (ISSS-Settat) pour leur effort dans la recherche scientifique.

-Monsieur le Professeur **Abderraouaf HILALI**, Directeur de l'Institut Supérieur de Science de la Santé de Settat et mon Directeur de thèse pour son soutien, son orientation, sa disponibilité malgré ses obligations professionnelles,

-Madame **Aicha. BOURRAHOUAT**, Professeure à Faculté des Médecine et de Pharmacie de Marrakech (FMPM) et mon Co-encadrante pour son aide et son soutien.

-Monsieur le Professeur **Noureddine EL KHOUDRI** Professeur à l'ISSS-Setatt et pour son co-encadrement.

-Monsieur le professeur **Brahim ADMOU** Professeur à FMPM, chef de service d'immunologie et Directeur de centre de recherche clinique au CHU Med VI de Marrakech.

-Monsieur le Professeur **Lahsen ELMOUMOU**, Professeur à l'Institut Supérieur des Professions Infirmières et Techniques de santé d'Agadir (ISPITS-Agadir).

-Madame la professeure **Imane AIT SAB**, Professeure à FMPM et chef de service de pédiatrie B de CHU Med VI de Marrakech.

-Madame la professeure **Khadija KRATI**, Professeure à FMPM et chef de service de gastro-entérologie de CHU Med VI de Marrakech.

-Madame la professeure **Nabila SORAA**, Professeure à FMPM et chef de service de microbiologie de CHU Mohammed VI.

-Madame la professeure **Asmae LAMRANI**, Professeure en microbiologie à FMPM.

-A *Mr Dr Abdelaziz AIT MELOUL*, Directeur de laboratoire d'Épidémiologie et d'Hygiène du Milieu de Marrakech.

-Nos sincères remerciements à Mme **Zahra ELAOURI** et Mr **Abdelkader MARRAH**, professeurs universitaires en anglais (spécialité : traduction) de la Faculté de Lettre et Sciences Humains de Marrakech pour leur aide durant le processus de la traduction des questionnaires.

-Monsieur le professeur **Said HILALI** d'avoir accepté de présider mon jury de soutenance.  
Veuillez trouver l'expression de mon grand respect.

-Madame la professeur **Rekia BELAHSEN**, je vous remercie d'avoir accepté avec générosité de juger mon travail scientifique. Je vous exprime toute ma gratitude.

-Monsieur le professeur **Brahim BENAJI**, je suis très honoré de votre présence dans ce jury.  
Soyez assuré de mes vifs remerciements et de ma parfaite considération

-Monsieur le professeur **Mohamed CHAHBOUNE**, je suis très heureuse de votre présence avec les membres ce jury. Mes respects et mes admirations sont très profonds.

## ***Merci***

***Aux enseignants et au personnel des laboratoires de Sciences et technologie de la santé de l'ISSS de Settat, Université Hassan I<sup>er</sup>, pour votre gentillesse.***

***À l'ensemble du personnel médical et paramédical de service pédiatrie "B", et de service de gastro-entérologie de CHU Mohamed VI, pour vos accueils.***

***A Mr M. AMEGRISSI Mustapha responsable de l'unité diététique au CHU Mohamed VI, pour votre accueil et votre aide.***

***À l'ensemble du Technicien de laboratoire de service d'Immunologie et de bactériologie, CHU Mohamed VI, pour vos soutiens et aides.***

***À l'ensemble du personnel de laboratoire d'Épidémiologie et d'Hygiène du Milieu de Marrakech, pour vos aides, Mes sincères remerciements s'adressent à vous surtout à techniciens d'hygiène affecté à ce laboratoire.***

***Aux responsables de l'Association Marocaine de l'Intolérants Au Gluten (AMDIAG), et L'association BASMA Nationale des Maladies Cœliaques et Allergiques Au Blé pour vos collaborations et la mise à ma disposition les outils nécessaires de travail.***

***Enfin, je tiens à remercier sincèrement toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de cette étude.***

# DEDICACES

\*\*\*\*\*

*A l'âme pure de mon père « اللهم ارحمه واكرم نزله »*

*A ma mère « اللهم احفظها وبارك في عمرها »*

*A ma famille pour leur encouragement*

*A mon frère et mes sœurs pour leur soutien moral et leur aide indéfini.*

*A mes amis. Mes sincères remerciements s'adressent à vous surtout à Mr A. BRAZZI.*

*Je dis merci à toutes les personnes qui m'ont apporté une aide précieuse*

# Avant-propos

\*\*\*\*\*

- Nom et Prénom de l'auteur : **GUENNOUNI MORAD.**
- Intitulé du travail : **Impact du Régime Sans Gluten sur l'Etat Nutritionnel et la Qualité de Vie des Patients atteints de la Maladie Cœliaque, Et Évaluation de la Qualité Nutritionnelle et Microbiologique, de la teneur en prolamine et de la Sécurité Sanitaire des Aliments Sans Gluten.**
- Directeur de thèse : **HILALI Abderraouaf, Directeur et Professeur de l'Enseignement Supérieur de l'Institut Supérieur de Sciences de la Santé de Settat.**
- Laboratoire et institution : **Laboratoire de Science et Technologies de la Santé (STS)-I3S, Institut Supérieur de Science de la Santé, Settat (ISSS).**
- Rapporteurs autres que l'encadrant (nom, prénom, grade, institution) :
  - \* **BOURROUHAUT Aicha** Professeure de l'Enseignement Supérieur à Faculté des Médecine et de Pharmacie de Marrakech.
  - \* **EL KHOUDRI Noureddine** Professeur habilité à l'Institut Supérieur de Science de la Santé de Settat.
- Lieux de réalisation des travaux (laboratoires, institution,...) :
  - ✚ **Laboratoire de Science et Technologies de la Santé (STS)-I3S ;**
  - ✚ **Service de pédiatrie B de CHU Mohamed VI de Marrakech ;**
  - ✚ **Service de Gastro-entérologie de CHU de Marrakech ;**
  - ✚ **Unité diététique au CHU Med VI de Marrakech ;**
  - ✚ **Laboratoire d'immunologie de CHU Med VI de Marrakech ;**
  - ✚ **Laboratoire de Microbiologie de CHU Med VI de Marrakech ;**
  - ✚ **Laboratoire d'Épidémiologie et d'Hygiène du Milieu de Marrakech ;**
  - ✚ **Les services liées à la diététique et à la nutrition au CHU Med VI de Marrakech y compris :**

➤ **Service de restauration,**

➤ **Service d'hygiène**

✓ **Association Marocaine de l'Intolérants Au Gluten (AMDIAG)**

✓ **Association BASMA Nationale des Maladies Cœliaques et Allergiques Au Blé**

✓ **Centre de recherche clinique du CHU Med VI de Marrakech**

- Période de réalisation du travail de thèse : **2017 à 2022.**

- Ce travail a donné lieu aux résultats suivants (communications, publications,...) :

### **Articles:**

1. **GUENNOUNI, M., ELKHOUDRI, N., BOURRHOUAT, A., & HILALI, A. (2020). Assessment of quality of life in children, adolescents, and adults with celiac disease through specific questionnaires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 34(3) : 194-200.  
[DOI:10.1016/j.nupar.2020.03.006](https://doi.org/10.1016/j.nupar.2020.03.006)**
2. **GUENNOUNI, M., EL KHOUDRI, N., BOURRHOUAT, A., & HILALI, A. (2020). Nutritional quality of gluten-free products in Moroccan supermarkets and e-commerce platforms. *Cereal Chemistry*, 97(5): 912-920.  
[DOI : 10.1002/cche.10313](https://doi.org/10.1002/cche.10313)**
3. **GUENNOUNI, M., EL KHOUDRI, N., BOURROUHOATE, A. & HILALI, A. (2020), "Availability and cost of gluten-free products in Moroccan supermarkets and e-commerce platforms", *British Food Journal*, 124(1): 1-13.  
[DOI :10.1108/BFJ-06-2019-0411](https://doi.org/10.1108/BFJ-06-2019-0411)**
4. **Guennouni, M., Khoudri, N., Gharbi, L., Bourrahouate, A., Admou, B. and Hilali, A. (2021). Characteristics, Availability, and Cost of Lactose-free Labelled Products in Moroccan Supermarkets. In Proceedings of the 2nd International Conference on Advanced Technologies for Humanity - Volume 1: ICATH, ISBN 978-989-758-514-2, pages 122-126. [DOI: 10.5220/0010430401220126](https://doi.org/10.5220/0010430401220126)**



5. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., BOURRAHOUE, A., EL KHOUDRI, N. & HILALI, A. (2021). Quality of life in Moroccans coeliac children and adolescent: Arabic translation and validation of a coeliac disease DUX. *Journal of pediatric nursing*. 62: e1-e7. [DOI:10.1016/j.pedn.2021.06.011](https://doi.org/10.1016/j.pedn.2021.06.011)**
6. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., ZOGAAM GHARBI, L., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUE, A., EL MOUMOU, L. & HILALI, A. Gluten Contamination in Labelled Gluten-free, Naturally Gluten-Free, and Meals in Food Services in Low, Middle, and High-income Countries: A Systematic Review and Meta-analysis. *British Journal of Nutrition*. pp. 1 – 15. [DOI: 10.1017/S0007114521002488](https://doi.org/10.1017/S0007114521002488)**
7. **GUENNOUNI, M., BOURRAHOUE, A., EL KHOUDRI, N., ADMOU, B., EL QADIRY, R., HAKMAOUI, A., & HILALI, A. (2021). Evaluation of adherence to gluten-free diets in Moroccan celiac patients and factors of adherence failure. *E3S Web Conference*. Volume 319, International Congress on Health Vigilance (VIGISAN 2021). [DOI: 10.1051/e3sconf/202131901019](https://doi.org/10.1051/e3sconf/202131901019).**
8. **GUENNOUNI, M., ADMOU B., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUE, A., MACHRAOUI, S., JASNY, E., HILALI, A. (2022). Allergen's labeling of food products: regulatory practices in Morocco. *British Food Journal*. [DOI : 10.1108/BFJ-05-2021-0533](https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2021-0533)**
9. **GUENNOUNI, M., ADMOU; B., BOURRAHOUE, A., El Khoudri, N., ZKHIRI, Z., Ibtissam TALHA, I., HAZIME, R., Hilali. (2022). Knowledge and practices of food safety among healthcare professionals and handlers working in the kitchen of a Moroccan University hospital. *Journal of Food Protection*. [DOI: 10.4315/JFP-21-305](https://doi.org/10.4315/JFP-21-305)**

**✚ Articles co-auteur :**

1. ZOGAAM GHARBI, L., **GUENNOUNI, M.**, & AOUANE, M. (2021, February). **Factors influencing the choice to buy food products in Morocco**. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 234, p. 00035). EDP Sciences.  
DOI: 10.1051/e3sconf/202123400035
2. BENAKKA, L., GHARBI, L. Z., **GUENNOUNI, M.**, BEJAJI, Z., & AOUANE, M. (2021). **A study of the microbiological and physico-chemical quality of drinking water intended for human consumption in the town of Kenitra**. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 234, p. 00061). EDP Sciences.

3. HANCHI LAMRANI, H., **GUENNOUNI, M.**, RACHIDI, R., BENHOUMICH, T., BOURROUS, B., MAOULAININE, F., YOUNOUS, S., BOUSKRAOUI, M., SORAA, N. (2021). **Epidemiology of Respiratory pathogens in children with Severe Acute respiratory Infection and impact of the multiplex PCR Film Arrey respiratory panel: A 2 years study.** *International Journal of Microbiology*.
4. ADMOU, B., ZKHIRI, W., **GUENNOUNI, M.**, & HAZIME, R. (2021). **Maladie cœliaque: au carrefour de la médecine, de la diététique et de la pharmaceutique.** *La Presse Médicale Formation*.

#### **Communications:**

1. **GUENNOUNI, M.**, EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUE, A., & HILALI A. **The gluten free diet and Obesity.** Congrès **International sur l'Innovation, la Qualité & la Sécurité Sanitaire des Aliments** à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès du 28 au 30 Novembre 2018.
2. **GUENNOUNI, M.**, EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUE, A. & HILALI, A. **Cost and Availability of gluten free product.** Congrès **International sur l'Innovation, la Qualité & la Sécurité Sanitaire des Aliments** à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès du 28 au 30 Novembre 2018.
3. **GUENNOUNI, M.**, EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUE, A. & HILALI A. **Changeement of BMI under a gluten free diet.** 1<sup>er</sup> Colloque **International** sur la Recherche en Agroalimentaire sous thème « **Innovations et nouvelles tendances** » du 05 au 06 Février 2019 à Faculté Polydisciplinaire Larache.
4. **GUENNOUNI, M.**, EL KHOUDRI, N., ZOGAAM GHARBI, L., BOURRAHOUE, A., ADMOU, B. & HILALI, A. **Characteristics, Availability, and Cost of Lactose-free Labelled Products in Moroccan Supermarkets.** **International conference on advanced Technologies for Humanity**, du 20 au 21 Novembre 2020 à Rabat.
5. **GUENNOUNI, M.**, EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUE, A., & HILALI, A. **Assessment of adherence to gluten-free diet in Moroccan celiac patients and factors of adherence failure.** Congrès du Nord Africain de Micronutrition « une alimentation saine, un microbiote sain, pour un monde sain ». Du 12 au 13 Décembre 2019 à Casablanca

### **Articles sous révision :**

1. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., BOUCHRTIT, S., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUAT, A., KRATI, K. & HILALI, A. Quality of life in Moroccan coeliac patients: Arabic translation, cross-cultural adaptation and validation of CD-Q.** *Arab Journal of Gastroenterology.*
2. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., EL KHOUDRI, N., EL QADIRY, R., BOURRAHOUAT, A. & HILALI, A. Assessment of the Nutritional Status of Coeliac Children and Adolescents And Effectiveness of gluten-free diet on the Body Mass Index. Topics in clinical nutrition.**
3. **GUENNOUNI, M., EL MOUMOU, L., ADMOU, B., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUAT, A. & HILALI, A. Detection of Gluten Content in Foods Labeled Gluten-Free and Naturally Gluten-Free Available in Morocco.**
4. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUAT, A., LAMRANI, A., SORAA, N., AIT MELOUL, A. & HILALI, A. Microbiological Quality of Labelled Gluten-free, Naturally Gluten-free, and Meals in Food Services. (2021).**

### **Articles en cours :**

1. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUAT, A. & HILALI, A. Meta-analysis: Impact of Adherence to Gluten-Free Diet on Quality of Life in Children, Adolescents and Adults with Celiac Disease using Specific Instruments**
2. **GUENNOUNI, M., ADMOU, B., EL KHOUDRI, N., BOURRAHOUAT, A. & HILALI, A. Validation of a Food Frequency Questionnaire (FFQ) for the Assessment of Nutrient Intakes and gluten.**

# Table des matières

\*\*\*\*\*

REMERCIEMENTS

DEDICACES

AVANT PROPOS

RESUME

SUMMARY

ملخص

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS

**INTRODUCTION GENERALE :..... 1**

**BIBLIOGRAPHIE : Maladie Cœliaque, Régime Sans Gluten, Aliments Sans Gluten, Qualité de Vie, Technique de Détection de Gliadine dans les Aliments et Sécurité Sanitaire des Aliments.....8**

**I. Maladie Cœliaque.....9**

I.1. Définition .....9

I.2. Historique .....9

I.3. Epidémiologie .....10

I.4. Physiopathologie & Malabsorption Intestinale .....11

I.5. Les formes de la maladie cœliaque .....15

I.6. Les aspects cliniques .....16

I.7. Diagnostic (Tests sérologiques & Tests histologiques).....17

I.8. Maladies associées & complications.....21

I.9. Prise en charge de la maladie cœliaque .....21

I.10. Nouveaux espoirs thérapeutiques .....22

<b>II. Gluten, Régime sans gluten et Produits alimentaires sans gluten.....</b>	<b>23</b>
II.1. Céréales & Gluten : Généralités.....	23
II.2. Toxicité de gluten.....	25
II.3. Rôle de gluten dans les aliments.....	27
II.4. Pathologies liées au gluten.....	28
II.5. Régime sans gluten.....	29
II.6. Avoine & Régime sans gluten.....	30
II.7. Autres utilisations du régime sans gluten.....	31
II.8. Application de régime sans gluten .....	31
II.9. Aliments autorisées & interdits dans le régime sans gluten .....	31
II.10. Médicaments autorisés & interdits dans le régime sans gluten.....	33
II.11. Adhérence au régime sans gluten.....	33
II.12. Aliments alimentaires sans gluten.....	34
II.12.1. Définition & Réglementation.....	34
II.12.2. L'étiquetage des produits alimentaires sans gluten.....	35
II.12. 3. Disponibilité & Prix des produits alimentaires sans gluten.....	38
II.12.4. Qualité nutritionnelle des produits alimentaires sans gluten.....	38
II.12.5. Qualité microbiologique des aliments sans gluten.....	39
II.12.5.1. Germes pathogènes dans les denrées alimentaires.....	40
II.12.5.2 Méthodes de recherche et de dénombrement des germes dans les aliments.....	42
12.5.3. Conformité de la qualité des aliments selon les normes.....	43
II.12.5.4. Technique de conservation des aliments.....	44
II.12.5.5. Moyens de prévention contre les maladies d'origine alimentaire....	44
 <b>III. Qualité de Vie Liée à la Santé &amp; Maladie cœliaque.....</b>	<b>45</b>
III.1.Définition de la QV.....	45
III.2. Définition de la QVLS.....	45
III.3. QVLS chez les patients cœliaques.....	45
III.4. Outils d'évaluation de la QVLS chez les patients cœliaques.....	45
III.4.1. Instruments génériques chez les adultes cœliaques .....	46
III.4.2. Instruments génériques chez les enfants et adolescents cœliaques.....	46
III.4.3. Instruments spécifiques chez les adultes cœliaques .....	47
III.4.4. Instruments spécifiques chez les enfants et adolescents cœliaques.....	47

<b>IV. Techniques d'analyses de détection de gluten dans les aliments sans gluten.....</b>	<b>49</b>
IV.1. Techniques immunologiques.....	51
IV.1.1 ELISA.....	51
IV.1.1.1. $\omega$ -Gliadine ELISA.....	52
IV.1.1.2. ELISA R5.....	52
IV.1.1.3. G12 ELISA & A1 ELISA.....	53
IV.1.1.4. Anticorps polyclonaux.....	54
IV.1.2. Western blot.....	56
IV.1.3. Dispositifs à flux latéral (Lateral Flow Devices) et jauges.....	56
IV.1.4. Biocapteurs.....	56
IV.2. Techniques non immunologiques.....	57
IV.2.1 Techniques protéomiques.....	57
IV.2.1. Réaction en Chaîne de la Polymérase (PCR).....	58
<b>V. Pratiques et Connaissances en matière de la Sécurité Sanitaire des Aliments chez les personnels de la santé liés à la nutrition.....</b>	<b>61</b>
V.1. Généralités.....	61
V.2. Connaissances et pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments .....	64
<b>MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>68</b>
<b>I. Impact de RSG sur l'état nutritionnel et QV chez les patients cœliaques.....</b>	<b>70</b>
I.1. Impact de RSG sur l'état nutritionnel des patients cœliaques.....	70
I.2. Validation des questionnaires spécifiques à la MC et l'évaluation de la QV et l'impact de RSG.....	71
I.2.1. Etapes de traduction, adaptation culturelle.....	72
I.2.2. Etapes de validation.....	72
I.3.2.1. L'acceptation, l'effet de plafond et l'effet de plancher.....	72
I.3.2.2. -la fiabilité (cohérence interne et reproductibilité).....	72
I.3.2.3. la validité (structurelle, convergente et discriminante).....	73
I.3.2.4. -la sensibilité au changement .....	73
I.2.3. Calcul des Scores.....	73
I.2.4. Scores Enfant/proxy.....	74
I.2.5. Validation de questionnaire à travers l'instrument générique.....	74

I.2.6. Application de la version Marocaine de CD-Questionnaire adaptée.....	75
<b>II. Disponibilité, prix, qualité nutritionnelle, qualité microbiologique, teneur en gliadine des aliments sans gluten .....</b>	<b>75</b>
II. 1. Disponibilité, prix, qualité nutritionnelle des aliments sans gluten.....	75
II.1.1. Disponibilité et calcul des coûts.....	77
II.1.2. Teneur nutritionnelle.....	77
II.2. Qualité microbiologique des aliments sans gluten.....	77
II.2.1. préparation de l'échantillon alimentaire.....	78
II.2.2. Méthodes de recherche et de dénombrement.....	79
II.3. Teneur en gliadine des aliments sans gluten.....	81
II.3.1 Principe du test ELISA R5 sandwich Gliadin.....	81
II.3.2. Préparation des échantillons et extraction de Gluten.....	82
III.3.3. La réalisation des tests.....	83
III.3.4. Lecture et interprétation des résultats.....	84
<b>III. Evaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez les personnels de la santé liée à la nutrition et à la restauration hospitalière.....</b>	<b>85</b>
III.1. Sujets.....	85
III.1. Questionnaire.....	85
<b>RESULTATS.....</b>	<b>87</b>
<b>CHAPITRE 1 : EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE CŒLIAQUE AU MAROC ET L'ETAT NUTRITIONNEL DES PATIENTS CŒLIAQUES.....</b>	<b>88</b>
<b>A/ Incidence et prévalence de la maladie cœliaque au Maroc.....</b>	<b>89</b>
<b>B/ Évaluation de l'Etat Nutritionnel des Enfants et Adolescents Cœliaque Et Efficacité du Régime Sans Gluten sur l'Indice de Masse Corporelle.....</b>	<b>95</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>98</b>
<b>2. Méthodologie.....</b>	<b>99</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>101</b>
3.1. Caractéristiques de la cohorte cœliaque et des contrôles.....	101
3.2. Mesures anthropométriques des patients et des contrôles avant régime..	101
3.3. .Effet du suivi sur le régime sans gluten.....	104

<b>4. Discussion.....</b>	<b>106</b>
<b>5. Limitations.....</b>	<b>110</b>
<b>6. Conclusion.....</b>	<b>111</b>

**CHAPITRE 2 : ADAPTATION DES QUESTIONNAIRES SPECIFIQUES A LA MALADIE CŒLIAQUE ET EVALUATION DE LA QUALITE DE VIE.....112**

**A / Adaptation de questionnaire spécifique à la maladie cœliaque chez les enfants et adolescents Marocains (CD-DUX) pour l’Evaluation de leur Qualité de Vie.....113**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>116</b>
<b>2. Matériels &amp; Méthodes.....</b>	<b>117</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>121</b>
3.1. Traduction, adaptation culturelle et évaluation sémantique.....	121
3.2. Fiabilité (cohérence interne et reproductibilité), effet plafond et plancher.....	122
3.3. Caractéristiques socio-économiques et démographiques des participants.....	122
3.4. Analyse factorielle de confirmation et ajustement du modèle (validité de concept).....	125
3.5. Application du CD-DUX marocain (M-CD-DUX).....	125
3.6. Concordance enfant / proxy.....	125
3.7. Influence des caractéristiques socioéconomiques et médicales.....	126
3.8. Validité discriminante (influence du régime sur la qualité de vie).....	126
<b>4. Discussion.....</b>	<b>128</b>
<b>5. Conclusion.....</b>	<b>130</b>

**B / Adaptation de questionnaire spécifique à la maladie cœliaque chez les adultes Marocains (CD-Q) pour l’Evaluation de leur Qualité de Vie.....131**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>134</b>
<b>2. Matériels &amp; Méthodes.....</b>	<b>135</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>140</b>
3.1. Traduction, adaptation culturelle et évaluation sémantique.....	140
3.2. Fiabilité (cohérence interne et reproductibilité), effet plafond et plancher.....	142
3.3. Caractéristiques socio-économiques et démographiques des participants.....	143
3.4. Propriétés psychométriques du M-CD-Q.....	143
3.4.1. Acceptation, effet plafond et effet plancher du M-CD-Q.....	143
3.4.2. Cohérence interne de M-CD-Q.....	144



3.5. Analyse factorielle de confirmation et ajustement du modèle (validité de concept).....	145
3.6. Scores du questionnaire marocain sur la maladie cœliaque (M-CD-Q).....	145
3.7. Validité convergente (M-CD-Q vs MOS SF-36).....	145
3.8. Influence des caractéristiques socioéconomiques et médicales.....	147
3.9. Validité discriminante (influence du régime sur la qualité de vie).....	147
<b>4. Discussion.....</b>	<b>149</b>
<b>5. Conclusion.....</b>	<b>151</b>

### **CHAPITRE 3 : DISPONIBILITE, PRIX ET QUALITE NUTRITIONNELLE ET DES ALIMENTS SANS GLUTEN.....152**

#### **A/ Disponibilité et Prix des aliments agro-alimentaires sans gluten.....153**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>156</b>
<b>2. Méthodologie.....</b>	<b>157</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>160</b>
3.1. Disponibilité de produits sans gluten.....	160
3.2. Coût des produits sans gluten .....	161
<b>4. Discussion.....</b>	<b>166</b>
<b>5. Limitations.....</b>	<b>170</b>
<b>6. Conclusions.....</b>	<b>170</b>

#### **B/ Qualité Nutritionnelle des aliments agro-alimentaires sans gluten.....171**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>174</b>
<b>2. Méthodologie.....</b>	<b>175</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>178</b>
3.1. Composition nutritionnelle des Produits sans gluten et équivalents.....	178
3.1.1. Macronutriments et contenu énergétique.....	178
3.1.2 Micronutriments.....	182
3.2. Fortification.....	182
<b>4. Discussion.....</b>	<b>180</b>
<b>5. Limitations.....</b>	<b>186</b>
<b>6. Conclusions.....</b>	<b>186</b>

**CHAPITRE 4 : QUALITE MICROBIOLOGIQUE ET TENEUR EN GLIADINE DES ALIMENTS SANS GLUTEN.....188**

**A / Qualité microbiologique des aliments sans gluten.....189**

**1. Introduction.....192**

**2. Méthodologie.....193**

**3. Résultats.....200**

**5. Discussion.....203**

**5. Limitations.....204**

**6. Conclusion.....204**

**B / teneur en gliadine dans les aliments sans gluten.....206**

**1. Introduction.....209**

**2. Méthodologie.....210**

**3. Résultats.....212**

3.1. Produits labellisés sans gluten.....213

3.2. Aliments naturellement sans gluten .....213

3.3. Non-conformité selon les catégories d'aliments et les ingrédients de base.....213

**5. Discussion.....216**

**5. Limitations.....219**

**6. Conclusion.....219**

**CHAPITRE 5 : LA PRATIQUE DE LA REGLEMENTATION DE L'ETIQUETAGE DES ALLERGENES (GLUTEN ET D'AUTRES) DANS LES PRODUITS AGRO-ALIMENTAIRES.....220**

**1. Introduction.....223**

**2. Méthodologie.....224**

**3. Résultats.....225**

3.1 Allergènes déclarés.....225

3.2 Pratiques d'étiquetage des allergènes.....227

3.3 La réglementation marocaine vs autres réglementations.....229

**5. Discussion.....230**

**5. Limitations.....232**

**6. Conclusion.....223**

**CHAPITRE 6 : EVALUATION DES CONNAISSANCES ET DES PRATIQUES EN  
MATIERE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS CHEZ LES PERSONNELS  
DE LA SANTE LIES A LA NUTRITION ET A LA RESTAURATION DANS LES  
HOPITAUX MAROCAINS.....234**

**1. Introduction.....237**

**2. Subjects & Methods.....238**

**3. Résultats.....240**

3.1 Caractéristiques générales de l'échantillon.....240

3.2. Formation sur la sécurité des aliments.....241

3.3. Connaissance de la sécurité alimentaire.....242

3.3.1. Connaissance de l'intoxication alimentaire.....242

3.3.2. Connaissance de la contamination croisée.....242

3.3.5. Connaissance du stockage des aliments.....242

3.4. Pratiques alimentaires.....242

3.4.1. Réponses des employés de la cuisine de l'hôpital aux questions sur les  
pratiques..... 242

3.4.2. Réponses des personnels de la santé aux questions sur les pratiques...243

3.5. Relations entre les caractéristiques démographiques et la connaissance de la  
sécurité alimentaire.....244

3.6. Relations entre les caractéristiques démographiques et la pratique alimentaire..244

3.7. Corrélation entre les connaissances en matière de sécurité alimentaire et les  
pratiques en matière de sécurité alimentaire.....246

**4. Discussion.....247**

**5. Conclusion.....248**

**DISCUSSION GENERALE.....250**

**CONCLUSION GENERALE.....283**

**RECOMMANDATIONS & PERSPECTIVES .....289**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....293**

**ANNEXES**

## Résumé

\*\*\*\*\*

Le gluten est la protéine de réserve des céréales, il est constitué de prolamines et de gluténines. Les prolamines de blé (gliadine), d'orge (Hordéine) et de seigle (sécaline) déclenchent des réactions immunitaires chez les personnes prédisposées en provoquant certaines maladies telles que la maladie cœliaque (MC). Celle-ci touche 0.7 à 1.4% de la population mondiale et son incidence augmente au Maroc. Son traitement est basé sur le suivi du régime sans gluten (RSG) qui consiste à consommer des aliments naturellement et industriellement sans gluten. Au cours de la présente recherche, les 127 enfants et les adolescents cœliaques avaient un état nutritionnel médiocre (maigre et insuffisance staturo-pondérale) inférieur par rapport à celle des contrôles non-cœliaques. Le suivi du RSG a eu un impact positif sur l'état nutritionnel des patients cœliaques en permettant l'amélioration de leur indice de masse corporelle. Cependant, le nombre d'enfants obèses a augmenté significativement au cours du régime. En outre, les instruments d'évaluation de la qualité de vie (CD-Q ; CD-DUX) traduits, adaptés culturellement et validés puis utilisés dans la présente recherche ont montré des propriétés psychométriques acceptables chez les enfants et les adultes cœliaques. La fiabilité [Cohérence interne ( $\alpha$  de Cronbach), la reproductibilité (coefficients de corrélation intraclasse), la validité (validité convergente et discriminante), et la réactivité (acceptation, effet de plancher et de plafond) des versions Arabo-Marocaine (M-CD-Q et M-CD-DUX) ont été étudiées au cours de ce processus d'adaptation montrant une bonne acceptation. M-CD-DUX a montré que la qualité de vie (QV) était médiocre chez 52 enfants et adolescent cœliaques. Chez 112 adultes cœliaques, M-CD-Q a montré que leur QV était neutre. Cependant, le RSG n'a pas amélioré la QV ni chez les enfants ni chez les adultes. La QV était médiocre surtout pour les dimensions liées au RSG et aux aliments sans gluten (ASG).

Dans cette étude, nous avons remarqué que les ASG étaient peu disponibles au Maroc et leur prix était exorbitant que celui des produits équivalents contenant le gluten. Tel qu'évalué dans 184 échantillons d'aliments, leur qualité nutritionnelle était déséquilibrée en énergie et en macronutriments (teneur élevée en fibres et faible en protéines), et leur fortification par des suppléments tels que le fer ou les vitamines était quasiment-absente. La qualité microbiologique de ces aliments était caractérisée par l'absence d'agents pathogènes graves tels que *Salmonella* et *Listéria monocytogenes*. Cependant, les aliments naturellement SG étaient contaminés surtout par des levures et moisissures, à cause de mauvaises conditions de stockage, rendant leur qualité microbiologique non-conforme. La qualité microbiologique était non acceptable pour les repas préparés à domicile en raison d'une contamination par *Staphylocoque aureus* et coliformes dûe aux mauvaises pratiques d'hygiène lors de la préparation.

En outre, les patients cœliaques sont préoccupés par la teneur exacte en gluten des ASG, qui ne doit pas dépasser un seuil de 20 mg/kg conformément aux recommandations du Codex Alimentarius de l'Organisation Mondiale de Santé. Dans ce cadre, 32 échantillons de produits étiquetés SG (L-PSG) et 52 échantillons d'aliments naturellement SG (N-ASG) ont subi une extraction de gluten par un cocktail basé de mercaptoéthanol puis analysés par une technique immunoenzymatique (R5 ELISA). L'analyse a permis de montrer que 25% des N-ASG et 21.9% des L-PSG étaient contaminés et la contamination était plus élevée dans les produits alimentaires fabriqués au Maroc comparativement à ceux importés (28.6% vs 16.7%). De plus, tous les produits à base d'avoine analysés étaient contaminés. D'où, l'importance au contrôle de sécurité des aliments, par la mise en place d'un système de gestion de risque (HACCP) adéquat pour garantir la teneur en gluten et la qualité microbiologique de ces aliments. Dans ce contexte, même si la réglementation marocaine concernant l'étiquetage des produits alimentaires contenant des allergènes y compris le gluten est très avancée, cependant, la pratique de cette réglementation demeure encore limitée.

D'autre part, le patient cœliaque peut être lui-même une source de contamination croisée, d'où, l'intérêt de l'expliquer les bonnes pratiques de sécurité des aliments par les médecins et les diététiciens. Dans ce cadre, l'évaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez les professionnels de santé a montré que la majorité des médecins n'ont reçu aucune formation dans ce sens. Cela implique la nécessité d'adapter des programmes de formation à propos de la sécurité alimentaire dans les hôpitaux marocains pour cette catégorie.

**Mots clés :** Maladie Cœliaque ; Régime Sans Gluten ; Aliments Sans Gluten ; Etat nutritionnel ; Qualité de Vie ; Qualité Nutritionnelle ; Qualité microbiologique ; Teneur en gluten ; ELISA ; Réglementation des allergènes ; Sécurité Sanitaires des Aliments.

## Summary

\*\*\*\*\*

Gluten is the reserve protein of cereals, it is composed of prolamins and glutenins. Prolamins derived from wheat (gliadin), barley (Hordein) and rye (secalin) trigger immune reactions in some predisposed people by causing the onset of certain diseases such as celiac disease (CD). This affects 0.7 to 1.4% of the general population and its incidence is increasing considerably in Morocco. Its treatment is based on following gluten-free diet (GFD) which consists of consuming naturally and industrially gluten-free foods. During the present research, 127 children and adolescents with CD had poor nutritional status (thinness, short stature, underweight) compared to controls non-celiac. GFD had a positive impact on the nutritional status of the cohort celiac patients by improving their BMI. However, the number of obese children increased significantly under the diet. Furthermore, the translated, culturally adapted and validated quality of life assessment instruments (CD-Q; CD-DUX) used in the present research have shown acceptable psychometric properties in children and adults with CD. The reliability [Internal consistency (Cronbach's  $\alpha$ ), reproducibility (intraclass correlation coefficients), validity (convergent validity, discriminant validity), and responsiveness (acceptance, floor effect and ceiling effect) of the Arabic-Moroccan versions (M-CD-Q and M-CD-DUX) were studied during this adaptation process showing good acceptance. M-CD-DUX showed that the quality of life (QoL) was poor in 52 of children and adolescents with CD, especially that perceived by their proxies. In 112 adults with CD, M-CD-Q showed that their QoL was neutral. However, the GFD did not improve QoL neither in children nor in adults. This QoL was poor especially for subscales related to the GFD and gluten-free foods (GFF).

In this study, we noticed that GFFs were rarely available in Morocco and their price is exorbitant than equivalent products containing gluten. As assessed in 184 food samples, their nutritional quality was imbalanced in energy and macronutrients (high in fibres and low in proteins), and their fortification by supplements such as iron or vitamins was almost absent. The microbiological quality of these foods was characterized by the absence of serious pathogens such as *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. However, naturally gluten-free foods were contaminated mainly by yeasts and molds, due to poor storage conditions, making their microbiological quality non-compliant. The microbiological quality was unacceptable for meals prepared at home due to contamination by *Staphylococcus aureus* and coliforms related to poor hygienic practices during their preparation.

In addition, celiac patients were also concerned by the exact gluten content of gluten-free products, which should not exceed a threshold of 20 mg / kg according to the recommendations of the Codex Alimentarius of the World Health Organization. In this context, 32 samples of products labelled gluten-free (L-GFP) and 52 samples of naturally gluten-free foods (N-GFF) underwent gluten extraction using a cocktail based on mercaptoethanol, then analysed by an immunoenzymatic technique (R5 ELISA method). The analysis showed that 25% of N-GFF and 21.9% of L-GFP were contaminated, and the contamination was slightly higher in the food products manufactured in Morocco compared to those imported (28.6% vs 16.7%). Furthermore, all oat-based products analysed were contaminated. Hence, the importance to be given to food safety control, by implementing an adequate HACCP system in order to guarantee the gluten content limit and the microbiological quality of these foods. In this context, even if the Moroccan regulation concerning the labelling of food products containing allergens or gluten is very advanced, however, the practice of this regulation remains limited, especially regarding the use of special characters (bold or italic) in order to distinguish them in the ingredients list of food products.

On the other hand, the celiac patient may himself be a source of contamination, especially when handling GFFs, with a risk of cross-contamination. Hence, the interest of explaining the good practices of conducting GFD by doctors and dieticians. In this context, the assessment of food safety knowledge and practices among healthcare professionals showed that the majority of physicians have not received any training in this regard. This implies the need to adopt food security education and training programs by Moroccan hospitals for this category. This implies the need to adopt education and training programs about food security in Moroccan hospitals for this category.

**Keywords:** Celiac disease; Gluten Free Diet; Gluten Free Foods; Nutritional status; Quality of life ; Nutritional Quality; Microbiological quality; Gluten content; ELISA; Regulation of allergens; Food Safety.

## ملخص

\*\*\*\*\*

الغلوتين هو البروتين الاحتياطي للحبوب، ويتكون من البرولامين والجلوتينين. تؤدي البرولامين من القمح (جليادين) والشعير (هوردين) والجاودار (سيكالين) إلى تفاعلات مناعية لدى بعض الأشخاص المهيئين عن طريق التسبب في ظهور أمراض معينة مثل مرض الاضطرابات الهضمية (السيلياك). يؤثر هذا المرض على 0.7 إلى 1.4 ٪ من سكان العالم ويزداد حدوثه بشكل كبير في المغرب. يعتمد علاجه على مراقبة النظام الغذائي الخالي من الغلوتين والذي يتكون من تناول الأطعمة الخالية من الغلوتين الطبيعية منها وكذا الصناعية. خلال البحث الحالي، كان الأطفال والمراهقون الذين يعانون من الاضطرابات الهضمية (السيلياك) قيد الدراسة يعانون من حالة تغذوية سيئة (النحافة وتأخر في النمو) مع متوسط مؤشر كتلة الجسم (BMI) أقل من الأطفال والمراهقين غير المصابين بمرض الاضطرابات الهضمية. كان لاتباع نظام غذائي خالٍ من الغلوتين في مجموعة من 127 مريضًا بالسيلياك تأثير إيجابي على حالتهم التغذوية من خلال تحسين مؤشر كتلة الجسم الذين يعانون من سوء التغذية. ومع ذلك، زاد عدد الأطفال الذين يعانون من السمنة المفرطة بشكل ملحوظ أثناء النظام الغذائي. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت أدوات تقييم جودة الحياة المترجمة والمتكيفة ثقافيًا والتحقق من صحتها (CD-Q ؛ CD-DUX) المستخدمة في البحث الحالي خصائص القياس النفسي المقبولة لدى الأطفال والبالغين المصابين بمرض السيلياك. الموثوقية [الاتساق الداخلي (Cronbach's  $\alpha$ )، والتكاثف (معاملات الارتباط داخل الصف (ICC)، والصلاحية (الصلاحية المتقاربة، والصلاحية التمييزية)، والتفاعلية (القبول، وتأثير الأرضية، وتأثير السقف) لإصدارات العربية - المغربية (M-CD-Q و M-CD-DUX) خلال عملية التكيف هذه وأظهرت قبولًا جيدًا. أظهر M-CD-DUX أن جودة الحياة (QoL) لدى 52 طفلًا ومراهقًا يعانون من مرض السيلياك كانت ضعيفة، خاصة تلك التي يتصورها أولياء أمورهم. في 112 بالغًا مصابًا بمرض السيلياك، تبين M-CD-Q أنهم يتمتعون بجودة حياة محايدة. ومع ذلك، فإن اتباع نظام غذائي خالٍ من الغلوتين لم يحسن جودة الحياة لدى الأطفال أو البالغين. كانت جودة الحياة هذه سيئة، خاصة بالنسبة للعناصر والأبعاد المتعلقة بالنظام الغذائي الخالي من الغلوتين والأطعمة الخالية من الغلوتين. ومن هنا تأتي الأهمية التي تولى لمناقشة العوامل التي تؤثر على جودة الحياة، وخاصة تلك المتعلقة بالأغذية الخالية من الغلوتين. في هذه الدراسة، لاحظنا أن الأطعمة الخالية من الغلوتين لم تكن متوفرة بشكل كبير في المغرب وكان سعرها باهظًا. كانت جودتها الغذائية (184 عينة) غير متوازنة في الطاقة والمغذيات الكبيرة (غنية بالألياف وقليلة البروتين). كان

تقويتها بالمكملات الغذائية مثل الحديد أو الفيتامينات غائبًا تقريبًا. تميزت الجودة الميكروبيولوجية لهذه الأطعمة بغياب مسببات الأمراض الخطيرة مثل السالمونيلا والليستيريا المستوحدة. ومع ذلك، تلوثت الأطعمة الخالية من الغلوتين بشكل طبيعي من الخمائر والعفن، بسبب ظروف التخزين السيئة، مما يجعل جودتها الميكروبيولوجية غير متوافقة. كانت الجودة الميكروبيولوجية غير مقبولة للوجبات المحضرة في المنزل بسبب التلوث بالمكورات العنقودية الذهبية والقولون المرتبط بالممارسات الصحية السيئة أثناء التحضير.

بالإضافة إلى ذلك، كان مرضى السيلياك قلقين أيضًا بشأن محتوى الغلوتين الدقيق للمنتجات الخالية من الغلوتين، والتي يجب ألا تتجاوز عتبة 20 مجم / كجم وفقًا لتوصيات الدستور الغذائي لمنظمة الصحة العالمية. في هذا السياق، خضعت 32 عينة من المنتجات المصنفة خالية من الغلوتين و 52 عينة من الأطعمة الخالية من الغلوتين بشكل طبيعي لاستخراج الغلوتين بواسطة محلول الكوكتيل، ثم تم تحليله باستخدام تقنية الإنزيم المناعي (R5 ELISA Mendez) والتي أظهرت أن 25% من المواد الخالية من الغلوتين و 21.9% من تلك التي لا تحتوي على مادة جلوتين كانت ملوثة. كان التلوث أعلى قليلاً في المنتجات الغذائية مصنعة في المغرب مقارنة مع تلك المستوردة (28.6% مقابل 16.7%). جميع المنتجات القائمة على الشوفان التي تم تحليلها ملوثة. ومن ثم، فإن الأهمية التي يجب أن تعطى لمراقبة سلامة الأغذية، من خلال تطبيق نظام مناسب لإدارة المخاطر (HACCP) من أجل ضمان محتوى الغلوتين والجودة الميكروبيولوجية لهذه الأطعمة.

في هذا السياق، حتى لو كانت التشريعات المغربية الخاصة بتوسيم المنتجات الغذائية المحتوية على المواد المسببة للحساسية أو الغلوتين متقدمة جدًا، إلا أن ممارسة هذه التشريعات لا تزال محدودة خاصة فيما يتعلق باستخدام الأحرف الخاصة (غامق أو مائل) للتمييز بينها في قائمة المكونات. من ناحية أخرى، يمكن أن يكون مريض السيلياك هو نفسه مصدرًا للتلوث، خاصة عند التعامل مع الأطعمة الخالية من الغلوتين حيث يمكن أن يحدث تلوث متبادل. ومن هنا الاهتمام بشرح الممارسات الجيدة للنظام الغذائي الخالي من الغلوتين من قبل الأطباء وأخصائيي التغذية. في هذا السياق، أظهر تقييم معرفة وممارسات سلامة الغذاء بين المتخصصين في الرعاية الصحية أن غالبية الأطباء لم يتلقوا أي تدريب في هذا الصدد. وهذا يعني ضرورة اعتماد برامج التثقيف والتدريب في مجال الأمن الغذائي من قبل المستشفيات المغربية لهذه الفئة.

**الكلمات المفتاحية:** مرض الاضطرابات الهضمية (السيلياك) ؛ نظام حماية خال من الغلوتين؛ أغذية خالية من الغلوتين. الحالة التغذوية؛ جودة الحياة؛ الجودة الغذائية؛ الجودة الميكروبيولوجية؛ محتوى الغلوتين؛ تنظيم مسببات الحساسية؛ سلامة الغذاء.

# Liste des figures

\*\*\*\*\*

<b>Figure 1</b> : Mécanismes physiopathologiques de la maladie cœliaque.....	<b>15</b>
<b>Figure 2</b> : Formes de la maladie cœliaque.....	<b>16</b>
<b>Figure 3</b> : Taux de croissance mondial des superficies récoltées et des rendements pour les céréales.....	<b>23</b>
<b>Figure 4</b> : Les différentes céréales contenant de gluten.....	<b>26</b>
<b>Figure 5</b> : les composantes de grains de blé.....	<b>27</b>
<b>Figure 6</b> : Constituant de la molécule de gluten.....	<b>27</b>
<b>Figure 7</b> : Les différentes pathologies liées au gluten.....	<b>29</b>
<b>Figure 8</b> : Quelques Logos identifiant les produits sans gluten «Gluten-free».....	<b>32</b>
<b>Figure 9</b> : Logo identifiant les produits sans gluten selon le codex alimentarius.....	<b>32</b>
<b>Figure 10</b> : Arbre de décision pour l'étiquetage sans gluten basé sur le codex standard 118-1979 pour les aliments diététiques destinés aux personnes intolérantes au gluten.....	<b>37</b>
<b>Figure 11</b> : Pourcentage des pathologies chez les enfants au niveau de CHU de Marrakech - Année 2018.....	<b>90</b>
<b>Figure 12</b> : Pourcentage des pathologies chez les enfants au niveau de CHU de Marrakech - Année 2019.....	<b>91</b>
<b>Figure 13</b> : Nombre d'enfants cœliaques hospitalisés au niveau de CHU de Marrakech .....	<b>92</b>
<b>Figure 14</b> : Nombre d'enfants cœliaques consultés au niveau de CHU de Marrakech.....	<b>92</b>
<b>Figure 15</b> : La prévalence (%) des produits sans gluten par catégories identifiées dans les supermarchés et la plateforme de vente en ligne.....	<b>160</b>
<b>Figure 16</b> : Disponibilité des catégories de produits sans gluten dans les supermarchés, à la fois à Casablanca et à Marrakech, et sur les plateformes de vente en ligne.....	<b>161</b>
<b>Figure 17</b> : Pourcentages de qualité microbiologique inacceptables, acceptables et satisfaisants de la microflore comptés dans les aliments sans gluten .....	<b>201</b>
<b>Figure 18</b> : Nombre d'aliments sans gluten analysés et contaminés dans les groupes d'aliments étiquetés sans gluten et naturellement sans gluten .....	<b>214</b>
<b>Figure 19</b> : Pourcentage de produits contaminés dans chaque groupe alimentaire.....	<b>214</b>
<b>Figure 20</b> : Allergènes déclarés sur les étiquettes du produit échantillonné.....	<b>226</b>
<b>Figure 21</b> : Type d'allergènes présents dans les biscuits et les aliments pour les bébés.....	<b>226</b>
<b>Figure 22</b> : Taux de réussite des connaissances et des pratiques en matière de sécurité alimentaire parmi le personnel de santé et les employés de la cuisine de l'hôpital.....	<b>244</b>



<b>Figure 23 :</b> Graphique forestier de la prévalence de la contamination par le gluten observée dans les aliments naturellement sans gluten.....	<b>271</b>
<b>Figure 24 :</b> Graphique forestier de la prévalence de la contamination par le gluten observée dans les repas sans gluten dans les services de restauration.....	<b>271</b>
<b>Figure 25 :</b> Diagramme forestier de la prévalence de la contamination par le gluten observée dans les étiquettes sans gluten.....	<b>272</b>
<b>Figure 26 :</b> Aliments les plus contaminés lors de la détection du gluten dans les aliments sans gluten (naturellement sans gluten, étiquetés sans gluten et repas dans les services de restauration) .....	<b>272</b>
<b>Figure 27 :</b> Évolution de la prévalence de la contamination par le gluten dans tous les types d'aliments sans gluten, étiquetés sans gluten, naturellement sans gluten et les repas sans gluten au fil des années.....	<b>274</b>

## Liste des tableaux

\*\*\*\*\*

<b>Tableau 1 :</b> Sensibilité et spécificité des tests sérologiques destinés à la révélation de la maladie cœliaque.....	<b>19</b>
<b>Tableau 2 :</b> Les quatre stades de March modifiées de l'intestin grêle.....	<b>20</b>
<b>Tableau 3 :</b> kits de détection du gluten couramment disponibles, anticorps associés, protéines cibles, procédures de détection et des systèmes d'extraction.....	<b>55</b>
<b>Tableau 4 :</b> Points forts et limites des techniques immunologiques et non-immunologiques utilisées pour la détection de gluten.....	<b>60</b>
<b>Tableau 5 :</b> Interprétation de l'état nutritionnel selon les indicateurs de l'état staturo-pondéral chez enfants en se basant sur les z-scores.....	<b>71</b>
<b>Tableau 6 :</b> Mesure catégorielle des enfants cœliaques avant le suivi de la GFD et des contrôles.....	<b>102</b>
<b>Tableau 7 :</b> Mesures en continu (âge et variables anthropométriques) des enfants et adolescents cœliaques avant et après le suivi GFD par rapport aux témoins.....	<b>103</b>
<b>Tableau 8 :</b> Changement du statut de distribution des catégories anthropométriques des enfants CD après le suivi GFD.....	<b>105</b>
<b>Tableau 9 :</b> Prévalence de l'état nutritionnel des enfants et adolescents atteints de la MC évaluée en poids / âge et taille / âge au moment du diagnostic et après le suivi d'un RSG.....	<b>105</b>
<b>Tableau 10 :</b> Scores de reproductibilité et de fiabilité de la version enfant/ proxy DU CD-DUX.....	<b>123</b>
<b>Tableau 11 :</b> Caractérisation socio-économique, démographique et médicale de l'échantillon d'étude (enfants / proxy).....	<b>124</b>
<b>Tableau 12 :</b> Qualité des données et scores de la version marocaine du questionnaire M-CD-DUX).....	<b>126</b>
<b>Tableau 13 :</b> Influence des caractéristiques socio-économiques, démographiques et médicales de l'échantillon d'étude sur les scores de M-C-DUX.....	<b>127</b>
<b>Tableau 14 :</b> Comparaison entre les scores totaux de la QV chez les enfants et adolescents/ parents ou tuteurs par questionnaire CD-DUX.....	<b>129</b>
<b>Tableau 15 :</b> Reproductibilité à l'échelle CD-QoL.....	<b>138</b>
<b>Tableau 16 :</b> Caractérisation socio-économique, démographique et médicale de l'échantillon d'étude.....	<b>143</b>
<b>Tableau 17 :</b> Propriétés psychométriques et scores de la version marocaine du questionnaire M-CD-Q.....	<b>145</b>

<b>Tableau 18</b> : Influence des caractéristiques socio-économiques, démographiques et médicales d'une étude simple sur les scores de M-CD-Q.....	<b>147</b>
<b>Tableau 19</b> : Comparaison de prix entre les produits étiquetés sans gluten et leurs équivalents réguliers par € / 100g.....	<b>163</b>
<b>Tableau 20</b> : Comparaison des prix des produits sans gluten dans les supermarchés entre deux villes par € / 100g.....	<b>164</b>
<b>Tableau 21</b> : Comparaison des prix des produits sans gluten entre les plateformes de vente en ligne et les supermarchés dans deux villes par € / 100g.....	<b>165</b>
<b>Tableau 22</b> : teneur moyenne et médiane en énergie, en protéines, en glucides totaux, en sucre, en graisses totales, en graisses saturées, en fibres et en sel pour 100 g dans "Farine et mélange à pâtisserie sans gluten".....	<b>178</b>
<b>Tableau 23</b> : Différence entre l'énergie, les protéines, les glucides totaux, le sucre, les graisses totales, les graisses saturées, les fibres et le sel pour 100 g dans les produits sans gluten et les équivalents de produits ordinaires classés par catégorie d'aliments.....	<b>180</b>
<b>Tableau 24</b> : Catégories de produits à base de gluten étiquetés, d'aliments naturellement sans gluten et de repas sans gluten analysés.....	<b>194</b>
<b>Tableau 25</b> : Processus d'analyse microbiologique des aliments.....	<b>199</b>
<b>Tableau 26</b> : Pourcentage (%) de qualité microbiologique par catégorie d'aliments sans gluten et types de micro-organismes.....	<b>202</b>
<b>Tableau 27</b> : Catégories d'aliments étiquetés sans gluten et naturellement sans gluten analysées.....	<b>211</b>
<b>Tableau 28</b> : Résultats de l'analyse du gluten des aliments sans gluten.....	<b>212</b>
<b>Tableau 29</b> : Proportion d'articles contenant > 20 ppm de gluten par catégorie d'aliments (produits contaminés / testés).....	<b>215</b>
<b>Tableau 30</b> : Proportion d'articles contenant > 20 ppm de gluten par ingrédient de base (produits contaminés / testés) .....	<b>216</b>
<b>Tableau 31</b> : Type d'accentuation utilisé lors de la déclaration d'allergènes sur la liste des ingrédients ou dans le PLA dans différentes catégories d'aliments.....	<b>228</b>
<b>Tableau 32</b> : Comparaisons entre la réglementation marocaine sur l'étiquetage des allergènes dans les aliments par rapport à d'autres comités.....	<b>230</b>
<b>Tableau 33</b> : Les caractéristiques sociodémographiques de l'échantillon.....	<b>244</b>
<b>Tableau 34</b> : Réponses aux questions de formation sur la salubrité des aliments.....	<b>244</b>
<b>Tableau 35</b> : Connaissance et pratique du personnel de santé et des employés de la cuisine de l'hôpital en matière de sécurité alimentaire.....	<b>243</b>
<b>Tableau 36</b> : Association entre les caractéristiques sociodémographiques des participants et les connaissances en matière de salubrité des aliments.....	<b>245</b>

<b>Tableau 37</b> : Association entre les caractéristiques sociodémographiques des soins de santé et les pratiques en matière de salubrité des aliments.....	<b>246</b>
<b>Tableau 38</b> : Corrélation bivariée entre les connaissances en matière de sécurité alimentaire et les pratiques en matière de sécurité alimentaire.....	<b>246</b>
<b>Tableau 39</b> : Propriétés psychométriques des études évaluant la QVLS chez les enfants et les adolescents à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque (versions originales et développées).....	<b>255</b>
<b>Tableau 40</b> : Études évaluant la QVLS chez les enfants et les adolescents à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque.....	<b>258</b>
<b>Tableau 41</b> : Comparaison entre les scores totaux de la QVLS chez les enfants et les adolescents/Parent ou tuteur selon le questionnaire CD-DUX.....	<b>258</b>
<b>Tableau 42</b> : Propriétés psychométriques des études évaluant la QVLS chez les adultes à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque (versions originales et développées).....	<b>261</b>
<b>Tableau 43</b> : Études évaluant la QV chez les adultes à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque.....	<b>264</b>

## **LISTE DES ANNEXES**

\*\*\*\*\*

**Annexe 1 :** Liste des aliments interdits et autorisés pour les patients cœliaques selon la Société Nationale Française de Gastro-Entérologie

**Annexe 1 bis :** Liste des aliments interdits et autorisés pour les patients cœliaques en langue Arabe destinée aux patients cœliaques suivi au CHU Med VI de Marrakech

**Annexe 2 :** Ingrédients autorisés et interdits figurées dans les étiquettes de produits alimentaires

**Annexe 3 :** Liste des médicaments disponibles et fréquemment utilisé au Maroc, Interdits pour les patients cœliaques selon AMDIAG (Association Marocaine De l'Intolérance Au Gluten)

**Annexe 4 :** Accord du comité d'éthique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech (FMPM) à propos de l'évaluation de l'état nutritionnel et la qualité de vie des patients atteint de la maladie cœliaque.

**Annexe 5 :** Autorisation d'utiliser le questionnaire CD-Dux

**Annexe 6 :** Questionnaire spécifique à la MC pour l'évaluation de la qualité de vie chez les enfants cœliaques CD-DUX.

**Annexe 7 :** Autorisation d'utiliser le questionnaire CD-Q

**Annexe 8 :** Questionnaire spécifique à la MC pour l'évaluation de la qualité de vie chez les adultes cœliaques CD-Q.

**Annexe 9 :** Questionnaire générique à la MC pour l'évaluation de la qualité de vie chez les enfants cœliaques SF-36.

**Annexe 10 :** Questionnaire pour l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments chez les manipulateurs dans les services de restauration dans l'hôpital et les personnels de santé affectés dans les services de diététiques, nutrition et gastro-entérologie.

**Annexe 11 :** Accord du comité d'éthique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca (FMPC) à propos de l'évaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments.

**Annexe 12 :** Connaissances et pratiques en matière de salubrité des aliments chez les professionnels de la santé et les employés de la cuisine de l'hôpital

## Liste des abréviations

\*\*\*\*\*

<b>AFC</b>	Analyse factorielle des correspondances.	<b>GFD</b>	Gluten-free diet
<b>ASG</b>	Aliments sans gluten	<b>CD</b>	Celiac disease
<b>ANC</b>	Apports nutritionnels conseillés.	<b>QoL</b>	Quality of Life
<b>CHU</b>	Centre hospitalier universitaire	<b>GFF</b>	Gluten-free Food
<b>ELISA</b>	Dosage d'immuno absorption par enzyme liée	<b>N-GFF</b>	Naturrally gluten-free Food
<b>ET</b>	Ecart-type	<b>L-GFP</b>	Labelled glutn-free product
<b>FAO</b>	Food and agriculture arganization.	<b>GFP</b>	Gluten-free product
<b>FDA</b>	Food and drug administration.	<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>IMC</b>	Indice de masse corporelle.	<b>HRQoL</b>	Health Related Quality of Life
<b>IOTF</b>	Groupe de travail international sur l'obésité	<b>CD-Q</b>	CD-Questionnaire
<b>IQR</b>	Interquartile Range	<b>ICC</b>	Intra-Class Correlation
<b>MC</b>	Maladie cœliaques	<b>M-CD-Q</b>	Moroccan version of CD-Questionnaire
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé.	<b>GCP</b>	Products containing gluten
<b>P/A</b>	Poids pour l'âge.	<b>UK</b>	United Kingdom
<b>P/T</b>	Poids pour taille.	<b>USA</b>	United States of America
<b>PCR</b>	Réaction en chaîne par polymérase	<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immune-sorbent assay
<b>PSG</b>	Produits agro-alimentaires sans gluten	<b>HACCP</b>	Hazard analysis critical control points
<b>QV</b>	Qualité de vie	<b>GMP</b>	Good Hygienic Practices
<b>QVLS</b>	Qualité de vie lié à la santé	<b>GHP</b>	Good Manufacturing Practices
<b>RGS</b>	Régime sans gluten	<b>PLA</b>	precautionary allergen labeling
<b>T/A</b>	Poids pour l'âge.	<b>EU</b>	European Unin
$\chi^2$	Khi-deux.	<b>M-GF</b>	Meals gluten-free
<b>ONSSA</b>	Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires.	<b>ELISA</b>	enzyme-linked immunosorbent assay
<b>ELISA</b>	Dosage immuno-enzymatique	<b>M-CD-Dux</b>	Moroccan version of CD-Dux
<b>BPH</b>	Bonne pratique d'hygiène		

# **INTRODUCTION**

## **GENERALE**

Les aliments jouent un rôle primordial dans l'équilibre, le maintien de la bonne santé et dans la continuité de la vie humaine. Les villosités intestinales absorbent les aliments transformés en nutriments et permettent aux cellules de réaliser leurs fonctions. Cependant, ces nutriments peuvent provoquer certaines maladies telles que celles liées à l'alimentation. Ces dernières constituent une préoccupation de la santé publique dans le monde entier (Morris, 2011). Elles provoquent des taux de morbidité et mortalité très élevés (WHO, 2007; Linscott, 2011). Elles ont un effet néfaste sur l'économie des pays en augmentant les dépenses pour lutter contre elles (Mangen et al., 2015; WHO, 2015). Elles sont classées en plusieurs catégories. D'une part, il y a les intoxications alimentaires qui sont la conséquence de la contamination des aliments ou des nutriments par des agents pathogènes chimiques, physiques ou biologiques (Khare et al., 2018; Martinez-Rios & Dalgaard, 2018; Serrano-Moliner et al., 2018). Une grande importance doit être accordée à la sécurité sanitaire des aliments au cours de leur fabrication, transport, stockage et manipulation pour éviter ces intoxications. D'autre part, il y a des maladies qui sont liées à l'excès ou le déficit en nutriments. Auparavant, les maladies liées à la carence d'un nutriment ont été les plus répandues telles que la Béribérie (Hardy, 1995). Au fil de temps, et, avec la transition nutritionnelle, le monde a connu une augmentation des maladies liées à l'excès en nutriments. Autrement dit, l'apparition des maladies corrélées à l'obésité telle que les maladies cardio-vasculaires et le diabète type II (Delpeuch, 2004). Certains pays souffrent de ce double fardeau tel que le Maroc (FAO, 2011). Un équilibre nutritionnel est requis pour la prévention de ces maladies. D'autre part encore, il y a les maladies qui sont liées à l'allergie et l'intolérance à certains éléments nutritionnels comme l'allergie au blé et l'intolérance au gluten (Inomata, 2009). Cette dernière est appelée la maladie cœliaque (Caio et al., 2019).

La maladie cœliaque (MC) est une maladie auto-immune qui détruit les villosités intestinales prédominant sur le grêle proximal en causant une malabsorption d'intensité variable



(McAllister et al., 2019). Elle affecte les personnes génétiquement prédisposées (Admou et al., 2009). Il s'agit d'une intolérance induite par l'ingestion des prolamines de certaines céréales tels que le blé (gliadine), l'orge (hordéine) et le seigle (sécaline) (Wieser, 2007). Elle peut être de forme symptomatique ou asymptomatique. Le diagnostic de la forme typique repose sur certaines manifestations telles que le retentissement staturo-pondéral, les signes de dénutrition, les diarrhée chronique et ballonnement abdominal (Husby & Murray, 2014). La forme atypique est caractérisée généralement par des manifestations extradigestives, des formes asymptomatiques et silencieuses voire latentes (Admou et al., 2009). La confirmation de la maladie repose sur des tests sérologiques (Anticorps anti-gliadine, anti-transglutaminase et anti-endomysium) et sur la biopsie duodéno-jéjunale (Wong et al., 2003). Sa prévalence est en augmentation considérable dans le monde et estimée de 0,7 à 1,4% dans le monde entier (Singh et al., 2018). Cette maladie est caractérisée par une malabsorption intestinale et accompagnée par une réduction de l'absorption des macronutriments et micronutriments. Elle en résulte, une détérioration de l'état nutritionnel qui se manifeste généralement par un Index de Masse Corporelle (IMC) bas (Brambilla et al., 2013). Une malnutrition est installée sous les trois formes (insuffisance pondérale, insuffisance staturale et maigreur) (Boukezoula & Zidoune, 2014). Cette détérioration est accompagnée par une carence en certains nutriments notamment le fer en provoquant une anémie (Mahadev et al., 2018).

Son traitement est entièrement basé sur l'élimination totale des aliments qui contiennent du gluten. Il s'agit de suivre un régime alimentaire sans gluten (RSG). Celui-ci est le seul traitement disponible, efficace et sûr (Armstrong et al., 2009; Elli et al., 2019). Une bonne récupération exige une adhésion parfaite à ce régime (Kaukinen et al., 2014). Ainsi, les habitudes alimentaires vont être modifiées (Newnham et al., 2016). Le changement des habitudes alimentaires et l'adhérence à un nouveau régime alimentaire a une influence sur la qualité de vie des patients cœliaques (Kalle Kurppa et al., 2011; White et al., 2016). Le RSG a également

un impact sur les indicateurs anthropométriques (IMC) et l'état nutritionnel. Plusieurs études ont montré que le RSG peut causer le développement de l'obésité chez les adultes (Kabbani et al. 2012; Barone et al., 2016), chez les enfants et chez les adolescents (Rodrigues et al., 2018).

Ce régime doit être équilibré et combiné entre les aliments naturellement sans gluten (ASG-N) et les aliments transformés et étiquetés par les industriels en tant que des produits sans gluten (PSG) (Bascañán et al., 2017). Cependant, plusieurs facteurs entravent à une bonne adhérence aux RSG tels que les facteurs psychologiques et facteurs sociologiques (Xhakollari et al., 2019). D'autres facteurs sont liés aux PSG fabriqués par les industriels. Ils concernent principalement leur disponibilité sur les marchés, leur prix et leur étiquetage (Frcpc, 2014; Xhakollari et al., 2019). La plupart des études ont montré que les PSG se vendent avec un prix exorbitant et leur disponibilité est limitée (Singh & Whelan, 2011; Panagiotou & Kontogianni, 2017; Abdulla & Garemo, 2018). Cela provoque un effet négatif sur l'adhérence aux RSG (Arias-Gastelum et al., 2018). L'objectif du RSG est de récompenser les déficiences causées par la destruction des villosités intestinales. Cependant, la qualité nutritionnelle de ces produits est discutable (Allen & Orfila, 2018; Fry et al., 2018). Plusieurs chercheurs ont constaté que la composition nutritionnelle est déséquilibrée en énergie, en macronutriments (les lipides, les glucides, les protéines et les fibres) (Zuccotti et al., 2013; Allen & Orfila, 2018) et en micronutriments (vitamine D, vitamine B12, acide folique B9 et certains minéraux) (Salazar Quero et al., 2015; Vici et al., 2016).

Une autre préoccupation chez les patients cœliaques concerne la teneur de gluten exacte existante dans les aliments sans gluten (ASG). Le *Codex Alimentarius*, l'Administration des denrées alimentaires et des médicaments (FDA) et la Commission Européenne exigent une teneur maximale de 20 mg/kg pour qu'ils soient étiquetés ou considéré entant d'un aliments « sans gluten » (Commission regulation, 2009; US Food and Drug Administration, 2013; Commission regulation, 2014). Cependant, du gluten caché « Hidden gluten » peut exister dans

les ASG ou des contaminations involontaires et accidentelles pourraient avoir lieu à n'importe quel niveau, du champ à l'étagère, en raison de l'omniprésence de ces protéines pendant la récolte, le transport et/ou la transformation de ces aliments (Thompson et al., 2010; Falcomer et al., 2018; Thompson et al., 2018). Ces contaminations peuvent y arriver surtout en cas de l'absence d'un système puissant de contrôle de risque (HACCP) et un plan de gestion des allergènes adéquat incorporé à l'HACCP. D'où vient la nécessité de faire des contrôles réguliers sur les ASG disponibles dans les points de vente.

En outre, au cours de la manipulation de ces aliments, des contaminations involontaires peuvent survenir. Ces contaminations peuvent être des contaminations croisées par l'allergène de gluten, comme ils peuvent être d'origine physique, chimique ou biologique. La contamination par les microorganismes pathogènes surtout par les bactéries, les levures et les moisissures est assez fréquente. Cela augmente les intoxications d'origine alimentaire chez ces patients. Ainsi, la qualité sanitaire de ces ASG est assez importante. D'où, la nécessité de manipuler les aliments sans gluten en respectant les bonnes pratiques d'hygiène (BPH) et les bonnes pratiques de fabrication (BPF) durant tout le processus de l'achat, du transport, du stockage, du manipulation et du consommation. Ces processus se réalisent en passant par l'identification des principaux points critiques du système de production et de distribution, le plus souvent par une démarche HACCP. Cela implique aussi une bonne connaissance et une bonne pratique en matière de sécurité sanitaires des aliments chez ces les manipulateurs et les consommateurs d'aliments (Meysenburg et al., 2014).

Au Maroc, le nombre de nouveaux cas de patients cœliaques est en augmentation considérable, cependant, la prévalence de la maladie n'a pas été encore déterminée (El Fakiri et al., 2016). Le diagnostic de la maladie est limité à cause de plusieurs contraintes. D'une part, sa confirmation se fait souvent dans les centres hospitaliers universitaires (CHU). Cependant, le nombre limité de ces CHU réduit l'accès au diagnostic. D'autre part, la forme atypique de

la maladie provoque la détection tardive de la maladie. Une fois la maladie est confirmée, les patients se retrouvent devant un régime alimentaire différent de leurs coutumes et leurs traditions. Le blé est l'aliment de base de la grande civilisation de l'Afrique du Nord y compris le Maroc (Royo et al., 2017). Celui-ci est un pays méditerranéen dont le régime alimentaire dépend du pain de blé et de l'orge, et, des aliments à base de blé ou de l'orge. L'alimentation traditionnelle au Maghreb largement basée sur des céréales riches en gluten. Ainsi, les patients cœliaques marocains souffrent de ce changement alimentaire. En outre, ils sont confrontés à plusieurs contraintes au cours du suivi de RSG. D'abord, l'accès à un(e) diététicien(e) pour avoir des conseils pour une bonne adhérence au régime. Ensuite, le prix, la disponibilité et la qualité nutritionnelle des aliments sans gluten. Puis, la consommation d'un aliment sain et sûr concernant sa teneur en gluten et sa qualité microbiologique.

Les recherches faites au Maroc à propos de la MC étaient limitées en des études qui s'intéressaient surtout au côté médical (EL Yaouti, 2010; EL Haddou Yousfi, 2011; Bakouh, 2013; Hamdaoui, 2019). L'état nutritionnel des patients cœliaques n'a été mis en évidence que dans certaines études (Sadiki et al., 2013; El Fakiri et al., 2016). Cette évaluation faite généralement avant le suivi RSG et jamais après. Alors que, à notre connaissance, aucune étude n'a évalué l'effet du RSG sur leur état nutritionnel, ni sur leur qualité de vie (QV). Cela nécessite d'étudier l'état nutritionnel chez une cohorte au moment de diagnostic et après une période de suivi de RSG. L'évaluation de la QV Cela nécessite la traduction, l'adaptation et la validation des instruments génériques ou spécifiques à cette maladie. Alors qu'à notre connaissance, aucun instrument spécifique à la MC n'a été validé au Maroc voire même dans les pays Arabes. En outre, le suivi de RSG implique la consommation des aliments naturels exemptés de gluten et/ ou des aliments agroalimentaires emballés et étiquetés sans gluten. Cependant, les cœliaques marocains trouvent une difficulté pour y accéder. Leurs préoccupations sont de surmonter les facteurs responsables d'échec à l'adhérence au RSG. Ils

sont liés essentiellement aux ASG. Selon les responsables des associations s'intéressant à la MC, les médecins et les diététiciens, les patients cœliaques trouvent des difficultés au cours de suivi de RSG surtout à propos des ASG. D'une part, les problèmes liés à leur disponibilité, leur prix et leur composition nutritionnelle. D'autre part, les problèmes liés à la sécurité de ces produits. Autrement dit, les ASG disponibles dans les marchés marocains respectent-ils les normes internationales fixées par le *Codex Alimentarius* ? Leur qualité microbiologique est-elle exempte des germes pathogènes ? D'où vient l'importance de réaliser des contrôles réguliers par les comités responsables tels que l'office nationale de la sécurité sanitaire des produits alimentaires (ONSSA). Il est aussi important d'améliorer les niveaux des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire au cours de la manipulation de ces aliments par les cœliaques à travers les conseils de leurs médecins et diététiciens.

C'est dans le cadre de cette thématique que s'inscrit ce projet de recherche. Il vise à :

- Etudier l'effet du RSG sans gluten sur l'état nutritionnel et l'état de santé des enfants et adolescents cœliaques.
- Valider et adapter culturellement les questionnaires spécifiques pour l'évaluation de la qualité de vie chez les patients cœliaques (enfants, adolescents et adultes)
- Mettre en évidence l'effet du RSG sur leurs qualités de vie.
- Evaluer la disponibilité, le prix, la qualité nutritionnelle et la qualité microbiologique des aliments sans gluten.
- Déterminer quantitativement la teneur en gluten dans les aliments sans gluten par la technique immunologique ELISA.
- Evaluer les connaissances et les pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez le personnel des services de restauration et des unités diététiques dans les hôpitaux marocains.

# REVUE

# BIBLIOGRAPHIQUE :

**-MALADIE COELIAQUE**

**-REGIME SANS GLUTEN**

**- ALIMENTS SANS GLUTEN (ASG)**

**- QUALITE DE VIE**

**- MICROBIOLOGIE DES ASG**

**- DETECTION DE GLIADINE DANS LES ASG**

**-SECURITE SANITAIRE DES ASG**

## **I. Maladie Cœliaque**

### **I.1. Définition**

La MC est une entéropathie chronique de l'intestin grêle à médiation immunitaire précipitée par l'exposition au gluten alimentaire chez des individus génétiquement prédisposés (Ludvigsson et al., 2013). Il s'agit d'une maladie auto-immune caractérisée par une atrophie des villosités de la muqueuse de l'intestin grêle et provoquée par l'absorption de la protéine de gluten présente dans le blé, le seigle et l'orge (Schuppan & Zimmer, 2013; Green et al., 2015). Les principaux facteurs de risque génétique de cette maladie sont les molécules antigènes leucocytaires humains de classe II (HLA) DQ2 et DQ8. La molécule HLA-DQ2 est responsable de 90% à 95% des cas et la molécule HLA- DQ8 est responsable de 5 à 10% (Roujon et al., 2013). Les cas qui peuvent apparaître en absence de ces molécules sont rares. Cette maladie est accompagnée d'une malabsorption des nutriments et se traduit par l'apparition de symptômes tels que le retard statu-pondéral chez les enfants, la diarrhée, le ballonnement abdominal et les signes de dénutrition (Husby & Murray, 2014). Cependant, elle peut être asymptomatique, latente ou silencieuse (Admou et al., 2009). Seulement, 10% des patients ayant la MC présentent des symptômes (Catassi et al., 1997; Garnier-Lengliné et al., 2015). Les tests sérologiques (Anticorps anti gliadine, anticorps anti-transglutaminase et anticorps anti-Endomysium), la biopsie duodénale et dans certains cas le typage HLA confirment le diagnostic (Sevinc, 2015). Un RSG à vie est indiqué pour le traitement de la MC (Armstrong et al., 2009; Rostami et al., 2017). Il s'agit de l'exclusion de tout aliment contenant ou suspecté de contenir le gluten.

### **I.2. Historique**

Les Grecs étaient les premiers qui ont initié la description de la MC. C'était en II<sup>ème</sup> siècle de notre ère par Arataeus de Cappadocia en utilisant le terme «koliakos» (signifiant « abdominale »). Le terme a été traduit en français « cœliaque » par Francis Adams en 1856 (Gasbarrini et al., 2010). Un médecin Anglais appelé Samuel Gee a donné une description

clinique de la MC en 1888 et a suggéré un traitement nutritionnel à base d'alimentation en moules (Gee, 1988). En USA, l'importance de régime à base de la banane a été mis en évidence en 1924 (Hass, 1924). En Pays-Bas, WD Dicke et co-auteurs a proposé le RSG pour traiter la maladie cœliaque par la mise en cause des céréales responsables de la toxicité en 1950 (Dicke et al., 1953). Quatre ans plus tard, Paulley (1954) a démontré l'intérêt de la biopsie intestinale dans le diagnostic de la MC. En 1986, Howell et al. (1986) ont indiqué les facteurs de prédisposition génétique HLA-DQ2/DQ8). En 1992, Marsh a défini les cinq stades d'atteinte de la muqueuse intestinale (Marsh, 1992). D'autres études ont permis l'utilisation des tests sérologiques pour le diagnostic de cette maladie. En 2003, le rôle de l'Interleukine 15 dans l'activation des lymphocytes intestinales a été mis en évidence (AFDIAG, 2012). Le défi actuel est de mettre en œuvre des traitements efficaces alternatifs au RSG.

### **I.3. Epidémiologie**

La MC est actuellement caractérisée par une augmentation du nombre de nouveaux cas dans les zones historiques connues de forte prévalence (Europe du Nord et Etats-Unis) et plus intéressant encore, dans de nouvelles régions (pays asiatiques) (Catassi et al., 2014). Néanmoins, plusieurs cas ne sont pas encore diagnostiqués (Guandalini & Assiri, 2014). La prévalence est généralement estimée entre 0,3 à 3% (Korponay-Szabó et al., 2007; Rubio-Tapia et al., 2012). En Europe, elle affecte approximativement 1% de la population générale (Catassi et al., 2015). En Brésil, cette prévalence a été estimée à 1/214 à 1/681 (Rodrigues et al., 2018). Chez les enfants, cette prévalence a été aussi estimée entre 0,3 à 3% en Europe et en USA (Myléus et al., 2009; Mustalahti et al., 2010). En revanche, la MC est quasiment inconnue chez les enfants en Asie du sud-est et en Afrique noire. Mais, elle est courante en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Inde avec des incidences proches de celles de l'Europe ou les Etats-Unis (Rewers, 2005; Lamireau & Clouzeau, 2013; Ramakrishna et al., 2016). Cependant, le taux de diagnostic dans ces pays en voie de développement est faible. Les causes sont diverses, citant essentiellement la faible disponibilité des installations de diagnostics et de la prise de



conscience de la maladie (Catassi et al., 2015). Dans les pays Maghrébins, la prévalence de type symptomatique est estimée de 1 pour 909 enfants de moins de 15 ans en Algérie (Boudraa et al., 2008) . Bdioui et al. (2006) ont estimé cette prévalence chez les donneurs de sang tunisiens à 1/700, alors que cette incidence était plus élevée chez les enfants écoliers en Tunisie (1/157) (Hariz et al., 2007). Singh et al. (2018) ont réalisé une revue systématique et une méta-analyse des études publiées allant de Janvier 1991 jusqu'au Mars 2016. Ils ont inclus 96 articles sur 3843 en constatant que cette maladie est quasiment répandue dans le monde entier et que certains pays ont besoin des études pour l'estimation de sa prévalence. Celle-ci, d'après les résultats des tests sérologiques, est de 1,4 % et, d'après les résultats des biopsies, de 0,7 %. Les valeurs de prévalence de la MC étaient de 0,4 % en Amérique du Sud, 0,5 % en Afrique et en Amérique du Nord, 0,6 % en Asie et 0,8 % en Europe et en Océanie ; la prévalence était plus élevée chez les femmes que chez les hommes (0,6 % contre 0,4 % ;  $p < 0,001$ ). La prévalence était significativement plus élevée chez les enfants que chez les adultes (0,9 % contre 0,5 % ;  $p < 0,001$ ). Selon Lamireau & Clouzeau (2013), l'incidence de la MC a connu une augmentation considérable faite probablement d'une meilleure reconnaissance des formes peu symptomatiques –atypique- pendant ces dernières 30 années. Au Maroc, la prévalence reste inconnue. Plusieurs facteurs entrent en jeu, essentiellement l'absence des enquêtes épidémiologiques, la rareté de diagnostic de mode atypique et la présence de nombre limité des centres de détection. Cependant, le nombre de nouveau cas par an est en augmentation considérable (El Fakiri et al., 2016).

#### **I.4. Physiopathologie**

##### **I.4.1. Facteurs de prédisposition**

Les recherches scientifiques concernant la physiopathologie de cette maladie sont toujours en développement. Il s'agit d'une maladie dont le mécanisme est assez complexe dont plusieurs facteurs ne sont pas encore éclairés. Cependant, trois facteurs interagissent entre eux

et contribuent au développement de la maladie, citant les facteurs environnementaux, génétiques et ceux liés à la dysregulation (Parzanese et al., 2017).

#### **I.4.1.1 Facteurs environnementaux :**

##### **I.4.1.1.1 Gluten :**

C'est le facteur extérieur principal et le déclencheur primaire induisant la MC. Il s'agit de la partie protéique des céréales qui est constituée essentiellement par une partie gluténine non toxique et une partie prolamine responsable de déclenchement de réactions immunitaires chez les personnes prédisposées. La prolamine de blé (gliadine), d'orge (Hordéine) et de seigle (sécaline) sont responsables de la MC (Malamut & Cellier, 2010). Tandis que, la toxicité de la prolamine de l'avoine (avénine) n'a pas été mise en évidence (Pinto-Sánchez, 2017). La teneur élevée en proline et la teneur en acides aminés porteurs de fonctions amides (glutamate et aspartate) empêchent la dégradation complète de gluten par les enzymes gastriques et pancréatiques (Charbonnier et al., 1980). Récemment, les chercheurs ont identifié une séquence spécifique de 33 acides aminés qui est la plus immunogène. Lorsque le gluten arrive au niveau intestinal, il traverse l'épithélium digestif jusqu'à la lamina propria. Ainsi, le système immunitaire va être déclenché en attaquant certaines composantes de l'intestin grêle.

##### **I.4.1.1.2. Allaitement maternel et Introduction de gluten :**

De manière générale, l'allaitement maternel semble avoir un effet protecteur contre la MC. Dans ce cadre, la plupart des études faites entre 1966 à 2004 ont montré l'effet bénéfique de l'allaitement maternel sur la MC (Barada et al., 2010). L'âge de l'introduction de gluten peut être un facteur secondaire de l'apparition de MC et l'âge idéal son introduction est estimée à 6 mois. L'introduction plus précoce de gluten (vers 3 mois) ou tardive (après 9 mois) peut favoriser le développement de la cette maladie (Norris et al., 2005; Molkhov, 2010).

##### **I.4.1.1. 3. Infection :**

Les enfants qui souffrent des infections intestinales à répétition sont plus sensibles à développer la maladie. Il s'agit surtout des infections virales par les rotavirus (Beaudouin et al., 2007).

## **I.4.2. Facteurs génétiques**

### **I.4.2.1. Facteurs liés aux gènes HLA-DQ2/DQ8**

La suspicion de l'intervention de facteurs génétiques vient de la corrélation importante remarquée de la maladie cœliaque chez les jumeaux homozygotes (75%) par rapport aux jumeaux dizygotes (11%) (Greco et al., 2002). Il s'agit des antigènes leucocytaires humains (HLA). Leur rôle est de présenter l'antigène aux cellules immunitaires. Ils se trouvent exactement sur le bras court du chromosome 6 (Meresses et al., 2006) et possèdent deux poches d'affinité DQ2 (90 à 95% des cas) ou DQ8 (5 à 10 % des cas). Ces dernières sont exprimées à la surface de ces HLA présentatrices des antigènes. Généralement, la prévalence de HLA DQ2 est estimée à 0 à 40% dans la population mondiale alors que celle de HLADQ8 est estimée de 0 à 20% (Abadi, 2011). Selon Lionetti & Catassi (2014), il existe une concordance entre la consommation de gluten par la population et la présence de HLADQ2. Cette prévalence est très élevée (39%) dans les pays de l'Afrique du Nord dont le régime alimentaire est basé sur des aliments à base de céréales. Alors que cette fréquence est très basse dans les pays subsahariens tels que la Tanzanie (13,5%) et le Cameroun (7%) (Gonzalez-Galarza et al., 2011).

### **I.4.2.2. Facteurs non liés aux gènes HLA**

Plusieurs chercheurs ont exigé la présence d'autres facteurs génétiques, mais, non liés aux gènes HLA. Il s'agit du gène CTLA-4, qui code pour la protéine 4 associée au lymphocyte T cytotoxique, porté sur le chromosome 2. Cependant, la prévalence de ces cas ne dépasse pas 2% (de la Concha et al., 2000; Romanos et al., 2014). Selon Fernández-Bañares et al. (2017), seulement 3% des patients cœliaques sont HLA-DQ2 et la HLA-DQ8 négatifs.

## **I.4.3. Mécanisme physiopathologique**

L'existence des facteurs environnementaux (gluten) et les facteurs génétiques (gènes HLA-DQ2/DQ8) provoquent le déclenchement d'un mécanisme assez complexe. Il s'agit des réponses immunitaires (adaptatives et innées) qui nécessitent l'intervention d'une enzyme appelée trans-glutaminase tissulaire (tTG2).

#### **I.4.3.1. Enzyme trans-glutaminase tissulaire (tTG2)**

Le gluten ingéré s'échappe partiellement aux enzymes gastriques, aux enzymes pancréatiques et à la brosse des épithéliums. Ces protéines sont dégradées en peptides immunogènes (peptide 33-mer) par les protéases intestinales. Ces peptides 33-mer vont arriver au niveau de la lamina propria (couche sous l'épithélium de la paroi intestinale) de l'intestin grêle. Elles vont se lier aux molécules HLA-DQ2/8 exprimées à la surface des cellules dendritiques. Au cours de ces étapes, une enzyme appelée enzyme trans-glutaminase tissulaire (tTG2) est indispensable. Elle joue un rôle important permettant la désamination peptides de gluten (Dieterich et al., 1997). Autrement dit, elle va désaminer les résidus de glutamines dans les peptides de gliadines (charge neutre) en acides glutamiques chargé négativement (Sollid & Jabri, 2011). Cela donne lieu à une forte liaison de ces acides aminés chargés négativement avec L'HLA-DQ2 chargées positivement en position P4, P6 et P9 ou avec L'HLA-DQ8 chargées positivement en position P1, P4 et P9 (Molberg Øyvind et al., 2000; Di Sabatino et al., 2012). Cette liaison va déclencher des réactions immunitaires de type adaptatif et de type inné.

#### **I.4.3.2. Réponse immunitaire adaptative**

La liaison entre les séquences peptidiques immunogènes et les HLA-DQ2/8 induit l'activation des Lymphocytes T (LT) CD4 intestinaux. Ainsi, les LT CD4+ activés induiront la production de cytokines (TNF $\alpha$ , IFN gamma...) dont l'interféron- $\gamma$  déclenchant une inflammation. La production des cytokines permet aussi l'activation des lymphocytes B qui stimulent la cellule plasmatique pour produire des anticorps spécifiques. Il s'agit des anticorps anti-gliadines et des auto-anticorps anti-transglutaminases. Ceux-ci sont transportés dans la lumière intestinale où ils peuvent se lier avec les séquences peptidiques toxiques déclenchant une réaction immunitaire spécifique (Godatet al., 2013; Jabri & Sollid; 2017)(*Figure 1*).

### I.4.3.3. Réponse immunitaire innée

Les parties toxiques de la gliadine induisent la synthèse excessive de l'interleukine-15 (IL-15) par les entérocytes. Ces IL-15 jouent un rôle important dans l'activation des lymphocytes T intra-épithéliaux (CD8) qui à leur tour stimulent les cellules T killer. Ces dernières attaquent les fragments des molécules de gluten. Les IL-15 interviennent aussi dans la réponse CD4 spécifique du gluten dans le chorion (Godatet al., 2013) (Jabri & Sollid 2017)(Figure 1).

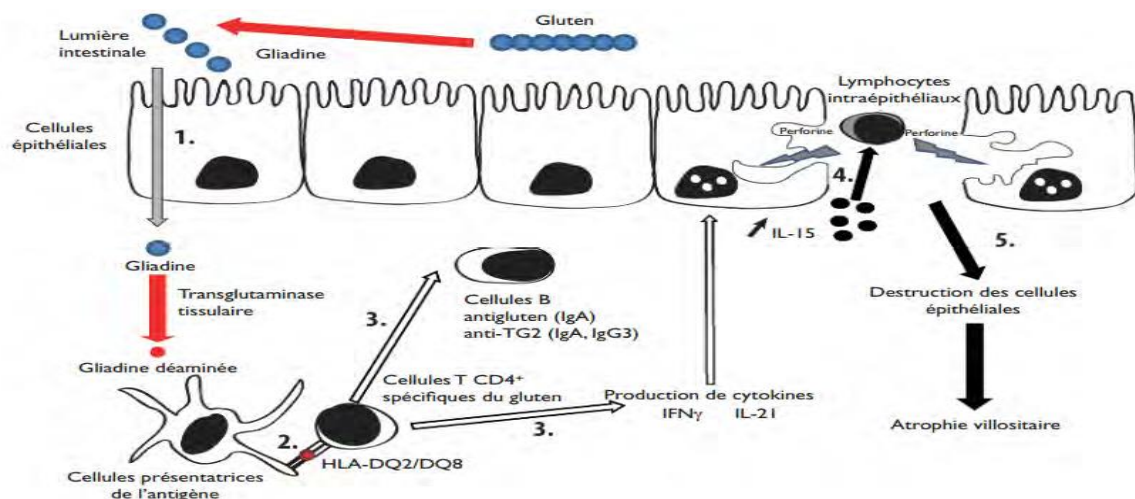


Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques de la maladie cœliaque (Godatet al., 2013)

### I.5. Forme de la maladie cœliaque

Plusieurs facteurs déterminent la forme de la MC. Il s'agit de quatre formes sur la base de leur phénotypes (Schmitz & Garnier-Lengline, 2008; Elli et al., 2015):

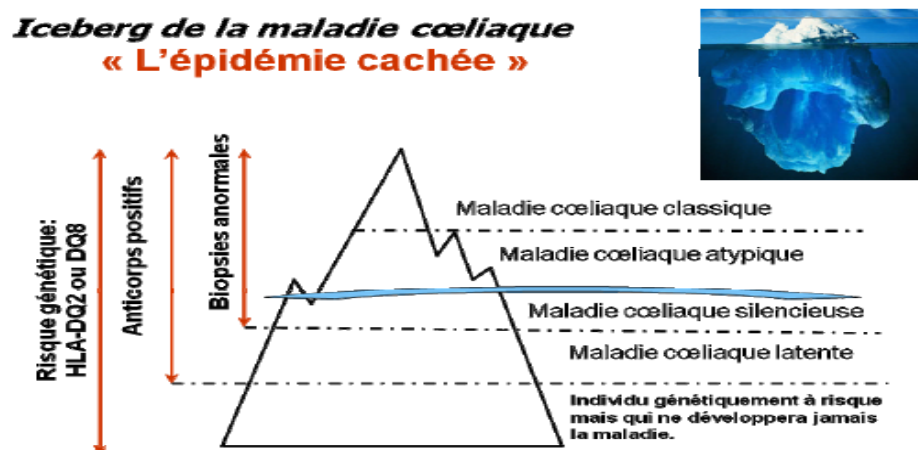
**MC typique (classique) :** Elle est caractérisée par des symptômes digestifs et/ ou par le retard staturo-pondéral.

**MC atypique :** Elle est caractérisée par des symptômes extra-digestifs et associée à certaines pathologies telles que l'anémie.

**MC silencieuse :** Les symptômes sont absents, cependant les tests sérologiques et l'examen histologique montrent une atrophie des villosités intestinales.

**MC latente** : Les facteurs génétiques sont présents chez la personne mais ne présente pas des symptômes digestifs ou extra-digestifs. L'examen histologique montre des villosités intestinales normales. Cependant, les lymphocytes intra-épithéliaux sont augmentés et les tests sérologiques sont positifs.

La *figure 2* d'iceberg montre les cinq formes en relation avec le risque génétique, les tests sérologiques et la biopsie intestinale.



*Figure 2 : Formes de la maladie cœliaque (Djillali-Saiah, 2008).*

## I.6. Aspect clinique

La MC apparaît à tout âge avec des pics essentiellement à partir de 5 mois chez les enfants dont l'introduction de gluten était à 3 mois (Bourrillon, 2005). Comme, elle peut se manifester après 6 mois jusqu'aux 2 ans qui correspond à la période de sevrage et l'introduction de gluten. Dans certains cas, l'apparition de la maladie peut arriver jusqu'aux 9 ans. Chez les adultes, la maladie apparaît généralement entre 30 à 59 ans (Bayrou, 2001). Cette maladie se manifeste par des symptômes digestifs. Il s'agit d'un tableau clinique typique. Cependant, selon Malamut & Cellier (2010), le tableau clinique atypique représente 4/5 des cas.

### **Manifestations digestives :**

La MC est caractérisée dans plusieurs cas par des troubles gastro-intestinaux (Leonard et al., 2017). Le site d'attaque de cette maladie est les intestins grêles. Ainsi, les villosités

intestinales seront détruites en causant une malabsorption intestinale. Par conséquent, un retard staturo-pondéral est installé (Malamut & Cellier, 2010). Des symptômes digestifs apparaissent. La diarrhée, la douleur abdominale, la constipation, le ballonnement, la nausée et les vomissements sont les symptômes les plus fréquents chez les cœliaques (Nijhawan & Goyal, 2015).

### ***Manifestations extra-digestives :***

La MC est caractérisée aussi par la présence des symptômes extra-digestives (Dominguez-Ortega et al., 2014). Le plus souvent, il existe cinq manifestations associées à la maladie cœliaques. L'anémie par carence en fer (IDA). Celle-ci est trouvée dans 2/3 des adultes cœliaques (Griffiths, 2008) et caractérisée par la fatigue. Environ, 82% des patients cœliaques souffrent de fatigue. La réduction de la densité minérale osseuse et l'ostéoporose. Cette dernière est caractérisée chez 40 % par une malabsorption des vitamines (vitamine D) et certains minéraux (calcium)(Halfdanarson et al., 2007). Plusieurs études ont confirmé que l'ostéoporose est fréquente chez plus de 65% cœliaques de plus de 65 ans. Alors que cette prévalence dépasse 9% chez les adultes moins de 65 ans (Casella et al., 2012). Des problèmes liés à la reproduction. Selon Zugna et al.(2010), la fertilité des femmes cœliaques est très basse par rapport aux contrôles. Les symptômes psychologiques telles que la dépression (Arigo et al., 2012) et l'anxiété (Addolorato et al., 2004). Des malignités peuvent s'associer à la MC au niveau de l'intestin grêle, du pharynx et de l'œsophage (Catassi *et al.*, 2005).

## **I.7. Diagnostic**

L'aspect clinique de la MC détermine la facilité de diagnostic. Les manifestations symptomatiques telles que la diarrhée, le ballonnement abdominal, la dénutrition et le vomissement permettent d'orienter le diagnostic, de le faciliter et de l'accélérer. Une fois la maladie est suspectée, des tests sérologiques deviennent essentiels

### **I.7.1. Tests sérologiques**

Il s'agit d'une maladie auto-immune, dont le corps humain produit des anticorps pour détruire les antigènes suspectés nocifs. Ainsi, la recherche des anticorps dans le sang humains permet de révéler cette maladie. Le choix de test dépend essentiellement de l'âge. Chez les nourrissons, le diagnostic sérologique est basé sur la recherche de anticorps anti-gliadine désaminé de type IgA (IgA-DGP) (Husby et al., 2012). Auparavant, ils ont utilisé les IgA anti-gliadine (IgA-AGA), mais leur spécificité étaient basse (Godat et al., 2013). Les anticorps anti-gliadine de type IgG ne sont plus recommandés à cause de leur faible spécificité et sensibilité (Haute Autorité de Santé, 2008). Chez les enfants plus de deux ans et chez les adultes, le choix est basé sur plusieurs critères. Il s'agit de plus spécifique, de plus sensible et de moins coûteux. Le test le plus adéquat dans ce sens est les IgA anti-transglutaminases tissulaires (IgA-TGt2) avec une spécificité et une sensibilité de 95% (van der Windt et al., 2010). En plus, leur détection se fait par la technique ELISA, avec un prix moins coûteux. Le deuxième choix est les IgA anti-endomysium (IgA-EMA) avec une spécificité très élevée (99%), mais, leur détection nécessite une technique d'immunofluorescence indirecte plus coûteuse (Leffler & Schuppan, 2010). Brietzke et al. (2018) recommandent l'utilisation des IgG anti-tTG2 et IgG anti-EMA dans le cas de déficit de IgA (IgA<0,2g/l). Le **tableau 1** montre la spécificité et la sensibilité de chaque test. Une fois les tests sérologiques sont positifs, une biopsie intestinale peut être recommandée. Si les renseignements cliniques sont évocateurs alors que les tests sérologiques sont négatifs, les tests de typage HLA DQ2/DQ8 sont recommandés avant de réaliser la biopsie (Husby et al., 2012).



**Tableau 1 : Sensibilité et spécificité des tests sérologiques destinés à la révélation de la MC**  
(Armstrong et al.,2011)

Test	Sensibilité %	Spécificité%
<b>IgA-AGA</b>	46-87	70-98
<b>IgG-AGA</b>	42-92	84-97
<b>IgA-DGP</b>	75-78	95-100
<b>IgG-DGP</b>	76-71	95-98
<b>EMA</b>	74-100	99-100
<b>IgA-TGt</b>	81-100	97-100
<b>IgG-TGt</b>	27-100	77-96

AGA: anti-gliadine ; DGP : anti-gliadine désaminé ; EMA: anti-endomysium ; TGt : anti-transglutaminases tissulaires

### **I.7.2. Diagnostic histologique :**

La biopsie intestinale était l'élément clé « gold standard » dans la confirmation de la maladie dont l'objectif principal est d'éprouver l'atrophie des villosités intestinales (Caio et al., 2019). Aucun traitement ne doit être prescrit avant sa réalisation (Olives, 2013). Ainsi, ses résultats sont indispensables avant la prise de décision concernant le suivi de RSG. Mais, la réalisation de cet examen nécessite que le patient ne soit pas déjà sous une alimentation exempté de gluten. Cependant, si c'était le cas, le patient doit consommer une dose suffisante de gluten qui permet de stimuler le système immunitaire. Cette dose est estimée par plusieurs récentes recherches à 3 g/jour pendant 2 semaines (Elli, 2015). Le degré de l'atrophie est précisée selon les stades de Marsh et Oberhuber (Marsh modifié) (Oberhuber , 2000) (**Tableau 2**) :

Les villosités intestinales de patient doivent être en stade II de March ou plus pour que la MC soit confirmée. Cela correspond à une atrophie totale ou subtotale des villosités avec une hyperplasie des cryptes et augmentation des lymphocytes intra-épithélium (Bao & Bhagat, 2012). Ainsi, une prescription de traitement est indiquée. Cependant, selon l'Institut national pour la santé et l'excellence des soins (NICE) en Angleterre (2009), les tests sérologiques ne

seront demandés qu’après que le patient présente les symptômes telles qu’une diarrhée chronique ou intermittente, un retard de croissance, des symptômes gastro-intestinaux persistants ou inexplicables, y compris des nausées et des vomissements, une fatigue prolongée, des douleurs abdominales récurrentes, une perte de poids soudaine ou inattendue et une anémie ferriprive inexplicée (IDA) ou autre anémie non précisée.

Les experts de l’ESPGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition) ont mis à jours ces recommandations avec l’ajout d’autres critères telles que l’élévation des IgA-TGt2 dix fois supérieure que la norme (Schibli et al., 2012). Actuellement, des recherches proposent de diminuer ou d’éradiquer la biopsie dans certains cas pour la confirmation de la maladie surtout lorsque les tests sérologiques, les facteurs génétiques et les symptômes sont évocateurs (Mills et al., 2016; Reilly et al., 2018).

**Tableau 2:** Les quatre stades de March–Oberhuber modifié de l’intestin grêle (Oberhuber, 2000)

Stades	Lésions	Cryptes	Villosités	Lymphocytes intra-épithéliaux /100 cellules épithéliales
<b>0</b>	Preinfiltratives : muqueuse normale	normales	normales	<40 Evolution possible vers stade I si charge orale en gluten
<b>I</b>	Infiltratives: muqueuse quasi normale	normales	normales	>40 Hyperlymphocytose Intraepitheliale
<b>II</b>	Hyperplasiques	hypertrophie	normales	>40 Hyperlymphocytose Intraepitheliale
<b>III</b>	<b>IIIa</b> Atrophies hyperplasiques	hypertrophie	Atrophie partielle	>40
	<b>IIIb</b> destructives		Atrophie subtotale	
	<b>IIIc</b>		absentes	
<b>IV</b>	Hypoplasiques : muqueuse plate	normales	absentes	<40

## **I.8. Maladies associées & Complications**

La MC peut être associée chez certains patients cœliaques à d'autres maladies telles que le diabète de type 1. Selon une revue avec méta-analyse, plus d'une personne pour 20 présentant un diabète type 1 ont une biopsie qui confirme la MC (Elfström et al., 2014). La dermatite herpétiforme est aussi associée à la MC (Kotze, 2013). Une fois la maladie est non traitée, des complications peuvent s'installer. D'une part, des complications suites à la malabsorption des nutriments telles que des carences vitaminiques (vitamine D, vitamine K, vitamine B9, vitamine B12) et minérales (calcium) (Vici et al., 2016). Ainsi, l'installation de l'ostéoporose et l'hémorragie sont fréquentes (Kemppainen et al., 2018). D'autre part, des complications secondaires telles que les troubles de fécondité (Khoshbaten et al., 2011), neuropsychologiques (Campagna et al., 2017), et des accidents cardio-vasculaires (Assa et al., 2017; Ciaccio et al., 2017).

## **I.9. Prise en charge de la maladie cœliaque**

C'était en 1950, que Dicke et al. (1950) avaient proposé un régime sans céréales pour traiter les patients cœliaques par la mise en cause les céréales responsables de la toxicité. D'où vient l'idée d'un traitement nutritionnel. Actuellement, tous les chercheurs s'accordent à dire qu'il s'agit d'une maladie à traitement nutritionnel à vie. Le RSG reste le seul régime efficace à vie (Bascañán et al., 2016; Cabanillas, 2019). Une fois la maladie est confirmée par les médecins, le patient doit avoir des consultations régulières avec le diététicien (e). Celui-ci (celle-ci) donne des conseils réguliers aux patients cœliaques à propos des aliments sans gluten autorisés, aliments interdits et aliments suspectés. Une attention particulière doit être accordée à la contamination croisée au cours de suivi de ce régime.

Une bonne adhérence au RSG permet d'une part, de corriger les symptômes causés par la maladie telle que les symptômes digestifs (la diarrhée, le ballonnement abdominal...) et les symptômes extra-digestifs (Murray et al., 2004). D'autre part, il permet de corriger les anomalies et les dégâts de l'intestin grêle (Ciacci et al., 2002). Ainsi, les intestins grêles

recupèrent leur fonction d'absorption régulière des nutriments. Des contrôles réguliers par des tests sérologiques sont indiqués pour évaluer l'adhérence au régime sans gluten.

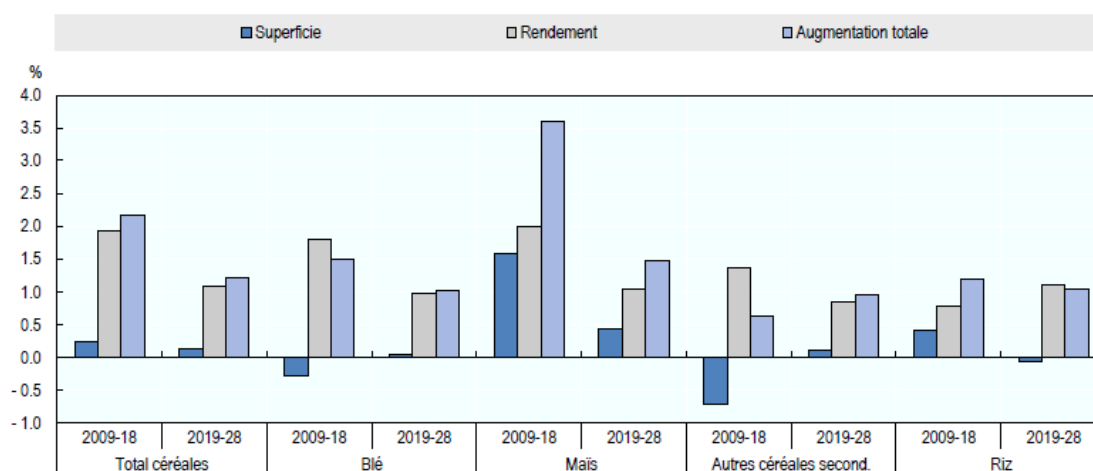
#### **I.10. Nouveaux espoirs thérapeutiques**

L'identification de traitements alternatifs ou complémentaires au RSG apporte de l'espoir aux patients cœliaques (Caio et al., 2019). Dans ce cadre et au fil du temps, les chercheurs ont précisé les autres facteurs responsables de cette maladie. Cela a permis de proposer certains traitement dont l'objectif est d'éradiquer, inactiver ou éliminer les facteurs y sont responsables. Parzanese et al. (2017) résumant les différents traitements proposés. Il s'agit d'utiliser des enzymes qui dégradent le gluten en modification les gènes des grains de blé, de seigle et de l'orge permettant le blocage de l'entrée du gluten à travers l'épithélium intestinal. Certains pensent à utiliser des vaccins basés sur un ensemble de peptides de gluten qui sont reconnus par le HLA-DQ2 de manière immuno-dominante. Malgré ces efforts, le RSG reste jusqu'au moment le seul traitement efficace et sûr pour traiter la MC (Parzanese et al., 2017).

## II. Gluten, Régime sans gluten & Aliments sans gluten

### II.1. Céréales & Gluten : Généralités

La consommation des céréales dans le monde entier est en augmentation considérable. Cependant, l'offre a dépassé la consommation entraînant une accumulation sensible des stocks. Selon l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale devrait s'accroître de 367 Mt pour atteindre 3 053 Mt en 2028 (FAO, 2020). La consommation mondiale devrait afficher une augmentation de 382 Mt entre la période de référence et 2028, atteignant 3 036.0 Mt en 2028. La production de blé est la plus répandue. La production de riz, maïs et d'autres céréales secondaires est en augmentation colossale dans les quatre coins de monde. Cette augmentation était une conséquence de l'augmentation colossale des superficies récoltées et des rendements pour les céréales (**Figure 3**).



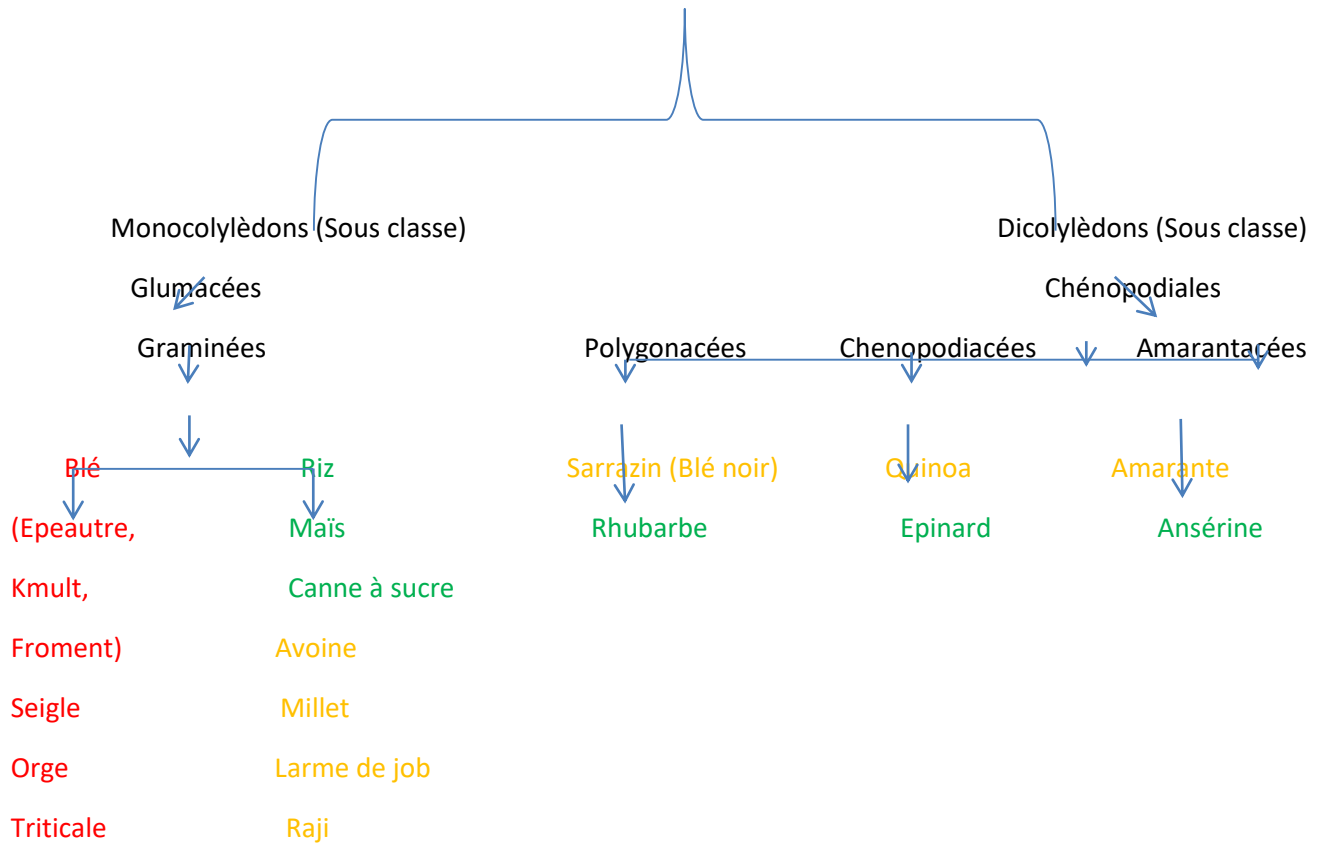
**Figure 3 :** Taux de croissance mondiale des superficies récoltées et des rendements pour les céréales (FAO, 2020)

Au Maroc, la production des céréales a connu une augmentation importante, grâce au programme du « Plan Maroc Vert » adopté par le gouvernement. Il est doté d'une superficie de 5,3 millions d'hectares avec une production moyenne de 50 millions de quintaux/année. Cependant, le ce pays importe encore des céréales à hauteur de 6 Milliards de dirhams (Ministère de l'Agriculture du Maroc, 2020).

Les céréales sont issues des plantes à fleur qui sont subdivisées en monocotylédons et dicotylédons. Les céréales issues de sous classe de dicotylédons (Epinard, rhubarbe et absérine) sont exemptées de gluten responsable de la MC, mais, certains d'entre eux sont facilement contaminés au cours de leur récolte, transport, stockage et transformation (sarrazin, quinoa et amarante). Les céréales issues de sous classe de monocotylédons peuvent être exemptées de gluten (riz, maïs, canne à sucre) comme elles peuvent être riches en gluten (blé, seigle, orge et triticale) responsable de déclenchant la MC (*Figure 4*).

Les céréales sont constituées de plusieurs parties dont deux sont les plus dominantes. La première est celle de l'amidon qui est hydrosoluble. La deuxième est la partie protéine dont le gluten est le plus répandu qui constitue la partie protéine de réserve des céréales (75–85%) (Wieser, 2007). Le gluten est constitué de gluténines et de prolamines (Alaedini and Green, 2005). Les prolamines sont alcool-solubles présentes dans plusieurs céréales. Leur nomination diffère d'une céréale à une autre. Il s'agit de gliadine au blé, de sécaline au seigle, de l'hordéine à l'orge, de l'avénine à l'avoine, de la zéine au maïs, et de kafirine au sorgo. Cependant, seules les céréales appartiennent à la famille de Triticum (blé, orge et seigle) qui sont toxiques pour les patients cœliaques (Brouns et al., 2019). Le gluten se trouve aussi dans Triticale qui est un hybride de blé et de l'orge (Lindahl & Eliasson, 1986; Peña, 1992). Il se trouve également dans plusieurs produits à base de blé, d'orge et de seigle tel que les pizzas, les produits de boulangeries, de pâtisseries et les pâtes. Il se trouve également dans les produits agro-alimentaires comme ingrédient. Les industriels l'obtiennent après le processus de lavage avec l'eau et le séchage. Il est utilisé ainsi comme ingrédient dans plusieurs produits agro-alimentaires grâce à ses caractéristiques (élasticité et extensibilité). Dans certains cas, des traces de gluten peuvent y exister démasquées dans les extraits de malt ou dans l'amidon modifié (Biesiekierski, 2017).

## Plantes à fleur



En Rouge : Les plantes strictement interdites à consommer par les patients cœliaques.

En Jaune : Les plantes théoriquement exemptes de gluten, mais sont facilement contaminées par le blé, le seigle ou l'orge au cours de la culture, de stockage, de transport ou de traitement industriel.

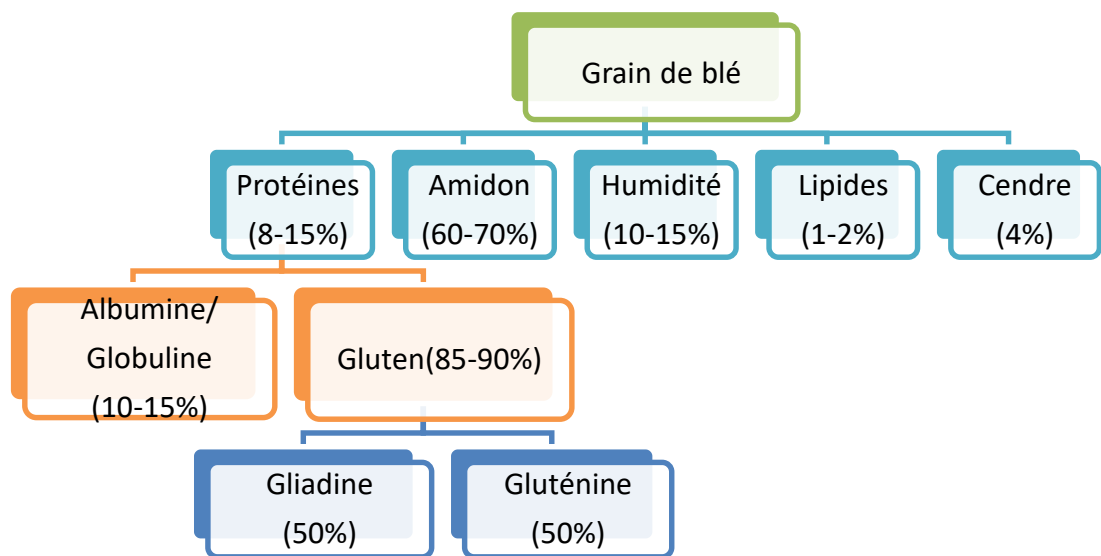
En vert : Les plantes autorisées à être consommées par les patients cœliaques.

**Figure 4** : Les différentes céréales contenant de gluten

## II.2.Toxicité de Gluten

Les prolamines de blé (gliadine), d'orge (Hordéine) et de seigle (sécaline) déclenchent des réactions immunitaires chez certaines personnes prédisposées. Prenant l'exemple de blé (Epeautre, Kmult et Froment) qui est largement utilisé dans les pays de l'Afrique de Nord. Il est constitué d'une portion importante d'amidon (60-70%), d'humidité, de lipides, de cendres

et de 8 à 15% des protéines. Celles-ci sont constituées essentiellement d'albumine, de globuline (10-15%) et de gluten (85-90%) (Biesiekierski, 2017). Ce dernier est constitué d'une moitié de gluténine et une autre moitié de gliadine (**Figure 5**). Les gluténines qui sont solubles dans les solutés basiques peuvent être de haut ou de faible poids moléculaire. Elles sont constituées de nombreuses sous-unités dotées des ponts disulfures qui leur donnent une stabilité. Elles jouent un rôle important dans l'élasticité de la pâte en pâtisserie (Ewart, 1990; Barak et al., 2014).



**Figure 5** : les composantes de grains de blé

Les gliadines sont les plus caractérisées et connues par leur solubilités dans l'alcool. Elles sont subdivisées en quatre groupes ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\omega$ -gliadines) (Barak et al., 2014). Les recherches récentes ont identifié une séquence de 33 acides aminés qui est la plus immunogène. Cette séquence de gliadine est celle responsable de la toxicité de gluten et constitue le facteur déclenchant de la maladie cœliaque. Leur structure compacte et la présence de nombreuses prolines les rendent très résistantes à la digestion par les enzymes digestives, les enzymes pancréatiques et les enzymes de la bordure en brosse qui n'ont pas d'activité prolylendopeptidase (**Figure 6**).





*Figure 6 : Constituant de la molécule de gluten*

### **II.3. Rôle de gluten dans les aliments**

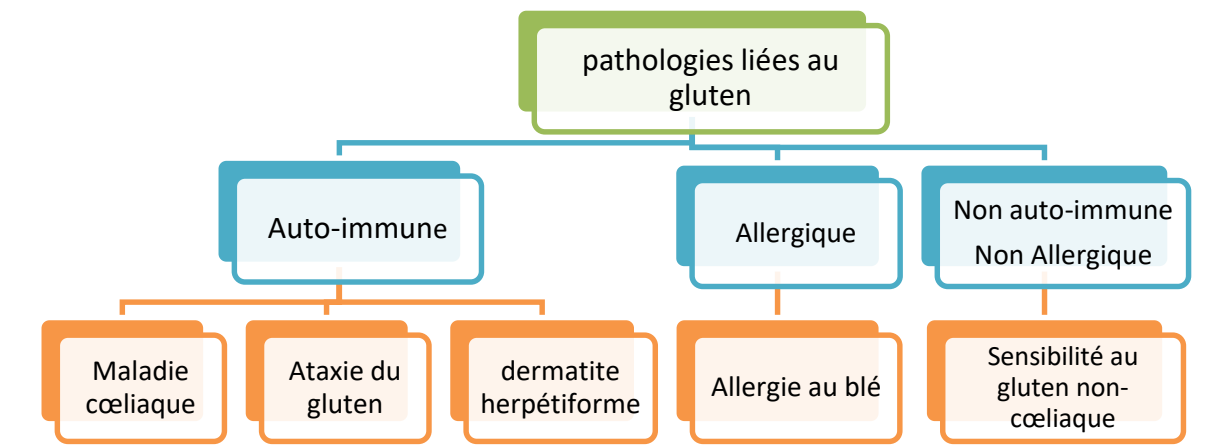
Le gluten joue des rôles très importants dans les aliments surtout ceux à base de céréales. Il influence surtout les propriétés de cuisson de la farine en permettant de donner la saveur, la texture et la structure des produits alimentaires. Au cours de mélange de la farine à base de céréales avec l'eau, le gluten absorbe l'eau, ce qui permet d'emprisonner le dioxyde de carbone. Ainsi, lorsque ces poches d'air se gonflent, la pâte se dilate ou monte ce qui aide le pain à lever. Au cours de la cuisson, le gluten libère une partie de l'eau retenue et se lie à l'amidon contenu dans la farine, de façon à assurer la cohésion du pain en lui permettant de garder sa forme et lui donne sa texture ferme (Kumar, 2014). Ainsi, le gluten est responsable de la capacité agglutinante et liante des céréales et leur utilisation pour la fabrication des pâtes et de pains (Friedli & Howell, 1996). Les gliadines confèrent à la pâte son extensibilité et sa fluidité. En plus, les gluténines apportent l'élasticité, la cohésion et la résistance aux déformations (Feillet, 2000). C'est pour cela, certaines céréales sont difficiles à panifier puisque la teneur en prolamines est assez faible par rapport aux teneurs totales des protéines.

En boulangerie, la situation est plus délicate, puisqu'on utilise beaucoup de graisse qui interfère avec le processus de développement du gluten. Les biscuits sont plus friables que le pain parce qu'ils contiennent plus de graisse. Les molécules de graisse entourent et raccourcissent littéralement les brins de gluten, de sorte qu'ils ne peuvent pas s'étirer autant. Les pâtes sont des produits non cuits. Le rôle de gluten dans les pâtes réside dans leurs textures fermes. Les pâtes faites à partir de farine à faible teneur en gluten seraient trop molles. Le fait

de cuir sans gluten est tellement difficile. C'est d'un processus assez lourd et denses. C'est pourquoi le pain de maïs et de riz est difficile à panifier (Kumar, 2014). Les parties du gluten sont utilisées aussi comme ingrédients pour une large gamme d'aliments commerciaux. Ils permettent ainsi de donner une bonne saveur, texture et structure aux produits agro-alimentaires (Kumar, 2014).

#### **II.4. Pathologies liées au gluten**

Les bienfaits de gluten sont multiples. Cependant, il peut provoquer plusieurs pathologies (Sapone et al., 2012; Allen, 2015; Biesiekierski, 2017; Cabanillas, 2019) résumées dans la *figure 7*. En effet, la MC reste la plus répandue et la plus connue (Green et al., 2015; Guandalini et al., 2016). Elle fait partie de catégorie des maladies auto-immunes avec la dermatite herpétiforme et l'ataxie de gluten. Cette dernière est la forme la plus courante d'ataxie cérébelleuse potentiellement traitable. C'est une ataxie idiopathique avec des tests sérologiques de diagnostic de la maladie cœliaque positifs (Anti-gliadine désaminé, anti-endomysium, anti-transglutaminases tissulaires) (Hadjivassiliou et al., 2015). Les manifestations gastro-intestinales sont rares et le traitement est basé sur un régime sans gluten pendant un à deux ans (Sapone et al., 2012). La dermatite herpétiforme est une maladie rare qui doit être considérée comme l'expression cutanée d'une entéropathie sensible au gluten, indissociable de la maladie cœliaque. Elle se manifeste par des érythèmes transformant en croûtes. Le traitement est basé sur le suivi de RSG plus un traitement médical (Caproni et al., 2009). L'allergie au blé est une maladie dont les manifestations sont tellement différentes par rapport aux maladies auto-immunes. Dans cette maladie, les anticorps de l'immunoglobuline E (IgE) servent de médiateur dans la réponse inflammatoire (Ludvigsson, 2013). Il existe une autre maladie non auto-immune et non Allergique. Il s'agit de la sensibilité au gluten non-cœliaque. C'est une intolérance au gluten de caractère non immunologique. Cependant, son mécanisme n'est pas encore bien éclairé (Lebwohl et al., 2015; Leonard et al., 2017).



*Figure 7 : Les différentes pathologies liées au gluten (Biesiekierski, 2017)*

## II.5. Régime sans gluten

Le RSG est le fait d'exclure tous les aliments qui contiennent le gluten de l'alimentation. Autrement dit, il s'agit de ne consommer que les aliments qui sont exemptés de la gliadine, de sécaline et de l'hordéine. Chez les patients cœliaques, ce régime doit être suivi à vie. En absence d'un traitement médical pour MC, ce régime reste le seul traitement nutritionnel de base (Elli et al., 2019). Une fois le patient cœliaque l'arrête, les symptômes se réinstallent et des complications lui arrivent. Ainsi, les rôles du RSG sont divers. D'une part, il permet de corriger les dégâts causés par la MC. Il s'agit d'améliorer les anomalies biologiques, cliniques et histologiques (Murray et al., 2004). D'autres parts, il permet d'éviter les complications associées tels que l'ostéoporose, la tumeur de l'intestin grêle (Matuchansky et al., 2004), les troubles de fécondité (Khoshbaten et al., 2011), les troubles neuropsychologiques (Campagna et al., 2017) et les accidents cardio-vasculaires (Assa et al., 2014; Ciaccio et al., 2017). D'où l'importance que ce régime doit inclure une large variété des aliments sans gluten pour qu'il soit nutritionnellement équilibré. Il permettra ainsi de récompenser les déficiences causées par la malabsorption.

## **II.6. Avoine & Régime sans gluten**

Des recherches récentes ont montré l'intérêt de l'avoine dans l'alimentation humaine en tant qu'élément nutritif important pour la santé humaine (Martínez-Villaluenga & Peñas, 2017). Dans ce cadre, plusieurs allégations ont été approuvées par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et la FDA (Mathews, 2011; Clemens & Van Klinken, 2014). La partie protéique de l'avoine est constituée de globulines et de gluten. La partie prolamine de gluten est appelée avénine. Leur toxicité n'a pas été mise en évidence (Malamut & Cellier, 2010). L'avoine est considéré comme un aliment sûr et sain pour les patients cœliaques (Gillissem et al., 2016). Selon une étude revue avec méta-analyses aucune preuve n'a été montrée à propos de l'effet de l'avoine sur les symptômes des patients cœliaques. Cependant, des essais rigoureux en double aveugle, contrôlés par placebo, randomisés et contrôlés, utilisant de l'avoine couramment disponible provenant de différentes régions, sont nécessaires (Pinto-Sánchez, 2017). Dans l'UE (depuis 2009), aux États-Unis (depuis 2013) et au Canada (depuis 2015), les produits à base d'avoine peuvent être vendus comme étant sans gluten à condition que le niveau de contamination par le gluten soit inférieur à 20 ppm (Smulders et al., 2018). Cependant, la contamination de l'avoine par le blé, l'orge et le seigle est fréquente. Au cours de la production de l'avoine par des méthodes conventionnelles, la contamination de l'avoine est répandue. Ainsi, la non-contamination de l'avoine nécessite la mise en place d'un système distinct et des contrôles réguliers pour l'efficacité de ce système. Plusieurs chercheurs conseillent de ne consommer que l'avoine étiquetée sans gluten, alors que d'autres recommandent d'arrêter de manger de l'avoine une fois les symptômes se développent (Thompson, 2003; Garsed & Scott, 2007; Smulders et al., 2018). Koerner et al. (2013) ont constaté que 88% des produits de l'avoine ou à la base de l'avoine ont été contaminés par une valeur supérieure à 20 ppm de gluten. La présence de l'avoine dans les aliments naturellement sans gluten disponibles dans les supermarchés en USA a été corrélée à une teneur élevée à 20mg/kg par la méthode ELISA (Sharma et al., 2015).

## **II.7. Autres utilisations du régime sans gluten**

Il est évident que le RSG est un régime à vie destiné aux patients cœliaques. Le dépistage précoce et le respect strict du régime permettent d'améliorer la récupération des muqueuses et de réduire les anticorps anti-transglutaminase tissulaire chez les patients atteints de la MC (El Khoury et al., 2018). Cependant, ce régime est utilisé dans plusieurs autres pathologies. Dans le cas de la dermatite herpétiforme, il est utilisé en parallèle avec un traitement médical. Il aide à guérir les lésions cutanées, à réduire les dépôts de transglutaminase et d'IgA dans la peau et à diminuer les besoins en médicaments pour de nombreux patients atteints de DH (Caproni et al., 2009). Son utilisation dans le cas de l'ataxie au gluten n'est pas éternelle. Il s'agit de l'utiliser que pendant un à deux ans. Il permet d'améliorer les atteintes neurologiques (Sapone et al., 2012). Aussi, il est indiqué dans le cas de l'allergie alimentaire et lors d'une sensibilité au gluten non cœliaque (El Khoury et al., 2018).

## **II.8. Application de régime sans gluten**

Théoriquement, ce régime paraît facile à suivre. Mais, sa pratique est assez complexe et nécessite un accompagnement par un(e) diététicien(e). Au Maroc, l'application de RSG au début est assez complexe. Il s'agit d'un pays méditerranéen de l'Afrique du Nord dont l'alimentation est basée sur le blé et le seigle (Royo et al., 2017). D'où vient le rôle des diététiciens dans les premières séances afin d'assurer le patient sur ce changement des habitudes alimentaires. Le diététicien(e) est chargé de conseiller les patients à ne prendre que les aliments sans gluten, de leur expliquer les sources de la contamination croisée, de diversifier les aliments pour récompenser les déficits en nutriments, de vérifier l'adhérence à ce régime par l'évaluation des types des aliments pris par les patients cœliaques et de s'habituer à lire les ingrédients des produits agroalimentaires sans gluten.

## **II.9. Aliments autorisés & interdits dans le régime sans gluten**

Une fois la MC est confirmée, le patient ne doit consommer que les aliments sans gluten. Il s'agit de prendre des aliments qui sont naturellement sans gluten et/ou des aliments

agroalimentaires sans gluten développés par les industriels. Donc, le patient a le droit de consommer les divers aliments naturels exempts de gluten. Le patient est autorisé à prendre les légumes, les fruits, les poissons, les œufs, le lait, les féculés, le soja et les algues. Le choix est délicat lors de la consommation de produits agroalimentaires sans gluten. Il s'agit de ne consommer que ceux emballés et étiquetés sans gluten. Sur l'emballage de ces produits, se trouve des mots tels que « sans gluten », « without-gluten », « no gluten » et « gluten-free ». Ils peuvent avoir aussi certains logos (**Figure 8**). L'allégation "sans gluten" dans l'Union Européenne est harmonisée avec celle de la norme Codex au niveau international (**Figure 9**).



*Figure 8 : Quelques Logos identifiant les produits sans gluten « Gluten-free »*



*Figure 9 : Logo identifiant les produits sans gluten « Gluten-free » selon le codex alimentarius*

L'**annexe 1** résume les aliments interdits ainsi que les aliments autorisés à être consommés par les patients cœliaques selon la Société Nationale Française de Gastro-

Entérologie. Cependant, avant de consommer les aliments autorisés, il est nécessaire de lire les ingrédients de l'aliment affichés dans l'étiquette. L'**annexe 1 Bis** résume en langue Arabe une liste des aliments interdits et autorisés recommandés et conseillés par les diététicien(e)s pour les patients cœliaques au CHU Mohamed VI de Marrakech. L'**annexe 2** présente les ingrédients autorisés et interdits figurés sur les étiquettes des produits alimentaires. Actuellement, il y a une tendance à utiliser des aliments agro-alimentaires certifiés sans gluten. Certaines associations telles que l'AFDIAG (Association Française de l'Intolérance et l'Allergie au Gluten) conseillent les patients cœliaques de les utiliser.

#### **II.10. Médicaments autorisés & interdits dans le régime sans gluten**

Plusieurs médicaments peuvent être fabriqués à partir d'un élément qui contient de gluten. D'où vient la nécessité de vérifier les ingrédients des médicaments en collaboration avec le pharmacien. Le problème se pose surtout pour les médicaments à voie digestive et rectale. L'**annexe 3** présente les médicaments qui sont strictement interdits à être utilisés par les cœliaques selon Association Marocaine de l'Intolérance et l'Allergie au Gluten (AMDIAG) (AMDIAG, 2020).

#### **II.11. Adhérence au régime sans gluten**

L'adhérence au RSG est indispensable pour la réussite de traitement de la MC. Les mesures de l'adhérence à ce régime sont diverses. Certains chercheurs considèrent que le contrôle par les tests sérologiques et/ou la biopsie intestinale soit le moyen le plus efficace (Hall et al., 2009). Certains d'autres ont établi l'échelle de Likert pour estimer si l'adhérence est parfaitement stricte, partiellement stricte ou mauvaise. Celle-ci a été évaluée d'après des enquêtes alimentaires réalisées à l'aide des diététiciens (Da Silva Kotze et al., 2009). L'adhérence aux RSG est fortement corrélée à une bonne connaissance du régime lui-même (Rocha et al., 2016). D'où vient la nécessité d'améliorer ces connaissances à travers les différents moyens y compris les consultations chez les diététicien(e)s. Des enquêtes alimentaires de 24 heures, 3 jours ou 7 jours ont été utilisées. Dans les pays Magrébins dont

l'alimentation est basée sur le blé et ses dérivés, l'adhérence au RSG est médiocre chez les adultes, chez les enfants et les adolescents. Selon Boukezoula & Zidoune (2014) près de la moitié (48%) des malades enquêtés ont une observance médiocre, 19 % avaient une observance bonne, et 33 % des patients ne suivent pas du tout le RSG. Les facteurs d'échec de l'adhérence au RSG dépendent essentiellement du prix, de la disponibilité, de la teneur exacte en gluten et de la qualité nutritionnelle des produits agro-alimentaires sans gluten (MacCulloch & Rashid, 2014).

## **II.12. Aliments et Produits agro-alimentaires sans gluten**

Le RSG est basé sur la consommation des aliments naturellement sans gluten et des produits agro-alimentaires étiquetés sans gluten. Les aliments qui sont naturellement exempts de gluten sont généralement à la portée des patients cœliaques au même terme d'équivalence par rapport aux autres personnes. Cependant, la situation est délicate lorsqu'il s'agit des produits agro-alimentaires sans gluten développés par les industriels. Les patients cœliaques sont confrontés à plusieurs obstacles dans ce sens. Il s'agit essentiellement de trouver ces PSG avec un prix convenable, de bonne qualité nutritionnelle et microbiologique et avec une teneur en gluten inférieur au seuil fixé à 20 mg/kg.

### **II.12.1. Définition & Réglementation**

Selon le Codex alimentarius de l'OMS et FAO (CODEX STAN 118-1979. 2008), les aliments sans gluten y compris les produits agroalimentaires sans gluten sont définis « *Sont des aliments diététiques :*

- a) *qui sont constitués ou fabriqués uniquement à partir d'un ou plusieurs ingrédients ne contenant pas de blé (c'est-à-dire toutes les espèces de Triticum, telles que le blé dur, l'épeautre et le blé khorasan, qui est également commercialisé sous différentes marques telles que KAMUT), de seigle, d'orge, d'avoine\* ou de leurs variétés croisées, et dont la teneur en gluten ne dépasse pas 20 mg/kg au total, sur la base des denrées alimentaires telles que vendues ou distribués au consommateur, et/ou*



*b) composé d'un ou de plusieurs ingrédients issus du blé (c'est-à-dire de toutes les espèces de Triticum, telles que le blé dur, l'épeautre et le blé khorasan, qui est également commercialisé sous différentes marques telles que KAMUT), du seigle, de l'orge, de l'avoine\* ou de leurs variétés croisées, qui ont été spécialement traités pour éliminer le gluten, et dont la teneur en gluten ne dépasse pas 20 mg/kg au total, sur la base de la denrée alimentaire telle qu'elle est vendue ou distribuée au consommateur.»*

*\*La toxicité de l'avoine n'a pas été prouvée pour les cœliaques.*

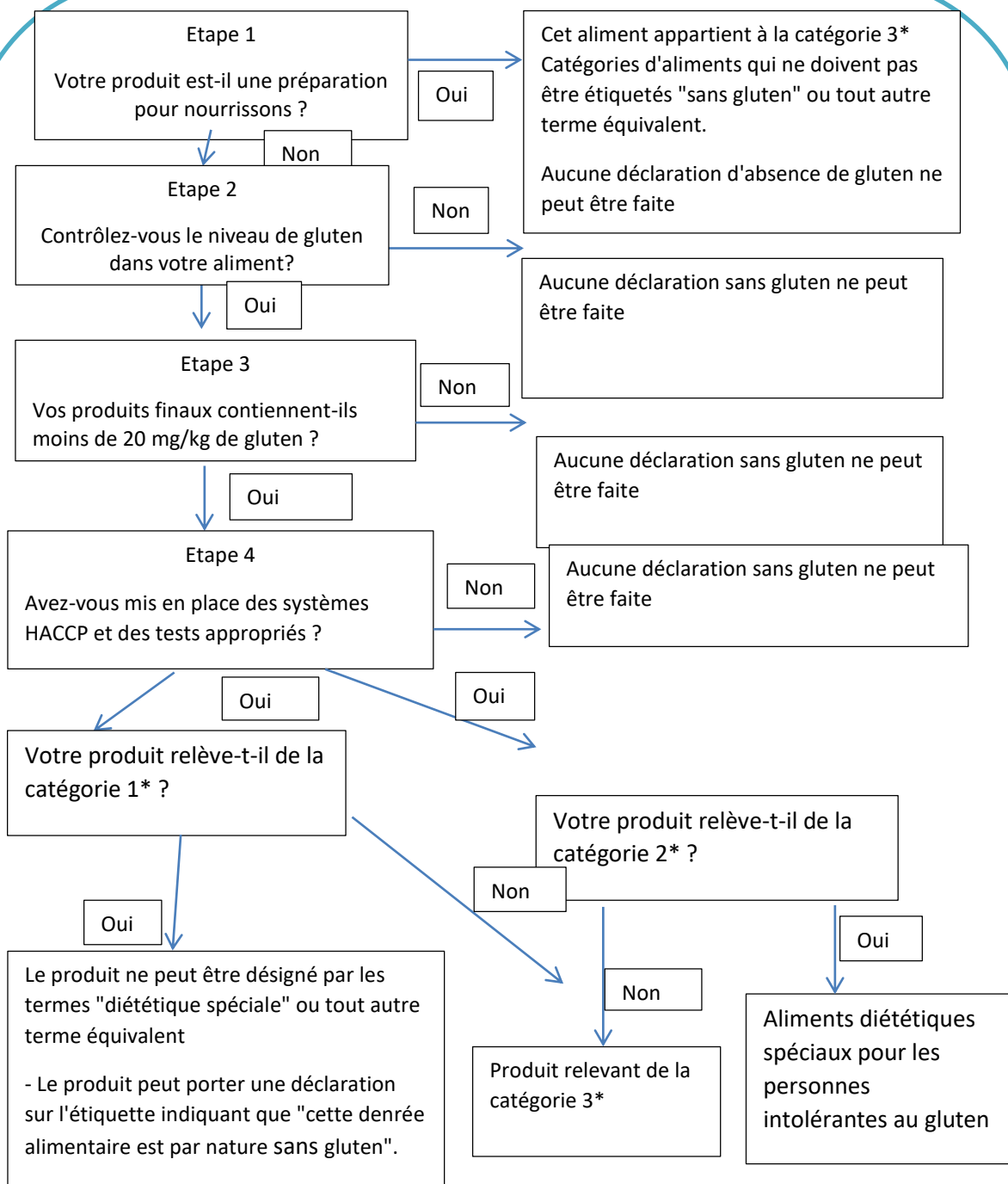
Actuellement, tous les comités s'accordent à dire que les produits peuvent être subdivisés en deux parties par rapport à la teneur en gluten. Les aliments qui contiennent une teneur de gluten comprise entre 20-100 ppm sont considérés comme des aliments à basse teneur de gluten «Low gluten». Alors que ceux qui ont une teneur inférieure à 20 ppm sont considérés comme aliments sans gluten (Brouns et al., 2019). La décision sur le seuil dépend principalement de la dose toxique minimale, et la quantité de produit "sans gluten" consommée (Gibert et al., 2006). Les recherches sur la teneur qui peut déclencher la MC sont diverses. Certains disent que le patient cœliaque peut tolérer jusqu'à 100 mg par/jour (Hischenhuber et al., 2006). Récemment, Elli et al. (2020) ont suggéré qu'un degré de tolérance à la consommation de gluten peut être atteint. Alors que d'autres disent le contraire et que justement 50 mg/jour peut provoquer la MC, ce qui est équivalent à la consommation de 500 g des aliments sans gluten de 20 ppm (Catassi et al., 1993; Catassi et al., 2007). Akobeng & Thomas (2008) ont considéré que 10 mg/jour est capable de déclencher la MC.

### **II.12.2. L'étiquetage des produits agro-alimentaires sans gluten**

Au fil du temps, l'indication des ingrédients constituant l'aliment dans leur étiquetage devient importante. L'étiquetage devient obligatoire lorsqu'un de ses ingrédients appartient à la liste des hypersensibilités établie par la commission de Codex y compris le gluten (EC Regulation, 2011). Cette liste comprend les céréales contenant du gluten, les crustacés, les œufs,

le poisson, les cacahuètes, le lait, les noix et des dérivés (Gendel, 2012). Le développement d'un PSG par les industriels nécessite un processus long et complexe. Lorsque la matière première est exempte de gluten, une attention doit être accordée surtout à la contamination croisée par l'allergène de gluten issue d'autres aliments qui le contiennent. Mais, lorsque la matière première le contient, le processus est délicat. D'une part, il est indiqué d'éviter la contamination croisée par la mise en place du système d'HACCP et d'autre part de substituer le gluten existant dans la matière première par d'autres éléments exempts de gluten. Cela va permettre de produire des PSG respectant le seuil (20 mg/Kg).

Dans ce cadre, l'OMS via le Codex Alimentarius a établi plusieurs normes générales concernant les aliments à usage diététique telles que la norme générale pour l'étiquetage et les allégations concernant les aliments préemballés à usage diététique spécial (CODEX STAN 146-1985). Elle a établi aussi une norme spécifique destinée aux patients cœliaques. Il s'agit de la CODEX STAN 118-1979. Celle-ci révisée en 2008 a établi plusieurs réglementations à propos de la dose de gluten dans les aliments, l'étiquetage de produits sans gluten et les méthodes de détection de gluten dans les aliments. Certaines catégories des denrées alimentaires ne doivent pas strictement porter la notion «sans gluten» sur leurs étiquetages, même si la matière première est exemptée de gluten. Il s'agit des produits alimentaires destinés aux nourrissons selon la norme CODEX STANN 72-1981. Les aliments qui peuvent porter sur leur étiquetage la notion « sans gluten » sont ceux dont la dose est moins de 20 mg/kg de gluten et ceux qui ont été produits en respectant la mise en place de système d'HACCP. La **figure 10** résume l'arbre de décision pour l'étiquetage sans gluten pour les aliments diététiques destinés aux personnes intolérantes au gluten (Guidance on gluten-free labelling, 2020).



**\*Catégorie 1 :**

Les aliments qui ne contiennent pas naturellement de gluten et dont le procédé de fabrication répond aux exigences de l'étiquetage « sans gluten »

**\*Catégorie 2 :**

Aliments dont le procédé de fabrication ne contient pas de gluten et qui répondent aux exigences de l'étiquetage « sans gluten »

**\*Catégorie 3 :**

Catégories de denrées alimentaires qui ne doivent pas être étiquetées sans gluten

**Figure 10 :** Arbre de décision pour l'étiquetage sans gluten basé sur le codex standard 118-1979 pour les aliments diététiques destinés aux personnes intolérantes au gluten (*Guidance on gluten-free labelling, 2020*)

### **II.12.3. Disponibilité et Prix des produits sans gluten**

Plusieurs facteurs incitent les patients cœliaques à consommer les produits agro-alimentaires étiquetés « sans gluten » et développés par les industriels tels que la diversification alimentaire, la supplémentation d'apport en certaines vitamines et minéraux et l'horaire continue de travail. Cependant, les patients cœliaques souffrent de la faible disponibilité et de prix exorbitant de ces produits alimentaires. Lee et al. (2007) ont été parmi les premiers auteurs qui ont déclenché cette problématique. Ils ont remarqué que les patients cœliaques trouvent des difficultés à trouver des PSG. Ceux-ci ont été rarement disponibles dans les sites de vente. Ainsi, ils ont constaté que le suivi d'un RSG nécessite un budget très élevé. Cela est dû essentiellement aux prix exorbitants des PSG. Ceux-ci ont été trois fois plus chers que les produits réguliers équivalents contenant de gluten (Lee et al., 2007). Cette conclusion a été remarquée dans plusieurs autres études faites dans plusieurs pays (Castillo & Rivas, 2008; Singh & Whelan, 2011; Cúneo & Ortega, 2012). Au fil de temps, l'augmentation de la prévalence et de l'incidence de la MC a induit les industriels à augmenter la production des PSG (Cureton & Fasano, 2009; Martinez, 2013; Reilly, 2016). Le chiffre d'affaire a augmenté considérablement. Le marché mondial a été évalué à 14,94 billions de dollars en 2016 et devrait connaître une croissance annuelle de 9,3% entre 2017 et 2025 (Grand View Research, 2017). Après 12 ans, Lee et al. (2019) ont remarqué que malgré cette augmentation de chiffre d'affaire de vente de PSG, leur faible disponibilité et leur prix exorbitant persistent encore (Lee et al. 2019). Les sites de vente en ligne ont permis de résoudre quasiment le problème de disponibilité mais le prix de vente dans ces sites est tellement très exorbitant et quatre fois supérieur que les produits équivalents (Burden et al., 2015).

### **II.12.4. Qualité nutritionnelle des produits sans gluten**

Le suivi de RSG est lié dans plusieurs études à une prise de poids considérable et un développement de l'obésité chez un nombre important d'adultes (Murray et al., 2004; Valletta et al., 2010; Laurikka et al., 2016) d'enfants et d'adolescents (Reilly et al., 2011; Norsa, 2013;

Mazza et al., 2015; Soares et al., 2017; Rodrigues et al., 2018). Cela est dû essentiellement à la qualité nutritionnelle des aliments sans gluten essentiellement les PSG développés par les industriels. Leurs compositions nutritionnelles étaient discutables aussi dans plusieurs recherches. Elle est très importante pour la détermination de l'équilibre nutritionnelle du RSG. Celui-ci doit être équilibré pour récompenser le déficit nutritionnel causé par la destruction des villosités intestinales. Ce régime ne doit pas être l'origine d'un excès d'apport provoquant une obésité. Cela exige que la composition nutritionnelle des PSG soit équilibrée.

L'exclusion de gluten au cours de processus de fabrication de PSG influence sur la teneur des macronutriments et micronutriments. Plusieurs chercheurs ont montré que la teneur en protéines, lipides totaux, lipides saturés, carbohydrates complexes, protéines et fibres, vitamines (vitamines B9, vitamines B12, Vitamines D), minéraux (calcium, fer) et en énergie totales est déséquilibrée (Larretxi et al., 2019; Lionetti et al., 2020). Certains produits contiennent un excès de certains éléments ou un déficit dans d'autres (Saturni et al., 2010; Lamacchia et al., 2013; Zuccotti et al., 2013; Miranda et al., 2014; Salazar Quero et al., 2015; Vici et al., 2016; Allen & Orfila, 2018; Fry et al., 2018). Récemment, Punshon & Jackson (2018) ont recommandé d'utiliser une grande variété de céréales GF au lieu d'un régime à base de riz. Cela va permettre d'une part de réduire l'exposition aux contaminants et d'autre part d'augmenter la teneur en micronutriments. Les recherches dans ce sens ne cessent pas afin de promouvoir la qualité nutritionnelle des PSG (Singh & Kumar, 2018).

#### **II.12.5. Qualité microbiologique des aliments sans gluten**

L'absence des micro-organismes pathogènes dans aliments demeure une nécessité y compris les aliments sans gluten. Une contamination de ces aliments par les agents pathogènes provoque des altérations de système digestif de ces patients cœliaques dont l'état de l'intestin grêle est auparavant défectueux. Ainsi, la manifestation de l'intoxication alimentaire et/ou de la toxi-infection alimentaire sera plus grave chez ces patients. D'où vient la nécessité accordée

à l'étude de la qualité microbiologique de ces aliments utilisés au cours de suivi de RSG. Ces études vont permettre d'une part de poursuivre leur salubrité tout au long de leurs processeurs dès la récolte de la matière première, la fabrication, le transport, le stockage, la manipulation et la consommation. D'autre part, elles vont permettre de mettre en évidence l'efficacité de certaines actions préventives telles que les BPH, BPF et HACCP. Dans ce cadre, il s'avère important de mettre en lumière, les principaux germes pathogènes, les méthodes de recherche et de dénombrement de ces microorganismes, les normes de conformité des denrées alimentaires, les moyens de bonnes conservations et les moyens de prévention contre une infection ou toxi-infection d'origine alimentaire.

#### **II.12.5.1 Germes pathogènes dans les denrées alimentaires**

Tout le monde s'accorde à dire que certains micro-organismes jouent un rôle essentiel dans la fabrication et la production de certains denrées alimentaires. Ces micro-organismes ont un intérêt à travers la fermentation et la contribution au processus d'affinage citant par exemple le fromage et la charcuterie (Chávez et al., 2011). Ils permettent d'une part de prolonger la durée de conservation d'aliments et d'autre part de promouvoir certaines caractéristiques sensorielles telles que la couleur, le goût et l'odeur. Il s'agit par exemple des bactéries lactiques (*Lactococcus lactis*), les micromycètes de fermentation (*Saccharomyces cerevisiae*) ou d'affinage (*Geotrichum candidum*) (Mu et al., 2018; Krasauskas et al., 2015). Cependant, la présence de certains microorganismes dans les aliments constitue un facteur d'altération et provoquent certaines infections d'origine alimentaire et/ou des toxi-infections alimentaires voire même collective (TIAC). Les microorganismes peuvent être des champignons (moisissures et levures) ou des virus.

##### **II.12.5.1.1 Bactéries :**

Les bactéries sont des germes unicellulaires procaryotes les plus fréquentes dans les aliments. Ces derniers sont essentiels pour survivre leur fournissant des nutriments essentiels. Leur croissance est influencée par certaines conditions telles que la température, l'oxygène,

humidité, acidité et la durée d'incubation. Elles peuvent être en forme de coque, bacille ou spiralées. La présence de certaines d'entre elles dans les aliments peuvent nuire leur qualité sanitaire en provoquant ainsi des infections ou des toxi-infections chez les consommateurs. L'incidence de *Clostridium botulinum* est très rare, mais il provoque des cas très grave. Il se développe lorsque le traitement thermique était insuffisant surtout dans les boîtes et bouteilles de conserves des aliments. Alors que la contamination par le *Clostridium perfringens* est due fréquemment par une mauvaise gestion des aliments après cuisson surtout la viande. La consommation des produits laitiers et fromages mal pasteurisés, produits carnés, des légumes et du poisson contaminés par **Listeria monocytogenes** provoque la listériose. Une pasteurisation ou une cuisson adéquate permet d'éviter la yersiniose causée par *Yersinia enterocolytica* fréquemment présente dans les aliments crus tels que le lait, les viandes, les volailles et les coquillages. Une cuisson inadéquate de la viande des volailles peut causer une Campylobactériose provoquée par *Campylobacter jejuni*. Le fromage de chèvre est la source principale de la contamination par *Brucella sp* provoquant la brucellose. La *Salmonella sp* est fréquemment disponible dans la volaille crue, lait cru et les œufs crus provoque la salmonellose. D'autres maladies d'origines alimentaires peuvent apparaître suite à la consommation des aliments infectés par *Shigella sp*, entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, *Shigella sp*, *Vibrios*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli entéropathogène*. En Afrique, les microorganismes les plus fréquemment sont *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* (Paudyal et al., 2017).

#### **II.12.5.1.2 moisissures et levures :**

Les moisissures et les levures sont présents dans le sol, l'air, dans l'eau ainsi que dans les aliments. Les aliments acides ou à faible activité d'eau sont les plus altérés par ces germes. Cette détérioration est provoquée par l'excrétion des mycotoxines. Les mycotoxines les plus répandues causant des problèmes de santé chez les humains sont l'aflatoxine (présent dans les

noix, les arachides et le beurre d'arachide), l'ochratoxine (présent dans les céréales, le café), le désoxynivalénol, la fumonisine et la patuline (Deák, 1991)

#### **II.12.5.1.3 Virus :**

Les virus sont des microorganismes qui possèdent un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN), de petites tailles par rapport aux autres agents biologiques, entouré d'une coquille ou capsid formée par de nombreuses copies d'une protéine ou un nombre limité d'entre elles. Ils ne sont pas encore considérés des êtres vivants comme les autres (bactéries, champignons, levure). Ils ne possèdent pas leur propre système enzymatique qui leur permet de se répliquer et ont ainsi besoin de cellules animales, végétales ou bactériennes pour compléter leur cycle de reproduction. Les maladies d'origine alimentaire causées par les virus sont en augmentation considérable (FAO, 2008). Néanmoins, les Norovirus, l'hépatite A et certains virus entériques sont les plus répandus dans les aliments (Nasheri et al., 2019). Ces virus causent des diarrhées et des gastroentérites. La contamination des aliments par les virus peut arriver à tous les niveaux de la chaîne d'approvisionnement et peut provoquer des épidémies de large ampleur. Le risque de contamination des aliments par le virus SRAS-CoV-2 (virus responsable de COVID-19) est faible et aucune étude jusqu'à présent n'a montré sa virulence à travers les aliments (Li et al., 2021).

#### **II.12.5.2 Méthodes de recherche et de dénombrement des germes dans les aliments**

La recherche et/ou la numération des microorganismes dans les aliments permet de déceler toute non-conformité d'une denrée alimentaire. La confirmation de cette non-conformité nécessite l'utilisation des méthodes fiables, rapides, reproductibles et peu coûteuses. Ces méthodes doivent être validées par des comités nationaux tels que l'Institut Marocain de Normalisation (IMANOR) au Maroc, l'Association Française de Normalisation (AFNOR) ou validé par des comités internationaux tels que l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO). Le développement technologique au fil de temps a permis d'améliorer les méthodes de



détection des microorganismes pathogènes dans les aliments ainsi que d'inventer d'autres nouvelles méthodes (Rajapaksha *et al.*, 2019). Généralement, les chercheurs utilisent des méthodes standard de culture et d'isolement du pathogène, suivis par une confirmation ultérieure par des tests biochimiques et sérologiques. Au fil de temps, la PCR est devenu très répandue (Guy *et al.*, 2014). Néanmoins, cette technique présente certaines limites concernant l'incapacité de différencier entre les cellules viables et non viables (Cangelosi and Meschke, 2014). La méthode de comptage et culture des colonies qui repose directement sur la culture et l'ensemencement des bactéries reste la plus utilisée et le gold standard jusqu'à présent (Rajapaksha *et al.*, 2019). Cependant, ces méthodes nécessitent un personnel bien formé en manipulation et en interprétation des résultats, un laboratoire bien équipé, une quantité suffisante de consommable et assez de temps pour la réalisation des manipulations. Les chercheurs utilisent aussi d'autres méthodes telles que la cytométrie en flux et les biocapteurs optiques (Rajapaksha *et al.*, 2019). L'objectif des contrôles microbiologiques est de vérifier la qualité sanitaire de ces aliments qui peuvent déclencher des maladies infectieuses et des toxico-infections alimentaires. Généralement, les méthodes les plus utilisées en bactériologie sont celles à objectif de dénombrer les germes totaux (flore hétérotrophe aérobie mésophile totale), les germes indicateurs d'une contamination fécale, les germes indicateurs d'une contamination tellurique. D'autres méthodes ont été utilisées afin de rechercher certains germes dangereux tels que *Salmonella*, *Shigella*, *Brucella*, *Yersinia enterocolytica*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sp*, *Vibrio* et *Mycobacterium tuberculosis*. Les techniques de recherches des champignons (levures et moisissures), parasites et virus sont différentes de celles utilisées en microbiologie. Ces différentes techniques vont être détaillées dans la section du matériel et méthodes.

### **II.12.5.3 Conformité de la qualité sanitaire des aliments selon les normes et la catégorie**

La qualité sanitaire des aliments est appréciée selon le type des microorganismes. Pour les agents pathogènes graves, la présence d'une seule colonie dans l'aliment est suffisante pour qu'il soit toxique. Alors que, pour les agents pathogènes moins graves, le nombre de colonie par g ou ml dans l'aliment doit dépasser le seuil de toxicité. Les différentes procédures pour déterminer la qualité microbiologique et sanitaire des aliments vont être détaillées dans la section du matériels et méthodes.

#### **II.12.5.4 Technique de conservation des aliments**

Afin d'éviter le développement des microorganismes dans les aliments, il est nécessaire de les conserver selon des méthodes adéquates. Auparavant, les méthodes traditionnelles telles que le séchage, le fumage, la cuisson et salage à sec ont été utilisées. Au fil de temps, les techniques basées sur l'utilisation d'alcool, de sirops et l'enrobage dans le corps ou le sucre ont été développées. A notre époque, des méthodes modernes ont été développées telles que la conservation par le froid, la pasteurisation, la stérilisation, la lyophilisation et l'ionisation. Ces techniques ont permis de prolonger la durée de vie des aliments et éviter leurs altérations par les microorganismes(Sharif *et al.*, 2017).

#### **II.12.5.5 Moyens de prévention contre les maladies d'origine alimentaire**

Dans l'objectif de prévenir les maladies d'origine alimentaire, il est primordiale de prendre des mesures préventives pour éviter toute contamination au cours de récolte, transport, fabrication, stockage, préparation et/ou consommation. Il s'agit de suivre les étapes suivantes au cours de la manipulation des aliments. D'abord, il faut veiller à respecter les normes de nettoyage en lavant les mains et les aliments. Ensuite, il est nécessaire de séparer les aliments crus et cuits pour éviter la contamination croisée. Puis, il faut bien cuire certains aliments (poulet, poisson et œufs). Enfin, il faut veiller à un refroidissement rapide des aliments et une réfrigération toute de suite des restes (Thobaben, 2010). Ces mesures doivent être respectées au niveau de la main d'œuvre, le milieu de travail, le matériel utilisé, la matière première et la méthode utilisé.

### **III. Qualité de Vie Liée à la Santé et Maladie cœliaque**

#### **III.1. Définition de la Qualité de Vie**

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la QV est définie comme "*La perception qu'a un individu de sa place dans l'existence, dans le contexte de la culture et du système de valeurs dans lesquels il vit, en relation avec ses objectifs, ses attentes, ses normes et ses inquiétudes. Il s'agit d'un large champ conceptuel, englobant de manière complexe la santé physique de la personne, son état psychologique, son niveau d'indépendance, ses relations sociales, ses croyances personnelles et sa relation avec les spécificités de son environnement* » (WHOQOL, 1994). C'est un concept large, subdivisé en quatre dimensions. Il s'agit de l'État physique (autonomie, capacités physiques), les Sensations somatiques (symptômes, conséquence des traumatismes ou des procédures thérapeutiques, douleurs), l'État psychologique (émotivité, anxiété, dépression) et le Statut social (relations sociales et rapport à l'environnement familial, amical ou professionnel) (Rejeski & Mihalko, 2001).

#### **III.2. Définition de la qualité de vie liée à la santé (QVLS)**

La santé est l'un des domaines les plus importants de la qualité de vie mondiale. C'est ce que l'on appelle la qualité de vie liée à la santé (QVLS). Elle est définie comme "*la santé physique et mentale perçue d'un individu ou d'un groupe au fil du temps*" (Moriarty et al., 2003).

#### **III.3. QVLS chez les patients cœliaques**

Pour traiter la MC, les patients cœliaques doivent éviter l'ingestion de tout aliment contenant du gluten. Il s'agit d'un RSG qui reste le seul traitement efficace (Armstrong, 2009). Une bonne guérison nécessite l'adhésion à vie à ce régime en modifiant ainsi les habitudes alimentaires (Samasca et al., 2014; Newnham, 2016). L'adhésion au RSG chez les patients cœliaques a une influence significative sur leur QV (White et al., 2016). D'où vient la nécessité d'évaluer cette QV et de mettre en évidence l'influence de RSG sur son amélioration.

#### **III.4. Outils d'évaluation de la QVLS chez les patients cœliaques**

«Mesurer, c'est affecter un score à un objet. Le processus de mesure requiert donc l'utilisation d'une échelle (ou d'un instrument) de mesure » (Reboul-Marty & Launois). Les instruments

de mesure se présentent, le plus souvent, sous forme de questionnaires. Ces questionnaires peuvent être génériques comme ils peuvent être spécifiques. Les questionnaires génériques sont utilisables pour évaluer aussi bien différents types de populations que différents types de pathologies. Les questionnaires spécifiques, quant à eux, ciblent soit une population précise, soit une pathologie bien définie, soit un symptôme particulier. En outre, le développement d'un instrument permettant la mesure de la qualité de vie des patients suit un processus long et complexe qui nécessite des investigations personnelles et financières très importantes. C'est pour cela plusieurs chercheurs adaptent les instruments développés.

Ainsi, la QVLS chez les cœliaques pourrait être mesurée par des méthodes génériques, comme, elle peut être mesurée par des méthodes spécifiques (Yacavone et al., 2001).

#### **III.4.1. Instruments génériques chez les enfants et adolescents cœliaques**

Dans un premier temps, les chercheurs ont utilisé des instruments génériques pour l'évaluer. L'utilisation de méthodes génériques était une nécessité en raison de l'absence de développement de questionnaires spécifiques à la MC. Certains ont travaillé sur des enfants et des adolescents, d'autres sur des adultes. La version PedQoL a été très utilisée pour les enfants (Biagetti, 2015). Certains l'ont évaluée à travers le questionnaire court néerlandais (DUX-25) (Vogels et al., 1998) ou le questionnaire KIDSCREEN-52 (Barrio et al., 2018). D'autres questionnaires génériques ont été utilisés dans certaines études (Kolsteren et al., 2001; Wagner et al., 2008). Ces instruments génériques peuvent fournir une vision globale de la QV chez les patients atteints de la MC. Cependant, ils ne parviennent pas à explorer les spécificités de cette maladie telles que l'influence des RSG, le prix et la disponibilité des PSG. Dans ce contexte, plusieurs chercheurs ont récemment élaboré des questionnaires spécifiques à la MC. Ceux-ci ont l'avantage d'évaluer l'impact du RSG sur la QV (Wiebe et al., 2003).

#### **III.4.2. Instruments génériques chez les adultes cœliaques**

Chez les adultes, la version abrégée en 36 items (SF-36) a été la plus utilisée (Ware & Sherbourne, 1992). D'autres versions ont été utilisées telles que le PGWB (Dupuy, 1984).

### **III.4.3. Instruments spécifiques chez les enfants et adolescents cœliaques**

Pour évaluer la QVLS chez les enfants et les adolescents cœliaques tout en mettant en évidence des aspects spécifiques du MC, un groupe de chercheurs a développé un instrument avec des questionnaires spécifiques à la MC, appelé **TACQOLCD** (Kolsteren et al., 2001). Il s'agit d'un questionnaire basé sur l'instrument **TACQOL** générique (Verrips et al., 1999). Le même groupe qui a développé le TACQOLCD a mis au point un questionnaire spécifique plus puissant. Il s'agit du **CDDUX** qui a été validé aux Pays-Bas en 2008 (van Doorn et al., 2008). Il contient 12 items subdivisés en 3 dimensions (Régime alimentaire, communication et avoir la MC). Ce questionnaire a été conçu pour une tranche d'âge allant de 8 à 18 ans. Cinq ans plus tard, Jordan et al. (2013) ont développé aux Etats-Unis le questionnaire **CDPQOL**, qui couvre 4 dimensions (Social, incertitude, isolement et limites). Deux versions du questionnaire ont été validées. La première couvre la tranche d'âge de 8 à 12 ans et la seconde couvre la tranche d'âge de 13 à 18 ans. Récemment, un questionnaire ciblant les adolescents et les adultes a été élaboré au Danemark (Skjerning et al., 2017). Trente items spécifiques à la MC ont été validés et regroupés en 8 dimensions pour cet instrument **CQ-QL**. Celui-ci contient des items très spécifiques pour le suivi des patients cœliaques sous RSG. L'élaboration d'un questionnaire spécifique à une maladie telle que la MC nécessite une investigation financière et personnelle importante. C'est pourquoi plusieurs auteurs ont préféré évaluer la QVLS par la traduction et l'adaptation interculturelle de questionnaires déjà validés. La version CD-DUX a été adaptée dans plusieurs études de pays comme l'Espagne (Barrio et al., 2016), le Brésil (Lins et al., 2015) et l'Argentine (Pico et al., 2012).

### **III.4.4. Instruments spécifiques chez les adultes cœliaques**

Winfried Häuser et ses collaborateurs (Huser W et al., 2007) ont été les premiers à élaborer et valider un questionnaire spécifique à la maladie cœliaque pour les adultes. Il s'agit d'un instrument (**CD-Q**) développé en Allemagne en 2007. Le CD-Q comprend 28 items subdivisés en 4 dimensions (Emotion, social, soucis et gastro-intestinal). Le deuxième

instrument (**CD- OL**) a été développé aux États-Unis par Dorn et al. (2009) en 2009. Il comprend 20 items subdivisés en 4 dimensions (Dysphorie, limitations, problèmes de santé et traitement inadéquat). Récemment, en 2018, Croker et al. (2018) ont validé le questionnaire **CD-AQ** comprend 32 items subdivisés en 5 dimensions (Stigmatisation, fardeau alimentaire, symptômes, isolement social et inquiétudes, et préoccupations). Le CD-Q a été traduit et adapté culturellement en Italie, en France, en Turquie, au Brésil, en Pologne et en Iran (Marchese et al., 2013; Pouchot et al., 2014; Aksan et al., 2015; Pratesi et al., 2018; Zysk et al., 2018; Barzegar et al., 2018) respectivement. Cette évaluation de la QV a également été réalisée en Espagne (Casellas et al., 2013), en Italie (Zingone et al., 2013) et en Inde (Deepak et al., 2018) à l'aide de la version adaptée de la CD-QOL.

#### **IV. Techniques d'analyses pour la détection de gluten dans les aliments « sans gluten »**

Parmi les préoccupations est que la teneur en gluten dans les N-ASG et PSG soit vraiment inférieure à 20 mg/kg. Cependant, plusieurs facteurs entravent cet objectif. Il s'agit des contaminations involontaires des produits "sans gluten", l'étiquetage inadéquat et l'omniprésence des protéines de gluten dans les aliments crus ou cuits et les produits pharmaceutiques (Shepherd & Gibson, 2013; Løvik et al., 2017). En effet, les saucisses, les bâtonnets de poisson, les fromages à tartiner, les soupes, les sauces, les assaisonnements mélangés, les viandes hachées, certains médicaments et les compléments alimentaires comme les préparations vitaminées peuvent contenir de gluten caché (Bascunan et al., 2017). La contamination peut être issue de l'utilisation des machines communes pendant la récolte, le transport et la transformation, ou l'utilisation d'un espace de stockage partagé (Allred et al., 2018). C'est pour cela, il est nécessaire d'assurer la conformité de ces produits. Cependant, la norme Codex 118-1979 n'exige pas la manière de vérifier cette conformité. D'où vient le rôle des autorités nationales responsables de secteur alimentaire de contrôler la conformité de ces produits. L'outil le plus efficace pour l'évaluer est de faire des analyses non prévisionnelles sur des échantillons statistiquement suffisants sur les ASG vendus dans les magasins, épiceries, supermarchés, sites de ventes en ligne...etc. Ces analyses doivent être faites même sur les produits étiquetés sans gluten. Selon la revue systématique faite par Falcomer et al. (2018), 23.2% des produits sans gluten étiquetés et non étiquetés étaient contaminés en gluten et dépassant le seuil. La révision en 2008 de la réglementation 118-1979 a permis de diminuer la prévalence des produits contaminés en UE de 55% en 2003-2005 à seulement 19% en 2013-2016 (Bustamante et al., 2017). L'objectif de ces analyses est de déterminer la quantité exacte de gluten existant dans l'aliment analysé. C'est pour cela, il est indiqué de choisir des techniques qui permettent de déterminer une teneur très basse le plus possible. Il s'agit de mettre en évidence les séquences peptidiques de gluten présentes dans les aliments et qui sont toxiques pour les patients cœliaques.

La détection de ces séquences dans un produit développé par les industriels est assez complexe par rapport à la détection dans un aliment naturel. Il existe plusieurs facteurs qui influencent la détection de protéines de gluten dans les PSG. Au cours de la fabrication de ces produits, les protéines subissent plusieurs modifications telles que l'hydrolyse, la désamination et la transamination. Ces modifications jouent des rôles très importants dans la texture, la structure et la saveur du produit fini ; mais elles rendent leurs quantifications assez délicates. L'efficacité d'extraction de gluten à partir de l'aliment et le manque de matériaux de référence sont d'autres facteurs défavorisant la quantification de gluten dans ces aliments. L'hydrolyse est un processus réalisé grâce à l'ajout de l'eau et un acide comme il peut être par des enzymes. Elle permet d'augmenter la solubilité et d'améliorer d'autres caractéristiques des PSG. Cette hydrolyse a l'avantage de diminuer la toxicité vis-à-vis des patients cœliaques (Greco et al., 2011). Mais, elle rend la détection quantitative des fragments peptidiques délicate (Mena et al., 2012). La désamination acide augmente également la solubilité et améliore les propriétés moussantes émulsifiantes ; mais elle diminue l'affinité et la reconnaissance des peptides de gluten par les anticorps utilisés au cours de la quantification par des techniques immunologiques (Kanerva et al., 2011).

Les principales techniques utilisées dans la détection de gluten sont subdivisées en deux. Des techniques immunologiques qui englobent la technique ELISA, la technique de Western blot, les Dispositifs à flux latéral et les biocapteurs. Et, des techniques non-immunologiques dont les quantifications de gluten sont basées sur des techniques protéomiques (MS) et sur l'amplification d'ADN par des réactions en chaîne de la polymérase (PCR) (Rosell et al., 2014; Scherf & Poms, 2016). Il est important de signaler que le Codex Alimentarius Alimentarius exige l'utilisation des techniques immunologiques dont les limites de quantification doit être inférieure à 10 ppm. Il exige plus précisément l'ELISA R5. Cependant, plusieurs autres méthodes ont été utilisées. Mais, ces méthodes doivent être validées et approuvées par certains



organismes tels que AOAC International (Association of Analytical Communities) et AACC International (American Association of Cereal Chemists International).

#### **IV.1. Techniques immunologiques**

La détection de gluten par les techniques immunologiques nécessite un matériel de référence validé et la quantification doit être réalisée après une extraction rigoureuse des molécules de gluten d'une manière pertinente. Le matériel de référence le plus utilisé dans le monde est la PWG-gliadine (Working Group Prolamin Analysis and Toxicity). Celle-ci est obtenue à partir de 28 variétés de blé cultivés dans les pays européens (van Eckert et al., 2006). Cette norme présente certaines limites. D'une part, les céréales contiennent une variété de protéines plus celle existante dans la norme PWG. D'autre part, les produits agro-alimentaires sans gluten développés par les industriels contiennent généralement de gluten hydrolysé et/ou fermenté. C'est dans ce cadre que certains auteurs ont suggéré d'utiliser une norme hydrolysée et combinée à un dosage compétitif (Gessendorfer et al., 2009). Après la détermination de matériel de référence vient une étape très importante. Il s'agit de processus de l'extraction dont l'objectif est d'isoler les molécules de gliadine. Son extraction est assez facile en utilisant l'alcool. Mais, cette extraction est assez délicate dans les produits sans gluten dont les protéines sont hydrolysées. Dans ce cadre, plusieurs cocktails d'extraction ont été élaborés. Méndez et al. (2005) ont développé un cocktail basé sur un mélange de  $\beta$ -mercaptoéthanol, un agent réducteur, et de chlorhydrate de guanidine et un agent de dissociation, dilués dans une solution saline tamponnée au phosphate. Le cocktail UPEX (Universal Prolamin and Glutelin Extractant Solution) a été développé pour l'ELISA compétitive (Mena et al., 2012).

##### **IV.1.1 ELISA (Tests immunologiques liés aux enzymes)**

La technique ELISA est le « gold standard » dans la quantification dans les aliments sans gluten. Elle donne des résultats pertinents. Elle est basée sur l'utilisation des anticorps dirigés contre des épitopes (séquences d'acides aminés) de prolamine. Ces anticorps peuvent

être monoclonaux (Skerrit, R5, G12 et A1) comme ils peuvent être poly clonaux (Moringa) (Scherf & Poms, 2016).

#### **IV.1.1.1. $\omega$ -Gliadine ELISA**

Cette technique est basée sur l'utilisation des anticorps appelés Skerrit qui sont capables de reconnaître spécialement la fraction  $\omega$ -gliadine, HMW gluténines et LMW gluténines. Ces anticorps ont été développés en 1980 par Skerrit Hill et al. (2011). Ils ont permis de réaliser la première méthode d'ELISA sandwich approuvée par l'AOAC en tant qu'une méthode officielle pour l'analyse de gluten même si que la limite de quantification était de 160 ppm (Mena et al., 2012). Même si que cette technique a bénéficié des améliorations successives aboutissant à une diminution de seuil de détection à 5ppm. Cette méthode n'est plus utilisée comme technique recommandée par la réglementation Codex Alimentarius.

#### **IV.1.1.2. ELISA R5**

C'est la technique recommandée et adoptée par le Codex Alimentarius Alimentarius (Codex Alimentarius, 2008) et approuvée par l'AOAC et l'AACCI ( Koehler et al., 2013). A travers cette technique, les responsables peuvent approuver la conformité des ASG mis sur le marché. Elle est basée sur l'utilisation des anticorps appelés R5 développée par Méndez dont l'anticorps cible  $\omega$ -sécalines du seigle,  $\alpha$ - gliadines et les  $\gamma$ -gliadine et les  $\omega$ - gliadines (van Eckert et al., 2010). Selon les aliments sans gluten à analyser, il existe deux types d'ELISA R5. Le premier est appelé ELISA sandwich R5. Celle-ci est la méthode la plus couramment utilisée grâce à sa sensibilité élevée et la capacité de détecter la quantité de gluten à un seuil très bas allant jusqu'à 1,56 ppm (Valdes et al., 2003). Elle est basée sur l'utilisation de deux anticorps qui se lient à des sites différents des épitopes de prolamines immunigènes chez les patients cœliaques (QQPFP, QQQFP, PQPFP, LQPFP, QQPYP, QLPYP). L'un immobilisé sur les parois de la plaque de micro-titration (anticorps de capture) et l'autre couplé à une enzyme (anticorps de détection). Mais cette technique ne donne pas des résultats pertinents pour les

produits dont le gluten est hydrolysé ou fermenté. Dans ce cadre s'insère le développement de la deuxième méthode appelée ELISA compétitive R5. Elle est donc destinée aux produits sans gluten qui ont subi une hydrolyse ou une fermentation de gluten par les industriels (Panda & Garber, 2019). Elle n'est basée que sur l'utilisation des anticorps qui visent un seul épitope. Dans ce système, l'antigène marqué et non marqué est appliqué à des anticorps immobilisés, où ils entrent en compétition pour les sites de fixation des anticorps. Après avoir éliminé l'antigène non lié, la quantité d'antigène marqué est déterminée en ajoutant le substrat enzymatique et en mesurant l'intensité du produit final coloré, qui correspond à la quantité d'antigène marqué. Cette technique a une capacité de détection allant de 0,36 à 1,22 ng/ml de gliadine en utilisant le cocktail d'extraction UPEX. Des études récentes ont développé cette technique compétitive sur la base d'un anticorps appelé G12 (Morón et al., 2008a; Ehern et al., 2009). Cependant, ces deux techniques présentent une limite de détection pour les aliments qui sont traités à chaud dont la conformation de l'antigène est modifiée provoquant des modifications au niveau de site de reconnaissance des anticorps (Scherf & Poms, 2016).

#### **IV.1.1.3. G12 ELISA & A1 ELISA**

La technique G12 ELISA est une technique immunologique qui utilise l'anticorps monoclonal G12. Celui-ci reconnaît les antigènes  $\alpha$  2-gliadine 33 mer dont l'immuno-toxicité a été montrée vis-à-vis des patients cœliaques (de Lourdes Moreno, 2016). Ainsi, il est capable d'attaquer les séquences QPQLPY (blé), QPQQPY (seigle) et QPQLPF (orge) (Kanerva & Päävi, 2011). L'une des caractéristiques importantes de cet anticorps est sa capacité à détecter les séquences peptidiques de certaines variétés de l'avoine susceptibles de déclencher la MC (Hammer & Elisabeth, 2016) et de différencier entre les variétés immuno-toxiques et non immuno-toxiques pour les patients cœliaques (Comino et al., 2011). Cette technique a été approuvée par l'AOAC International et par l'AACCI (American Association of Cereal Chemists International) (Don et al., 2014). Elle a une limite de détection qui peut aller jusqu'à

1ppm. Cependant, elle n'est pas encore adoptée par Codex Alimentarius en tant qu'une méthode alternative d'ELISA R5, même si que certaines études telles que celle d'Hochegger et al. (2015) qui a montré une bonne corrélation entre les résultats d'ELISA R5 et ceux d'ELISA G12. Dans le même cadre de l'utilisation des anticorps monoclonaux, certaines études ont suggéré l'utilisation de l'anticorps A1 (Morón et al., 2008b).

#### **IV.1.1.4. Anticorps polyclonaux**

Sharma et al. (2015) ont montré une bonne corrélation entre la technique ELISA R5 et la technique basée sur l'utilisation des anticorps polyclonaux (Morinaga) pour la détection de gluten dans les aliments naturellement sans gluten et dans les produits sans gluten développés par les industriels. Ceux-ci ont la capacité de détecter une limite de 0,26 ppm. C'est pour cela que cette technique a été recommandée par la FDA comme une technique conjointe avec ELISA R5 pour la quantification de gluten dans les produits sans gluten (FDA, 2013).

Le **tableau 3** résume les kits de détection du gluten couramment disponibles, les anticorps associés, les protéines cibles, les procédures de détection et les systèmes d'extraction (Osorio et al., 2019).

**Tableau 3 : kits de détection du gluten couramment disponibles, anticorps associés, protéines cibles, procédures de détection et des systèmes d'extraction.**

<b>Company</b>	<b>Neogen Corp.</b>	<b>R-Biopharm AG R-</b>	<b>Biopharm AG</b>	<b>Inmunología y Genética Aplicada SA</b>	<b>Romer Labs</b>	<b>Tepnel Biosystem</b>	<b>Morinaga Inc.</b>
<b>Product</b>	Veratox	RIDASCREEN	Ridascreen®Gliadin Competitive	INgezim Gluten	AgraQuant®Gluten G12	Gluten assay	Wheat protein
<b>Antibody</b>	2 mAb	R5 mAb	R5 mAb R5	R5 mAb R5	G12mAb	Skerritt mAb	Wheat pAb
<b>ELISA type</b>	Sandwich	Sandwich	Competitive	Sandwich	Sandwich	Sandwich	Sandwich
<b>Time</b>	30 min	1.5 h	40 min	60 min	60 min	30 min	2.5 h
<b>Target</b>	Gliadin	ω,α/β & γ -gliadins and LMWg	ω,α/β & γ -gliadins and LMWg	ω,α/β & γ -gliadins and LMWg	α - gliadins	ω - gliadins and HMWg	Wheat proteins
<b>Antigen</b>							
<b>LOD (mg/kg)</b>	n/a	3	1.36	3	2	1	0.3
<b>LOQ (mg/kg)</b>	10	5	5	10	4	10	3,12

#### **IV.1.2. Western blot**

Il s'agit d'une technique des immuno-empreintes basée sur le transfert de protéines après leur séparation par électrophorèse SDS-PAGE unidimensionnelle. Le transfert est réalisé à l'aide d'anticorps dirigés contre les parties toxiques des protéines de gluten. Les anticorps utilisés sont divers tels que l'anticorps R5 (Garcia et al., 2005), l'anticorps G12 (Morón et al., 2008a, b). Récemment, une nouvelle approche a été développée pour la quantification du gluten des aliments fermentés et hydrolysés en utilisant des anticorps employés dans l'ELISA compétitive (Panda & Garber, 2019).

#### **IV.1.3. Dispositifs à flux latéral (Lateral Flow Devices) et jauges**

L'application de cette technique est limitée pour la détection quantitative de gluten dans les PSG. Sa capacité est limitée à une détection qualitative et semi-quantitative. Ils utilisent une ligne d'anticorps fixée sur une bande de surface et un second anticorps conjugué avec des particules colorées de taille "nano" (Immer & Haas-Lauterbach, 2010).

#### **IV.1.4. Biocapteurs**

Avec le développement technologique dans le monde entier, plusieurs chercheurs ont inventé des appareils biocapteurs. Ceux-ci sont capables de détecter la présence de gliadines dans les aliments sans gluten. Cependant, ils ne sont pas encore commercialisés. Leur principe est basé sur l'utilisation des anticorps immunologiques (anti-gliadine). Depuis 2008, les recherches impliquées dans ce cadre ne cessent pas (Nassef et al., 2008; Nassef et al., 2009; Chu et al., 2012; Chu et al., 2013; Amaya-Gonzalez et al., 2014). Récemment, une bonne corrélation a été remarquée entre la méthode officielle R5 ELISA et l'aptasenseur. Celui-ci ne nécessite que l'extrait de gliadine, ce qui lui permet d'être une technique rapide et simple pour contrôler la sécurité sanitaire dans les produits alimentaires destinés au régime sans gluten (Malvano et al., 2017).

## **IV.2. Techniques non immunologiques**

Généralement, la quantification de gluten dans les aliments est réalisée par les techniques immunologiques. Mais, plusieurs études l'ont détecté à travers des techniques non immunologiques. Il s'agit des techniques protéomiques et des techniques basées sur l'amplification du génome par une réaction en chaîne de la polymérase (PCR).

### **IV.2.1 Techniques protéomiques :**

L'application des techniques protéomiques est assez complexe de fait que la quantité de gluten dans les ASG est assez faible. Ces techniques sont résumées en extraction des protéines à partir de l'aliment sans gluten, leur séparation, leur analyse et leur identification individuelle. L'extraction est réalisée grâce à des tampons d'extraction qui interrompent les liaisons disulfures. La séparation des peptides (protéines digérés enzymatiquement) par la chromatographie en phase liquide, par la chromatographie en phase liquide à haute performance et par l'électrophorèse (Haraszi et al., 2011). La phase de l'analyse, l'identification et la quantification est réalisée par la spectrométrie de masse (MS). Le premier essai a été faite en 2003. Hernando et al. (2003) ont utilisé la MALDI-TOF MS pour identifier les prolamines toxiques chez les cœliaques. Mais, cette technique était incapable de détecter les protéines hydrolysées. En 2010, Sealey-Voyksner et al. (2010) ont développé une nouvelle approche rafraîchissante qui permet de quantifier le gluten même dans les aliments hydrolysés. Mejías et al. (2014) ont arrivé à déterminer une méthode capable de détecter des niveaux de gluten aussi bas que 0,01 mg/ml dans la protéine et l'hydrolysate de protéine dont la taille varie entre 1 000 et 100 000 Daltons sans besoin de purification chromatographique. Cependant, cette technique de MALDI-TOF MS est assez coûteuse, exige des compétences spécialisées et ne sert que pour des mesures semi-quantitatives (Biswas & Rolain, 2013). D'autres méthodes protéomiques ont été utilisées telles que la méthode LC-MS/MS pour détecter le gluten de blé dans l'avoine et le soja traités à la chymotrypsine et à la trypsine dans des échantillons de farine (Fiedler et al., 2014). Plus récemment, Radman et al. (2018) ont proposé l'utilisation de la spectroscopie

proche infrarouge (NIR) combinée à des techniques chimiométriques pour la détection et la quantification de gluten responsable de la maladie cœliaque.

#### **IV.2.1. Réaction en Chaîne de la Polymérase (PCR)**

C'est une méthode fondée sur l'utilisation du génome de céréales (blé, seigle, l'orge et avoine). Il s'agit d'amplification de fragments d'acide désoxyribonucléique (ADN) en chaîne de la polymérase après son extraction de l'échantillon et la sélection des gènes cibles. La première étude pour une détection qualitative de gluten par PCR dans le blé a été faite en 1993 sur 35 échantillons d'aliments différents montrant un résultat positif pour l'amidon (Allmann et al., 1993). Cinq ans plus tard, une étude sur la contamination de l'avoine par le blé en utilisant la technique PCR qui était dix fois plus sensible que ELISA (Köppel et al., 1998). En 2001, une PCR quantitative et compétitive a été développée permettant de détecter la contamination des aliments par le blé, l'orge et le seigle sur 15 produits sans gluten en donnant des résultats similaires au R5 ELISA (Dahinden et al., 2001). Sandberg, et al. (2003) ont essayé de quantifier la teneur de gluten en blé, seigle, orge et avoine à travers la technique PCR quantitative en temps réel (Q-PCR). Cette étude a encouragé de développer plusieurs études quantitatives après. Il s'agit des études Q-PCR basées sur l'utilisation des sondes (probes) TaqMan® (Hernandez et al., 2005; Ronning et al., 2016 ; Zeltner et al., 2009). Celles-ci -probes TaqMan®- ont l'avantage de produire un signal fluorescent que si elles se sont spécifiquement hybridées avec la séquence d'ADN cible. Ainsi, les dimères d'amorces ou autres produits d'amplification non spécifiques ne produisent pas de signal. Néanmoins, ces systèmes sont moins sensibles que d'autres (par exemple, ceux qui utilisent le colorant fluorescent SYBR Green I) et ne conviennent pas à l'analyse des aliments sans gluten, où même de faibles niveaux de contamination peuvent entraîner de graves problèmes pour les patients atteints de la maladie cœliaque. C'est dans ce cadre Mujico et al. (2011) ont développé et optimisé un système de PCR quantitative en temps réel (Q-PCR). Cette technique est capable de détecter l'effet toxique



de gluten pour les patients cœliaques et les personnes allergiques au blé. Elle est caractérisée par une haute sensibilité et une limite de quantification de gluten qui peut aller à 1,5 mg/kg. Le gluten a été extrait dans cette technique grâce à une méthode basée sur l'utilisation de SDS modifié /Guanidine-HCl/Protéinase K et un colorant fluorescent SYBR Green I. Récemment, Garrido-Maestu et al. (2018) ont publié un article comparant les résultats d'amplification d'ADN par deux différentes techniques. Il s'agit de la PCR en temps réel (qPCR) et amplification isotherme en temps réel à médiation de boucle (qLAMP). Les résultats ont montré que le qPCR s'est avéré globalement plus sensible que le qLAMP. Le développement de cette technique a permis de diversifier les choix des techniques basées sur la PCR surtout qu'elle donne des résultats pertinents et rapides pour les échantillons autres que les semences.

Les détections basées sur l'amplification par l'utilisation de la technique de PCR ont l'avantage de détecter un seuil très bas qui peut aller jusqu'à 0,04 ppm (R-Biopharm, 2020), comme, elles ont l'avantage d'être utilisées pour la détection de la contamination croisée dans l'avoine par le blé (Sandberg et al., 2003). Cependant, ces techniques utilisant la PCR comme moyen de quantification présentent plusieurs inconvénients. D'une part, elles sont plus coûteuses par rapport aux techniques immunologiques (ELISA). D'autre part, le champ des PSG à analyser est limité à des produits non fortement transformés ou hydrolysés. La destruction ou la dégradation de l'ADN dans certains produits empêche son amplification. Ainsi, la quantification et la détection de gluten est impossible & Poms, 2016). Autre inconvénient majeur concerne la méthode utilisée elle-même. Il s'agit d'une détection indirecte de gluten par l'identification du gène qui code la protéine. Ainsi, dans certaines matrices, des résultats faux positifs ou négatifs peuvent être obtenus. Dans certains cas, même en absence de la protéine, l'ADN peut exister dans l'amidon de blé. Le rapport protéine/ADN n'est pas stable, mais varie en fonction de degré d'expression de gènes. Cela peut affecter la corrélation entre l'ADN et la concentration des protéines de gluten (Carmen & Bert, 2012). Aussi, la détection

par PCR est sélective et ne révèle qu'une seule sorte de céréales. En effet, Plusieurs études ont montré une bonne corrélation entre les méthodes de PCR et celles immunologiques (Dahinden et al., 2001; Scharf et al., 2013). Cependant, l'objectif d'utiliser la PCR n'était pas pour substituer les techniques immunologiques telles que ELISA, mais, il s'agit d'une technique complémentaire qui permet surtout de confirmer la présence de certains allergènes "cachés", comme l'amidon de blé dans des denrées alimentaires initialement exemptes de résidus d'allergènes. Le **tableau 4** résume les points forts et les limites de chaque technique immunologiques et non-immunologiques utilisée pour la détection de gluten (Panda & Garber 2019).

**Tableau 4 :** *Points forts et limites des techniques immunologiques et non-immunologiques utilisées pour la détection de gluten (Panda & Garber, 2019):*

<b>Techniques</b>	<b>Points forts</b>	<b>Limites</b>
Sandwich ELISA	-Disponible & Spécifique, Sensible & Robuste -Destinée à l'analyse quantitative du gluten intact	- Ne permet pas la quantification du gluten hydrolysé fermenté
Compétitives ELISA	-Disponible -Destinée à l'analyse quantitative du gluten hydrolysé fermenté	- moins sensible et moins robuste que le test ELISA en sandwich
Immunocapteurs/ Jauges / Dispositifs à flux latéral (LFD)	-Disponible & rapide -Utile pour l'analyse sur place	qualitative ou semi-quantitative
Western blots	-Sépare et détecte les protéines de gluten en fonction de leur taille -Peut être utilisé comme technique de confirmation pour ELISA	- Moins sensible que les ELISA - Non disponible dans le commerce - Nécessite une expertise - qualitative/semi-quantitative

## **V. Pratiques et Connaissances en matière de la Sécurité Sanitaire des Aliments chez les personnels de la santé liée à la nutrition et à la restauration**

### **V.1. Généralités**

La sécurité des aliments est définie comme le degré de confiance dans le fait que les aliments ne causeront aucun tort ou maladie chez les consommateurs (WHO, 2003). Elle englobe toutes les mesures destinées à proposer des aliments aussi sûrs que possible. Autrement dit, qui ne présente aucun risque pour la santé humaine ou animale. L'importance de la sécurité sanitaire des aliments réside dans la prévention de la contamination des aliments qui est responsable de l'apparition des maladies d'origines alimentaires. Celles-ci représentent un problème de santé publique de plus en plus préoccupant dans le monde entier (Morris, 2011). Elles ont un effet sur l'économie et la santé des pays en développement (WHO, 2007). Selon Scharff et al. (2012), les coûts annuels liés à la santé ont été estimés à 51 milliards de dollars ; 77,7 milliards de dollars si l'on tient compte des coûts liés à la perte de QV et à la douleur et à la souffrance. Elles sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité importante (Linscott, 2011). Selon l'OMS (2017), chaque année, près de 600 millions de personnes, soit près de 1 sur 10 dans le monde, tombent malade après avoir consommé des aliments contaminés. Parmi elles, 420 000 en meurent, dont 125 000 enfants de moins de cinq ans (OMS, 2015). Cette situation est causée par des agents pathogènes tels que les bactéries, les virus, les parasites, les toxines, les allergènes, les produits physiques et les produits chimiques. Par conséquent le traitement de ces maladies et la gestion des risques liés à la sécurité sanitaire des aliments auront un impact économique et social énorme sur le pays. Ces maladies peuvent être issues de plusieurs endroits. Selon Pichler et al. (2014), 31% des foyers apparus dans l'Union Européenne étaient liés aux restaurants, cafés, pubs et hôtels, et 17 % étaient liés à la restauration dans les écoles, les jardins d'enfants, les institutions résidentielles, les manifestations de masse temporaires et les cantines de travail. En USA, les maladies d'origine alimentaires sont attribués aux aliments consommés hors du domicile dans des établissements

tels que les restaurants, les établissements institutionnels, les hôpitaux ou les maisons de retraite (Gould et al., 2013). Au Maroc, les intoxications alimentaires constituent le 3ème motif d'appel au Centre Anti-Poison et de Pharmacovigilance du Maroc avec environ 15 % (Rhalem & Soulaymani, 2002). L'estimation était de 67 % des empoisonnements se sont produits à la maison avec les signes cliniques les plus observés étaient principalement des symptômes gastro-intestinaux (76%) (El Bouhali et al., 2014). Ce qui indique la faiblesse des consommateurs en tant que dernier maillon de la chaîne d'approvisionnement alimentaire. D'où, la nécessité de donner une grande importance à la sécurité sanitaire des aliments. D'une part, le contrôle de la qualité des aliments est assuré par les autorités. D'autre part, la sensibilisation des manipulateurs des aliments en matière de sécurité sanitaires des aliments demeure primordiale pour éviter les maladies d'origines alimentaires. Celles peuvent se développer suite à une consommation volontaire d'un aliment ou d'un ingrédient alimentaires. Certaines d'autres se développent suite à une consommation involontaire d'un aliment contaminé par un agent pathogène. Parmi les dangers qui ont connu un développement inquiétant, on trouve les allergènes (gluten, galactose, ...etc). Le risque de ces substances varie entre des légers symptômes à des symptômes très graves et voire même mortels. Pour prévenir ce danger, la réglementation marocaine a obligé la mention au niveau de l'étiquetage du nom de tout ingrédient ou auxiliaire technologique susceptible de provoquer une allergie tel que les 14 allergènes (ONSSA, 2013).

C'est dans ce cadre, les pays développés ont mis en place des systèmes de contrôle alimentaire puissant tel que celui de la ferme à la fourchette "farm-to-fork" en Europe (EFSA, 2011) et celui de la ferme à la table "farm-to-table" dans le continent d'Amérique (Sewell & Farber, 2001) pour éviter la contamination des aliments. Cependant, des contaminations peuvent y arriver à travers des maillons faibles "weak link" ce qui provoque une augmentation de taux de mortalité et morbidité (Lazou et al., 2012). Ainsi, dans l'objectif de présenter un

produit en toute sécurité par les fabricants ou les distributeurs, plusieurs normes ont été établies. Il s'agit des normes qui visent à respecter les bonnes pratiques de fabrication (BPF). D'une part, ces normes visent à respecter la réglementation spécifique à un produit surtout ceux destinés à des fins médicales tels que les aliments à destination diététique (CODEX STAN 146- 1985). D'autre part, des normes qui visent à respecter les exigences en matière de mise en place d'un système puissant de gestion de risque. Il s'agit de système d'analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise, en abrégé système d'HACCP. Le système HACCP se traduit par une analyse des dangers (agent biologique, chimique ou physique contenu ou lié à l'aliment qui peut potentiellement avoir un effet néfaste sur la santé) et des points critiques pour leurs maîtrises qui a pour objectif de garantir la maîtrise du risque sanitaire via l'atteinte et la recherche permanente de l'innocuité et de la salubrité des aliments. Le système HACCP peut être appliqué d'un bout à l'autre de la chaîne alimentaire, depuis le stade de la production primaire jusqu'à celui de la consommation. Sa mise en application doit être guidée par des preuves scientifiques de risques pour la santé humaine. En plus d'accroître la sécurité des aliments. La mise en place de l'HACCP peut apporter d'importants autres avantages. En outre, l'application du système HACCP peut aider les autorités responsables de la réglementation dans leur tâche d'inspection et favoriser le commerce international en renforçant la confiance dans la sécurité des aliments. Pour l'élaboration d'un système HACCP, la méthode établie et recommandée) compte douze étapes (ou phases). Les cinq premières sont appelées « étapes préliminaires », alors que les étapes suivantes correspondent aux sept « principes HACCP » (Trafiałek et al., 2015).

Au Maroc, la sécurité sanitaire des aliments est une question importante. Dans ce cadre, le Maroc a créé un établissement public qui vise à contrôler la fabrication des aliments en toute sécurité. Il s'agit de l'Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires (ONSSA) dont la mission principale est d'assurer la sécurité sanitaire des aliments. Cet Office a été créé

par la loi n° 25-08 et qui a défini ses missions et son domaine d'intervention (Article 2 de la loi n° 25-08). La création de l'ONSSA vient dans le cadre d'une nouvelle vision de garantie de sécurité sanitaire des produits alimentaires qui est basée essentiellement sur la maîtrise des conditions d'hygiène du respect des bonnes pratiques sanitaires au sein des établissements du secteur alimentaire. Pour cela, l'ONSSA possède un arsenal juridique composé de plus de 280 textes législatifs et réglementaires en vigueur. Parmi les outils exigés par la réglementation, la mise en place un programme d'autocontrôle conforme à la norme marocaine « NM 08.0.002 : système de management HACCP–Exigences » ou tout système équivalent pour les établissements soumis à l'agrément sanitaire (ONSSA, 2010)

En outre, la sécurité des aliments inclue aussi le comportement des manipulateurs et consommateurs vis-à-vis des aliments. D'où vient la nécessité de l'évaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaires des aliments chez les manipulateurs marocains pour éviter les maladies liées à l'alimentation.

## **V.2. Connaissances et pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments par les manipulateurs et les consommateurs**

Les responsables de secteur alimentaire ont établi plusieurs normes afin que les produits arrivent en toute sécurité aux consommateurs. Cependant, les manipulateurs et les consommateurs eux-mêmes peuvent être une source de contamination (Oliveira et al. 2014). Dans ce cadre, il est important de mettre en place des actions préventives efficaces contre la contamination issue des manipulateurs dans les services de restauration, y compris des formations continues pour les manipulateurs où à travers des conseils par les médecins et les diététiciens (Farage al., 2017). Ainsi, au cours de la manipulation des aliments, plusieurs normes et exigences doivent être respectées. La bonne manipulation des aliments par les consommateurs joue un rôle très important dans la prévention des maladies d'origines alimentaires. Elle permet d'éviter la contamination des aliments par les agents pathogènes. Prenant l'exemple de consommation des ASG au cours de suivi de RSG prescrit aux patients

cœliaques, une contamination par des microorganismes ou une contamination croisée par l'allergène de gluten peut se faire lors de la manipulation de ces aliments. Même si le patient cœliaque reçoit un aliment sain et sûrement sans gluten, mais, ce patient doit respecter les mesures d'hygiène au cours de sa manipulation pour éviter la contamination croisée par l'allergène de gluten. Cette contamination peut être secondaire à cause d'un mauvais stockage et/ou mauvaise cuisson par les matériels utilisés pour d'autres aliments qui contiennent le gluten. La contamination accidentelle du gluten dans les repas traditionnels des services de restauration a été prouvée en Brésil (Farage et al., 2019). La mise en place du système d'HACCP pour réduire le risque de contamination par le gluten dans un établissement de restauration est indiquée (Petruzzelli et al., 2014). Selon Silvester et al. (2016), le niveau de connaissance à propos de RSG chez les patients cœliaques est assez médiocre. Ce qui influence directement la consommation de ces patients. Dans ce cadre, plusieurs études ont été réalisées chez les manipulateurs et les consommateurs afin d'évaluer leurs connaissances et leurs pratiques vis-à-vis des aliments. Il s'agit d'évaluer leurs comportements au cours de la réception, du stockage et de la cuisson.

Les manipulateurs d'aliments sont l'un des principaux intervenants en matière de sécurité des aliments pour éviter de contaminer les aliments (Campos et al., 2014). Les données sur les maladies d'origine alimentaire déclarées suggèrent qu'une proportion importante a été attribuée à une mauvaise manipulation des aliments (Redmond et Griffith, 2003). Des foyers de toxi-infection alimentaire dans les ménages ont été signalés dans le monde entier, et la prévalence est très variable d'un pays à l'autre. Par exemple, en Australie et en Nouvelle-Zélande, 20 à 50 % des maladies d'origine alimentaire ont été attribuées à la maison (Redmond & Griffith, 2009). Dans l'Union européenne, 36 % des foyers de toxi-infection alimentaire étaient dus à une mauvaise manipulation des aliments. Dans les pays européens, comparativement à 21 % dans les restaurants, cafés et hôtels ; et 6 % dans les jardins d'enfants

et les écoles (EFSA, 2011). Aux Etats-Unis, 21% des foyers étaient dus à des aliments consommés au niveau national (CDC, 2013).

La connaissance en soi ne suffit pas à générer des pratiques positives puisque le lien entre la pratique et la connaissance a été influencée par d'autres variables. Cependant, il y a des études qui s'entendent généralement sur le fait que les manipulateurs d'aliments doivent avoir des connaissances acceptables pour éviter la contamination dans les foyers (Meysenburg et al., 2014). Un manque de connaissances sur la sécurité des aliments et la mauvaise manipulation des aliments dans les ménages constituent un obstacle à la pratique de la manipulation des aliments par les personnes qui y sont chargées (Meysenburg et al., 2014). Par exemple, en Nouvelle-Zélande, l'absence de l'accompagnement pendant la préparation des aliments domestiques peut être la cause de la campylobactériose (Al-Sakkaf, 2012).

Comprendre le niveau réel des manipulateurs d'aliments est le point de départ pour améliorer les connaissances sur la manipulation des aliments par le biais de programmes éducatifs et des formations. Dans ce cadre, plusieurs chercheurs ont développé ou adapté des questionnaires spécifiques à chaque endroit dont l'objectif principal était l'évaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez différentes catégories. Il s'agit des questionnaires destinés aux étudiants universitaires (Unklesbay et al., 1998; Byrd-Bredbenner, 2007; Osaili et al., 2011), aux personnels des services alimentaires dans les hôpitaux (Angelillo et al., 2001; Buccheri et al., 2007; Chen et al., 2020; Alqurashi et al., 2019), aux manipulateurs et manipulatrices dans les ménages (Nurhan Unusan, 2005; Rossi et al., 2016) et aux personnels des restaurants des hôtels (Rebouças et al., 2016).

La majorité des résultats obtenus ont montré que les connaissances et les pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments sont limitées (Hassan et al., 2014). Ce qui implique la nécessité de diffuser l'éducation en sécurité des aliments pour améliorer le niveau de connaissance et de pratiques dans ce sens. Ces formations doivent viser tous les manipulateurs



des aliments y inclus les étudiants universitaires, les élèves de collèges, les manipulateurs dans les ménages, les personnels des restaurants des hôtels et les personnels des services alimentaires dans les hôpitaux (Hassan et al., 2014). D'après une méta-analyse réalisé par Soon & Baines (2012), la formation en matière de sécurité alimentaire accroît les connaissances et améliore les attitudes concernant les pratiques d'hygiène des mains et que la formation de recyclage et l'accent mis de manière récurrente sur les bons comportements en matière de manipulation des aliments peuvent avoir des effets positifs permanents sur les pratiques de lavage des mains des personnes manipulant les aliments. Une autre méta-analyse réalisée par Young et al. (2017) sur des recherches contrôlées a confirmé que l'éducation à la sécurité alimentaire a des effets significatifs sur l'amélioration des niveaux de connaissances et des pratiques dans ce sens. Cependant, d'autres recherches sur des cohortes transversales sont indiquées pour savoir l'effet des connaissances et les pratiques avant et après la formation. Celle-ci peut être réalisée à travers des formations continues dans les endroits ciblés par des personnes qualifiées. Le rôle des réseaux sociaux est tellement important à notre époque dans ce sens sans oublier bien sur la possibilité de l'insertion de la sécurité sanitaire des aliments dans le programme scolaire et universitaire. Elles peuvent être aussi réalisées à travers les masses médias (télévision, radio et journal). Au Maroc, aucune étude n'a été réalisée dans ce cadre, permettant ainsi d'évaluer le niveau de connaissance et de pratique en matière de sécurité sanitaire chez les personnels de la santé liés à l'alimentation et à la nutrition.

**SUJETS,  
MATERIELS  
&  
METHODES**

Ces travaux ont été réalisés entre 2017 et 2022 dans différents Lieux (Laboratoires, Institution, Association...) :

- ✚ **Laboratoire de Science et Technologies de la Santé (STS)-I3S ;**
- ✚ **Service de pédiatrie B de CHU Mohamed VI de Marrakech ;**
- ✚ **Service de Gastro-entérologie de CHU de Marrakech ;**
- ✚ **Unité diététique au CHU Med VI de Marrakech ;**
- ✚ **Laboratoire d'immunologie de CHU Med VI de Marrakech ;**
- ✚ **Laboratoire de Microbiologie de CHU Med VI de Marrakech ;**
- ✚ **Centre de recherche clinique du CHU Med VI de Marrakech**
- ✚ **Laboratoire d'Épidémiologie et d'Hygiène du Milieu de Marrakech ;**
  - **Les services liés à la diététique et à la nutrition au CHU Med VI de Marrakech (Service de restauration, Service d'hygiène)**
- ✓ **Association Marocaine de l'Intolérants Au Gluten (AMDIAG)**
- ✓ **Association BASMA Nationale des Maladies Cœliaques et Allergiques Au Blé**

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'efficacité de RSG sur l'état nutritionnel et la QV des patients cœliaques, d'estimer la disponibilité, le prix, la qualité nutritionnelle, la qualité microbiologique et la teneur en gliadine des ASG, d'évaluer les connaissances et les pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez les personnels de la santé. Cela montre que la présente étude va être réalisée sur trois catégories d'échantillonnage. La première étude va être réalisée sur des patients marocains atteints de la MC (enfants, adolescents et adultes), la deuxième va être effectuée sur des aliments sans gluten disponible au Maroc (aliments naturellement sans gluten, produits agro-alimentaires étiquetés sans gluten et repas sans gluten dans les services de restauration) et la troisième va être destinée aux personnels de la santé qui ont en contact avec la restauration et la nutrition.

## **I. Impact du RSG sur l'état nutritionnel et QV chez les patients cœliaques**

L'évaluation de l'état nutritionnel est réalisée sur un échantillon constitué d'une cohorte d'enfants et adolescents cœliaques. L'évaluation de la QV est réalisée sur un échantillon d'enfants, adolescents et adultes cœliaque.

### **I.1. Impact de régime sans gluten sur l'état nutritionnel des patients cœliaques**

L'évaluation de l'état nutritionnel chez les enfants et adolescents cœliaques a été faite dès le diagnostic de la maladie avant de commencer le régime et au cours de suivi du RSG. L'état nutritionnel des enfants et des adolescents a été évalué à l'aide des indicateurs anthropométriques. Les mesures anthropométriques des enfants ont été prises suivant les normes standard de l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1995; WHO, 1986). L'association de mesures anthropométriques a permis d'avoir les indices anthropométriques notamment la taille pour âge, le poids pour âge et l'indice de masse corporelle (IMC). Celui-ci est calculé et exprimé en  $\text{kg}/\text{m}^2$ . L'OMS conseille d'utiliser les scores d'écart type des valeurs de ces indices (z-scores) parce qu'il tient mieux compte de la dispersion observée dans la population de référence (OMS, 1995). Le z-score rend compte de la différence entre la mesure observée et la valeur médiane établie pour la population de référence, cette différence étant exprimée en prenant comme unité de mesure l'écart type de la distribution. Dans la présente étude, les courbes de référence utilisées sont les courbes de l'OMS. Il y a les standards de l'OMS recouvrant la tranche d'âge de la naissance à 5 ans (WHO, 2019 a), et des références de l'OMS recouvrant les âges de 5 à 19 ans (WHO, 2019 b). Le logiciel Anthro Plus (Version 10.4, 2010) était un outil d'aide pour le calcul de Z-scores (WHO, 2019 c). Ce calcul a permis de déterminer l'état nutritionnel. Les indicateurs adoptés pour l'insuffisance staturale, l'insuffisance pondérale et la maigreur, sont définis respectivement comme  $< -2$  cote z de la taille pour âge, poids pour âge et de l'indice de masse corporelle (BMI) pour âge ; tandis que ceux qui se situent à moins de 3 z scores en dessous de la médiane sont considérés sévèrement malnutris. L'indicateur du risque de surpoids est indiqué comme  $> +1$  cote z et  $\leq +2$  cote z; et celui

de l'obésité est précisé comme  $> +2$  cote z (OMS, 1983; WHO, 1978). Ces z-scores sont déterminés d'abord une fois la MC a été confirmée. Autrement dit, avant de lancer le GFD. Ces z-scores sont re-déterminées encore une fois après le suivi du RSG. Le **tableau 5** montre l'interprétation de l'état nutritionnel selon les indicateurs de l'état statur pondéral chez les enfants en se basant sur les z-scores. Ce tableau montre aussi l'interprétation de l'état nutritionnel en fonction des valeurs des z-scores pour la taille/âge, poids/âge et l'Indice de Masse Corporelle.

**Tableau 5 :** *Interprétation de l'état nutritionnel selon les indicateurs de l'état statur pondéral chez enfants en se basant sur les z-scores*

	Indicateurs de l'état statur pondéral							
	Taille/âge		Poids/âge		Indice de Masse Corporelle			
	<-2 cote Z	-2 cote Z= $\leq$	<-2 cote Z	-2 cote Z= $\leq$	<-2 cote Z	[-2 cote Z ; +1 cote Z[	[+1 cote Z; +2 cote Z[	+2 cote Z <
Etat nutritionnel	Insuffisance staturale	Stature Normale	Insuffisance pondérale	Poids normal	Maigreur	Normal	Risque de surpoids	Obésité

La cote Z ou Z- score d'un paramètre est la valeur  $(X - \mu) / \sigma$ , X la valeur du paramètre,  $\mu$  la moyenne du paramètre dans une population de référence et  $\sigma$  l'écart type

## I.2. Validation des questionnaires spécifiques à la MC pour l'évaluation de QV et l'impact de RSG

Au cours de la présente étude, nous allons valider et adopter deux instruments spécifiques selon la méthodologie détaillée ci-dessous. Le premier instrument est destiné aux enfants et adolescents cœliaques (8-18 ans) et leurs proxys (parents ou gardiens). Il s'agit de l'instrument **CDDUX** qui a été validé aux Pays-Bas en 2008 (van Doorn et al., 2008) qui contient 12 items subdivisés en 3 dimensions (Régime alimentaire, communication et avoir la MC). Le deuxième instrument est destiné aux adultes cœliaques (supérieur à 18 ans). Il s'agit de l'instrument **CD-Q** développé en Allemagne en 2007 (Haûser et al., 2007) qui comprend 28 items subdivisés en 4 dimensions (Emotion, social, soucis et gastro-intestinal).

### **I.2.1. Etapes de traduction, adaptation culturelle**

Dans ces étapes, le questionnaire de la version originale va être traduit vers la nouvelle langue. Les items et les dimensions vont subir des modifications liées à la culture, la langue et le contexte, même avec la possibilité d'apporter les modifications nécessaires à certains éléments, au besoin, pour maintenir le même concept. A la fin, une version traduite et adaptée équivalente à celle originale est mise en évidence.

### **II.2.2. Etapes de validation**

Le processus de validation d'un questionnaire passe par plusieurs étapes. Il s'agit d'abord, d'étudier l'acceptation, l'effet de plafond et l'effet de plancher. Ensuite, de mesurer la fiabilité. Puis, de vérifier la validité. Et enfin, d'appliquer la version traduite sur la population visée pour calculer les scores.

#### **II.2.2.1. L'acceptation, l'effet de plafond et l'effet de plancher**

L'acceptation, l'effet de plafond et l'effet de plancher fournissent le taux de réponse des participants. Leurs évaluations se font en fonction de la proportion d'éléments manquants ou non valides, des scores les plus bas et les plus élevés, respectivement.

#### **II.2.2.2. la fiabilité (cohérence interne et reproductibilité)**

Elle permet d'estimer dans quelle mesure le questionnaire fournit des résultats cohérents. Elle est évaluée par le calcul de la cohérence interne et de la reproductibilité (Hays et al., 1993). La première est estimée par le calcul de la valeur de  $\alpha$  Cronbach. Cette valeur doit être supérieure à 0.7 pour qu'elle soit acceptable (Nunnally & Bernstein, 1978). La seconde est réalisée en administrant le même questionnaire aux mêmes personnes après un certain temps. Elle est appelée test-retest. L'objectif de ce dernier est de vérifier si les patients ont répondu de la même manière lors de deux administrations successives. Elle est estimée en calculant un coefficient de corrélation intra-classe (ICC) dont la valeur doit être supérieure à 0,40 pour qu'il soit acceptable (Auquier & Robitail, 2001). D'autres l'ont estimé à travers le coefficient de corrélation  $r$  ou  $k$  de Cohen.

### **I.2.2.3. la validité (validité structurelle, validité convergente et validité discriminante)**

La validité est la mesure dans laquelle un instrument mesure ce qu'il a l'intention de mesurer (Alonso et al., 1990). Elle est vérifiée par la validité structurelle, la validité convergente et la validité discriminante. La première confirme les items ou les dimensions déterminées dans l'échelle originale. Statistiquement, elle est vérifiée par l'indice d'ajustement normalisé (NFI), l'indice d'ajustement comparatif (CFI) et le Chi-deux. La seconde est utilisée pour valider les questionnaires spécifiques aux maladies. Les chercheurs ont utilisé des questionnaires génériques qui ont déjà été validés pour comparer les scores de réponse entre les méthodes spécifiques et génériques. La troisième est utilisée pour comparer les scores des items selon des sous-groupes prédéfinis. Cela permet de déterminer les facteurs qui influencent la QV. La comparaison entre le groupe sous GFD et celui qui ne suivait pas ce régime est la plus importante.

### **I.2.2.4. la sensibilité au changement**

Ce critère est utilisé dans certaines études. L'objectif de son utilisation est de vérifier la faisabilité au fil du temps d'une version lorsqu'elle va être appliquée dans le même pays avec la version originale ou traduite après un intervalle de temps. Pico & Spirito (2014) ont étudié la sensibilité de changement lorsqu'ils ont voulu d'étudier la QV chez les patients cœliaques sur la base d'un questionnaire déjà validé et adapté (Pico & Spirito, 2009).

### **I.2.3. Calcul des scores**

Le calcul des scores est réalisé grâce à l'échelle de Likert. Chaque question « item » est notée de 1 à 3 ou à 7 (dépend du nombre des réponses sur l'item). Prenons l'exemple de cas de questionnaires à 7 choix. Le nombre 1 correspond à la réponse « jamais » et le nombre 7 correspond à la réponse « toujours ». Les scores des dimensions sont calculés en additionnant les scores des questions dans chaque dimension et en convertissant ce score en une mesure de 0 à 100, où 0 indique la plus mauvaise qualité de vie et 100 la plus haute qualité de vie. Les notes des questions sont inversées par la suite. Par exemple, les questions codées "1" sont

recodées en "7", les questions codées "2" sont recodées en "6" et ainsi de suite. La formule suivante montre la manière de calcul des scores :

Score de la dimension = (((Somme des scores pour toutes les questions de la dimension) - score de la dimension le plus bas possible) / fourchette de scores de la dimension) \* 100.

Le calcul de l'indice total est réalisable selon la formule suivante :

Score total de l'indice = (Somme des scores des dimensions) / 7

#### **I.2.4. Scores Enfant/proxy**

Les versions destinées aux enfants sont accompagnées par des versions proxy destinées aux parents ou aux tuteurs. D'une part, le fait que les parents ou les tuteurs remplissent ces questionnaires par procuration permet de voir comment ils perçoivent la qualité de vie ressentie par leurs enfants. D'autre part, pour savoir si l'on peut utiliser le point de vue des parents ou des tuteurs pour évaluer la qualité de vie de leurs enfants (Theunissen et al., 1998).

#### **I.2.5. Validation de questionnaire à travers l'instrument générique**

La validation de la présente spécifique version a été faite par un instrument générique. Il s'agit de Medical Outcome Study-Short Form-36 (MOS SF-36 ou SF-36) (Grawitz, 1993). Celui-ci a été validé en langue arabe (Sabbah et al., 2003) et utilisé dans certaines études au Maroc (El Emrani

et al., 2016 ; Khoudri et al., 2007). Le SF-36 est le « *gold standard* » des instruments générique le plus utilisé. Il a été développé par Ware et Sherbourne en 1992 aux États-Unis (Grawitz, 1993). Il est composé de 36 items subdivisé en huit dimensions (fonctionnement physique, rôle physique, douleur corporelle, santé générale, vitalité, fonctionnement social, santé mentale et rôle émotionnel). Les scores de chaque item varient entre 0 et 100 points. Un score totale élevé reflète une qualité de vie une HRQoL élevée, alors qu'une score totale très bas indique une HRQoL est médiocre. Deux scores résumés (État de santé physique (PCS) et État de santé mentale (MCS)) sont aussi calculés. La validité convergente entre les dimensions de CQ-Q et



les dimensions de SF-36 a été évaluée à l'aide de corrélation de Pearson ( $r > 0.4$ ) (Gandek & Ware, 1998).

### **I.2.6. Application de la version Marocaine de CD-Questionnaire adaptée**

La version finale Arabe Marocaine de CD-Questionnaire a été destinée aux enfants et adultes cœliaques. Le temps de réponse dépend de questionnaire à remplir. Des éclaircissements ont été donnés pour expliquer l'objectif de cette étude et pour surmonter toute ambiguïté.

## **II. Disponibilité, Prix, Qualité nutritionnelle, Qualité microbiologique, Teneur en gliadine des aliments sans gluten**

Au cours du présent chapitre, les études vont être faites sur des aliments sans gluten. Cet échantillonnage est constitué d'aliments subdivisés en produits agro-alimentaires (PSG) étiquetés sans gluten développé par les industriels, en aliments naturellement sans gluten (N-ASG) et en repas sans gluten servis dans la restauration ou à domicile.

### **II. 1. Disponibilité, prix et qualité nutritionnelle des aliments sans gluten**

L'objectif de cette étude est d'une part, d'examiner la disponibilité, le prix et la composition nutritionnelle des PSG et d'autre part, de les comparer à leurs équivalents des produits contenant du gluten (PCG). La méthodologie suivie a été utilisée dans plusieurs études (Singh & Whelan, 2011; Burden et al., 2015). Cette enquête transversale est menée dans les supermarchés et sur les sites de vente de produits alimentaires en ligne. L'échantillonnage était constitué de PSG et de leurs équivalents contenant de gluten (PCG). Ces produits doivent être emballés et étiquetés en conséquence. L'étiquetage contiendra toutes les informations nécessaires que nous devons traiter dans notre étude. Dans le cadre de l'étude, une autorisation de visite a été accordée par un membre du personnel de chacun des lieux visités. Les données collectées contiennent le nom du producteur, le nom du produit, le prix, le poids net et la composition nutritionnelle (protéines énergétiques totales, glucides, sucres, matières grasses totales, graisses saturées et sels, vitamines et oligo-éléments). Les causes de l'exclusion de certains aliments sont, d'une part, dues à l'existence de plusieurs marques pour un même produit,

de sorte que nous avons exclu les plus chers, et d'autre part, nous avons choisi qu'un seul produit si le même produit existe sous différentes formes de poids. D'autre part, critères liées aux aliments dont l'étiquetage comportait des informations incomplètes sur la composition nutritionnelle.

Une recherche approfondie sur le moteur de recherche Google (basé au Maroc) est effectuée pour localiser les centres de vente et les sites web de vente des aliments sans gluten (ASG) y compris les produits sans gluten (PSG). D'autres locaux sont déterminés par le biais des entretiens avec des patients atteints de la maladie cœliaques, d'autres par l'association marocaine de l'intolérance et des allergies au gluten (AMDIAG) et par l'association nationale des maladies cœliaques et des allergies au blé (BASMA). Ainsi, des supermarchés et les détaillants en ligne ont été identifiés. Des supermarchés de Casablanca et de Marrakech ont été sélectionnés pour cette étude. Il convient toutefois de mentionner que certains supermarchés ont été exclus de l'enquête parce que les consommateurs atteints de la maladie cœliaques ont des difficultés à y accéder. Par ailleurs, plusieurs sites web ont été identifiés, mais ont été exclus par la suite. La principale raison de cette exclusion est le nombre limité de PSG en vente, car cela dépend énormément de la zone de distribution couverte par le site web. Il est à noter que les frais de distribution ne sont pas inclus dans le prix enregistré.

Au Maroc, il n'existe pas de loi régissant le regroupement des aliments. Ainsi, le regroupement des produits a été fait en fonction de la catégorie alimentaire de la GSFA's du Codex Alimentarius (FAO, Codex Alimentarius Commission, 2019). Plusieurs conditions ont été appliquées lors de la sélection des échantillons de produits. De plus, nous avons dû comparer les PSG à leurs homologues PCG, principalement pour savoir si elles présentent ou non les mêmes caractéristiques. En ce qui concerne le regroupement, les PSG sont regroupés en six catégories. La même approche est appliquée lors de la division des PCG équivalents en 6 catégories.

### **II.1.1. Disponibilité et calcul des coûts**

La méthodologie de calcul de la disponibilité des PSG a suivi la méthode utilisée par plusieurs études (Singh & Whelan, 2011; Burden et al., 2015) :

**Produit :** *Taux de disponibilité par produit* = (nombre de PSG disponibles par supermarché/ total des PSG disponibles dans tous les magasins sur lesquels porte cette étude)\*100 ;

**et Catégorie :** *Taux de disponibilité par catégorie* = (nombre de catégories avec au moins une PSG disponible dans un seul magasin/ total des catégories de produits alimentaires)\*100

L'évaluation des prix de chaque produit a été faite en choisissant le prix le plus bas pour chaque PSG et son homologue PCG. Le prix de tous les produits alimentaires est indiqué en monnaie locale marocaine MAD (Dirham marocain), puis converti en monnaie de l'Union européenne € (Euro). Ainsi, le prix est affiché en €/100g.

### **II.1.2. Teneur nutritionnelle**

Le profil nutritionnel a été estimé à partir des valeurs nutritionnelles indiquées sur l'emballage. Il s'agit de documenter les valeurs nutritionnelles qui figuraient sur les étiquettes des produits sans gluten. Ensuite, une comparaison de ces valeurs avec leurs équivalents dans les produits ordinaires a été effectuée. Ces produits contenant du gluten et sans gluten indiquent sur leur étiquette la teneur énergétique totale (Kcal/100g), le total des glucides (g/100g), les glucides simples (g/100g), les protéines (g/100g), les lipides totaux (g/100g), les graisses saturées (g/100g), les fibres (g/100g) et le sel (g/100g). Certains micronutriments ont été inclus même si les données n'étaient pas suffisamment disponibles, comme le cholestérol, le potassium et le calcium. Ils ont été exprimés en mg/100g.

### **II.2. Qualité microbiologique des aliments sans gluten**

Les méthodes utilisées au cours de la présente étude sont des méthodes validées par l'Institut Marocain de Normalisation (IMANOR) et exigées par l'Office Nationale de la Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires(ONSSA)(Normes marocaines, 2019). Ces méthodes sont issues de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) ou de

l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO). La numération au cours de la présente étude a été réalisée sur un milieu solide. Il s'agit d'ensemencer l'échantillon microbien en masse ou en surface d'un milieu de gélosé. Le dénombrement est réalisé par le calcul de nombre d'unité formant la colonie (UFC). Cette étude a été menée au niveau du laboratoire d'épidémiologie et de hygiène du milieu du Marrakech.

### **II.2.1. préparation de l'échantillon alimentaire**

Il s'agit de diluer 25 g de l'échantillon dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée préalablement stérilisée pour la préparation de la solution mère (dilution de  $10^{-1}$ ), les sachets soumis ensuite à une agitation dans un stomacher afin d'assurer la dispersion des germes. A partir de cette solution mère, des dilutions décimales ont été réalisées.

### **II.2.2. Méthodes de recherche et de dénombrement**

#### **II.2.2.1 Dénombrement des germes totaux**

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale s'est réalisé selon la norme marocaine **NM.08.0.121**. Cette norme correspond à la norme **ISO 4833**(ISO, 2003). Il s'agit de d'ensemencer 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales en profondeur sur le milieu PCA (Plate Count Agar). L'inoculum et la gélose se mélange en effectuant un mouvement circulaire. L'incubation se fait à 30°C pendant 24 h.

#### **II.2.2.2. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux**

Il est réalisé selon la **NM 08.0.115** issue de la norme **ISO 4832**(ISO, 2006). À partir de chaque dilution décimale et à l'aide d'une pipette stérile, on dépose 2 fois 1 ml dans deux boîtes de pétri vides préparées à cet usage et identifiées selon les échantillons. Ensuite, on ajoute dans chaque boîte de pétri 10 à 15 ml de gélose au Désoxycholate Lactose ou milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) fondue puis refroidie à  $45\pm 1^\circ\text{C}$ . Ces boîtes inoculées ont soumis à une légère agitation pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée. Une série de boîtes va être incubée à 30°C, pendant 24h et servira à la numération des

coliformes totaux. L'autre série va être incubée à 44°C pendant 24h et servira à la numération des coliformes fécaux.

#### **II.2.2.3. Recherche et numération des anaérobies sulfito-réducteurs (*Clostridium*)**

Ils sont réalisés selon la **NM 08.0.125** issue de la norme **ISO 15213**(ISO 15213, 2003). On aensemencé 1 ml de la dilution mère et dilutions dans des tubes contenant 20 ml du milieu gélosé de Sulfite Polymyxine Sulfadiazine (SPS), fondue puis refroidie à 45±1°C. L'inoculum et le milieu de culture se mélange doucement, sans faire de bulle pour ne pas provoquer une oxygénation du milieu, par un mouvement de rotation du poignet. Les tubes incubés à 44°C, pendant 24 h.

#### **II.2.2.4. Recherche et dénombrement de *Clostridium perfringens***

Ils sont réalisés selon la **NM 08.0.105** issue de la norme **ISO 7937**(ISO 7937, 2004). Onensemencé 1 ml de la dilution sur la gélose Tryptose Sulfite Cyclosérine (TSC) a été incubée à 37 ° C pendant 24 à 48 h avec stries ultérieures de colonies suspectes sur du milieu de croissance bactérienne Blood Agar incubé à 37 ° C pendant 24 h.

#### **II.2.2.5. Recherche et numération de *Staphylococcus aureus***

Ils sont réalisés selon la **NM 08.0.151** issue de la norme **ISO 6888**(ISO 6888, 1999). Il s'effectue en 3 étapes. D'abord, l'**Isolement**, se fait par l'étalement de 0.1ml de la solution mère à la surface du milieu Baird Parker d'une façon homogène, puis incubation à 37°C pendant 24h à 48 heures. Ensuite, l'enrichissement dans laquelle les colonies noires, brillantes, convexes et entourées d'une zone d'éclaircissement (colonies suspects) vont être inoculées dans le bouillon BHI et incubées à 37°C pendant 24 heures. Enfin, la **confirmation** dans laquelle un volume de 0, 3 ml de la culture bouillon s'additionne à 0,3 ml du plasma de lapin, les tubes ensuite incubés à 37°C pendant 24 h. La coagulation du plasma signifie la présence de *Staphylococcus aureus*.

#### **II. 2.2.6. Recherche de *Salmonella***

Elle est réalisée selon la **NM 08.0.116** issue de la norme **ISO 6579**(ISO 6579, 2017). Elle s'effectue en quatre étapes. D'abord, le **pré-enrichissement** par l'incubation de la solution

mère pendant 18 h à 24h à 36°C. Ensuite, l'**enrichissement** par l'ajout de 0,1 ml du milieu pré-enrichi dans des tubes contenant 10 ml de bouillon de Rappaport de Vassiliadis, suivi de l'incubation à 42°C pendant 18 à 24 heures. Puis, l'**isolement** par épuisement réalisé sur le milieu Hektoen avec incubation à 37° pendant 24h. Les Salmonella apparaissent sous forme de colonies verdâtre ou verdâtre avec centre noirâtre. Les isolats suspects, ont les repiques sur gélose nutritive inclinée, en vue de leur identification. Enfin, l'**identification biochimique** à travers une galerie classique est réalisée par la fermentation du lactose, du glucose, production d'H<sub>2</sub>S et de gaz, le test de l'ONPG (ortho-Nitrophenyl-β-galactoside) pour la recherche de l'enzyme β-galactosidase, test de l'oxydase, et le test Urée-Indole.

#### **II.2.2.7. Recherche de *Listeria monocytogenes***

Elle est réalisée selon la **NM 08.0.110** issue de la norme **ISO 11290**(ISO 11290, 2017). Les étapes de pré-enrichissement, l'enrichissement, et l'isolement sont les mêmes que celles de *Salmonella*. Cependant, l'**identification biochimique** de galerie classique est réalisée à travers le test d'hémolyse basée sur l'utilisation de la gélose au sang de cheval.

#### **II.2.2.9. Numération des Levures et Moisissures**

Il se fait selon la **NM 08.0.123** issue d'**ISO 21527**(ISO 21527-2, 2008). Il s'agit d'étaler 0,1 ml de la solution mère et dilutions à la surface de boîtes de milieu Sabouraud, puis incubation à 37°C pendant 24h.

#### **II.2.3. Interprétation des résultats**

L'interprétation des résultats de la présente étude est faite selon l'arrêté Marocain n°293-19 qui fixe la liste et les limites des critères microbiologiques autorisées dans les produits primaires et les produits alimentaires (Arrêté n°293-19, 2019). La qualité sanitaire des aliments est appréciée selon le type des microorganismes. Pour les agents pathogènes graves, la présence d'une seule colonie dans l'aliment est suffisante pour qu'il soit toxique. Il suffit d'identifier la présence de ces germes extrêmement pathogènes tels que salmonella, Yersinia, *Brucella*, *Listeria*, *salmonella* pour que l'aliment soit non-conforme. Alors que, pour les agents

pathogènes moins graves, le nombre de colonies par g ou ml dans l'aliment doit dépasser le seuil de toxicité (S). Ce cas correspond à une étude quantitative de certaines flores par un dénombrement de la flore aérobie mésophile, des anaérobies sulfite-réducteurs, des germes fécaux ou telluriques, des levures et des moisissures, etc.... Ainsi, si le nombre de bactéries dans les aliments dépasse la flore normale et correspond à la flore contaminante, l'aliment est considéré comme toxique et non conforme. Généralement, les microbiologistes utilisent le plan à 3 classes ou le plan à 2 classes pour l'interprétation des résultats (Hildebrandt, Böhmer and Dahms, 1995). Ce dernier est basé sur la fixation d'une valeur limite **m** au-dessus de laquelle l'aliment est considéré **inacceptable** (valeur  $\geq m$ ), et **acceptable** lorsque cette valeur est au-dessous de **m** (valeur  $\leq m$ ). Lorsqu'il s'agit d'une recherche orientée dont l'objectif est de confirmer la présence ou l'absence de germes pathogènes graves, la valeur de **m** est égale à 0 ( $m=0$ ). Le plan à trois classes permet d'ajouter une catégorie entre le fait d'accepter ou de ne pas accepter l'aliment. Il s'agit **d'accepter l'aliment mais avec une limite S** de toxicité. Au cours de l'interprétation de ces plans (plan à deux classes et à trois classes), il est important de prendre en considération le nombre (**n**) d'échantillons à analyser (généralement 5) et le nombre d'échantillons tolérés au-delà de la valeur seuil (**c**). Au Maroc, l'arrêté n°293-19 donne plus de détails à propos de ces critères (Arrêté n°293-19, 2019).

### **II.3. Teneur en gliadine dans les aliments sans gluten**

L'objectif de la présente étude est de rechercher la conformité des aliments sans gluten en teneur de gliadine par rapport au seuil fixé par le Codex Alimentarius (20 mg/kg). Celui-ci considère que chaque aliment contenant plus de 20 mg/kg de gliadine ne peut pas être considéré comme aliment sans gluten et les industriels ne doivent pas l'étiqueter en tant que « gluten-free ». Pour quantifier cette teneur dans les aliments disponibles au Maroc, nous avons utilisé la technique immunologique ELISA étant le « gold standard » dans la quantification des ASG.

### **II.3.1 Principe du test ELISA R5 sandwich Gliadin**

La base du test est la réaction antigène-anticorps. Les puits des bandes de microlitres sont recouverts d'anticorps R5 spécifiques contre les gliadines. En ajoutant la solution standard ou d'échantillon dans les puits, la gliadine présente se liera aux anticorps de capture spécifiques. Le résultat est un complexe anticorps-antigène. Les composants non liés à la gliadine sont ensuite éliminés lors d'une étape de lavage. Ensuite, on ajoute un anticorps R5 conjugué à la peroxydase. Ce conjugué est lié au complexe Ab-Ag. Un complexe anticorps-antigène-anticorps (sandwich) est alors formé. Tout conjugué non lié est ensuite éliminé lors d'une étape de lavage. Le substrat enzymatique et le chromogène sont ajoutés aux puits et incubés. Le conjugué lié convertit le chromogène incolore en un produit bleu. L'ajout de la solution d'arrêt entraîne un changement de couleur du bleu au jaune. La mesure est effectuée par photométrie à 450 nm. L'absorbance est proportionnelle à la concentration en gliadine de l'échantillon.

### **II.3.2. Préparation des échantillons et extraction de Gluten**

#### **II.3.2.1. Précautions à prendre**

Cette étude a été menée au niveau du laboratoire d'immunologie au CHU Mohamed VI du Marrakech.

Au cours de la réalisation des manipulations, nous avons respecté les règles suivantes :

- Le port des gants était nécessaire pour éviter la contamination par le gliadine issue de la poussière de céréales en suspension dans l'air et les équipements de laboratoire sales.
- Nettoyage des surfaces, des flacons de verre, des hachoirs et autres équipements avec de l'éthanol.
- Préparation des échantillons dans une salle isolée de la procédure ELISA.
- Vérification de la contamination des réactifs et des équipements par la gliadine à l'aide des bandelettes réactives RIDA QUICK Gliadin (R7003/R7098) .
- Le travail est réalisé sous une hotte chimique, en raison de la présence de B- mercapto-éthanol dans le Cocktail d'extraction (R7016).



### **II.3.2.2. Préparation des échantillons**

Tous les échantillons ont reçu un code de laboratoire unique et leurs détails (y compris la marque, le type d'aliment, etc.) vont être enregistrés sur une feuille Excel. Cinq grammes de chaque échantillon ont été homogénéisés et broyés dans un mélangeur de laboratoire (produits alimentaires solides). À chaque fois, après le broyage d'un échantillon particulier, des parties du mélangeur ont été retirées et lavées avec un détergent à base d'enzymes alcalines, puis rincées avec de l'éthanol à 70 % et séchées avant de traiter un autre échantillon. Les échantillons homogénéisés étaient stockés dans des tubes stériles.

### **II.3.2.2. Extraction au moyen du Cocktail (breveté) (R7006/ R7016)**

Pour réaliser l'extraction de gluten, nous avons ajouté 2,5 ml du Cocktail à 0.25 g de l'échantillon préparé et homogénéisé. Dans le cas des aliments à base d'avoine, l'extraction est basée sur l'homogénéisation de 200 g de l'aliment, puis l'extraction avec au moins quatre fois la quantité de réactifs. Il s'agit de prendre 1 g de l'échantillon homogénéisé et ajoutez 10 ml du Cocktail. La solution préparée doit être bien mélangée et incubée pendant 40 min à 50°C. Ensuite, on laisse refroidir l'échantillon et le mélange avec 7,5 ml d'éthanol à 80%, et pour les échantillons d'avoine, on ajoute 30 ml d'éthanol à 80%. Puis, on ferme le flacon et le secoue pendant 1 h à l'aide d'un rotateur à température ambiante (20-25°C). Enfin, on réalise la centrifugation de 2500 pendant 0=10 min à température ambiante. Une dilution de 1 :12.5 est indiquée avec l'utilisation immédiate de 100 µl par puits dans l'essai.

### **III.3.3. La réalisation des tests**

#### **III.3.3.1. Préparation des tests**

On a amené tous les réactifs à température ambiante (20-25°C) avant chaque utilisation. On fait des dilutions adéquates selon l'instruction de fabricant pour le tampon (1 :5), le conjugué (1 :11) et le tampon de lavage (1 :10). Après la dilution, on dissout les cristaux éventuellement formés en incubant le tampon dans un bain-marie à 37°C.

#### **III.3.3.2. Procédure de test**

On réalise un lavage régulier des micropuits sans les laisser sécher, puis on procède aux étapes suivantes :

1- On insère un nombre suffisant de puits dans le support de micropuits pour que tous les étalons et échantillons soient analysés en double. On enregistre les positions des étalons et des échantillons.

2- On ajoute 100 µl de chaque solution ou échantillon standard pour séparer les puits en double et incubé pendant 30 minutes à température ambiante (20-25°C).

3- On verse le liquide hors des puits et on tapote vigoureusement (trois fois) le support de micropuits à l'envers contre du papier absorbant pour assurer l'élimination complète du liquide des puits. On remplit tous les puits avec 250 µl de tampon de lavage dilué et verse à nouveau le liquide. On répète l'opération deux autres fois.

4- On ajoute 100 µl du conjugué dilué dans chaque puits et on incubé pendant 30 minutes à température ambiante (20-25°C).

5- On verse le liquide hors des puits et on tapote vigoureusement (trois fois de suite) le support de micropuits à l'envers contre du papier absorbant pour assurer l'élimination complète du liquide des puits. On remplit ensuite tous les puits avec 250 µl de tampon de lavage dilué et on verse à nouveau le liquide. On répète l'opération deux autres fois.

6- On ajoute 50 µl de substrat et 50 µl de chromogène dans chaque puits. On mélange ensuite doucement en agitant la plaque manuellement et on incubé pendant 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité.

7- On ajoute 100 µl de la solution d'arrêt à chaque puits. Ensuite, on mélange doucement en agitant la plaque manuellement et mesure l'absorbance à 450 nm. Puis, on lit la valeur dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de la solution d'arrêt.

### **III.3.4. Lecture des résultats**

La concentration de gliadine en ng/ml (ppb) est lue à partir de la courbe d'étalonnage et doit être multipliée par le facteur de dilution d'au moins 500. Ce résultat est ensuite multiplié

par 2 afin d'obtenir la concentration de gluten (la gliadine représente 50% des protéines présentes dans le gluten). Prenant un exemple que la valeur d'absorbance d'un échantillon correspond à 10 ng/ml de gliadine dans la courbe d'étalonnage. En multipliant par le facteur de dilution recommandé 500, on obtient 5000 ng/ml, ce qui correspond à 5mg/kg (ppm) de gliadine, respectivement 0,0005% de gliadine. Pour calculer la teneur en gluten, il est nécessaire de multiplier par le facteur 2, ce qui donne 10 mg/kg de gluten, soit 0,001 % de gluten. Cet échantillon est considéré comme exempt de gluten, car la concentration est inférieure à 20 mg/kg.

### **III. Evaluation des connaissances et des pratiques en matière de sécurité sanitaire des aliments chez les personnels de la santé impliqués dans la nutrition et à la restauration.**

#### ***III.1. Sujets***

La population étudiée au cours de la présente recherche est composée des personnes affectées dans les services de restauration au sein de l'hôpital et des personnels liés au service de nutrition et diététique. Il s'agit des médecins nutritionnistes, diététiciens, responsable de l'hygiène, cuisiniers et ouvriers de la restauration hospitalières. Chaque service a été informé de l'objectif et de la portée de l'étude. Certains d'entre eux ont répondu avec la méthode d'auto-administration, alors que certains d'autres eux ont répondu au questionnaire par la méthode d'interview face-à-face (analphabète). Cette étude a été menée au niveau du CHU Mohamed VI du Marrakech (personnels de la santé et de la cuisine de l'hôpital).

#### **III.2. Questionnaire**

Les personnels liés au service alimentaire et diététique à l'hôpital (médecins nutritionnistes, diététiciens, responsable de l'hygiène, cuisiniers et ouvriers de restauration hospitalière) ont été invité à remplir un questionnaire subdivisé en trois axes. Le premier concerne les données socio-économiques y inclut sexe, âge, milieu d'habitat, niveau intellectuel et couverture sociale médicale. Cet axe est précédé par une introduction générale qui explique l'objectif de l'étude et le respect de l'anonymat. Le deuxième axe est issu d'un questionnaire

développé et validé déjà et utilisé dans des études antérieures (Angelillo et al., 2001; Buccheri et al., 2007; Chen et al., 2020; Alqurashi et al., 2019). Il est composé de 50 questions dont la thématique est sécurité sanitaire des aliments. Il est subdivisé en trois catégories. i) la connaissance en agents pathogènes d'origine alimentaire et maladies qui y sont liés (15 questions), ii) l'attitude envers la sécurité sanitaire des aliments (15 questions), iii) la pratique de la manipulation des aliments (20 questions). Le troisième axe inclut 3 questions dont l'objectif est l'évaluation de connaissance de ces participants sur l'HACCP. Toutes les questions sur les connaissances et l'attitude ont été notées sur une échelle de cinq points (1 à 5) avec des options de tout à fait d'accord, d'accord, pas sûr, pas d'accord ou pas du tout d'accord. Mais les questions sur la pratique ont été notées sur une échelle de cinq points (1 à 5) avec des options de toujours, la plupart du temps, parfois, rarement ou jamais. La direction de l'échelle était (5 à 1) et inversée à (1 à 5) pour certaines questions afin de vérifier la validité des réponses. Pour la classification dichotomique, les scores inférieurs à 3 ont été classés comme une réponse négative, (répondre mal) tandis que les scores 3 et 4 ont été classés comme une réponse positive (répondre correctement). Le questionnaire indique clairement aux participants que les informations ne seront utilisées qu'à des fins scientifiques.

# RESULTATS

## **CHAPITRE 1 :**

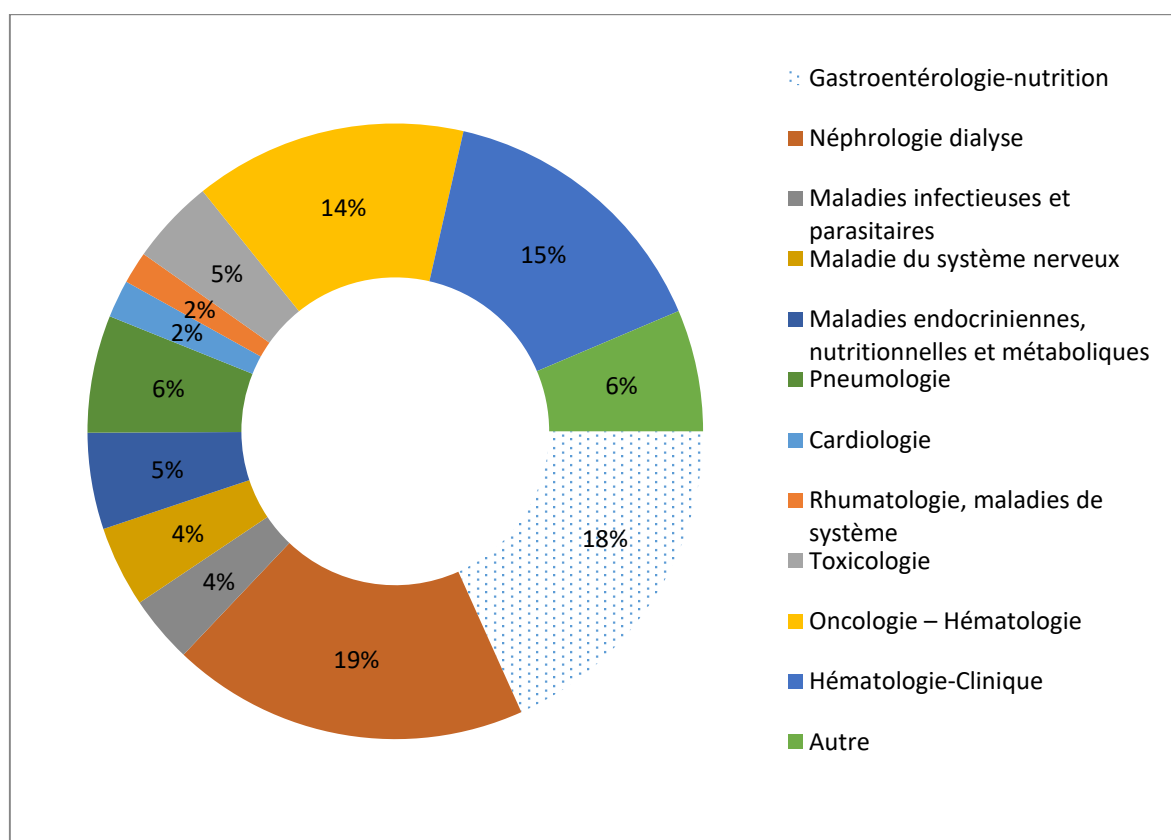
**A/Epidémiologie de la MC au Maroc**

**B/Impact du RSG sur L'Etat Nutritionnel**

# **A/ Epidémiologie et Incidence de la Maladie Cœliaque au Maroc**

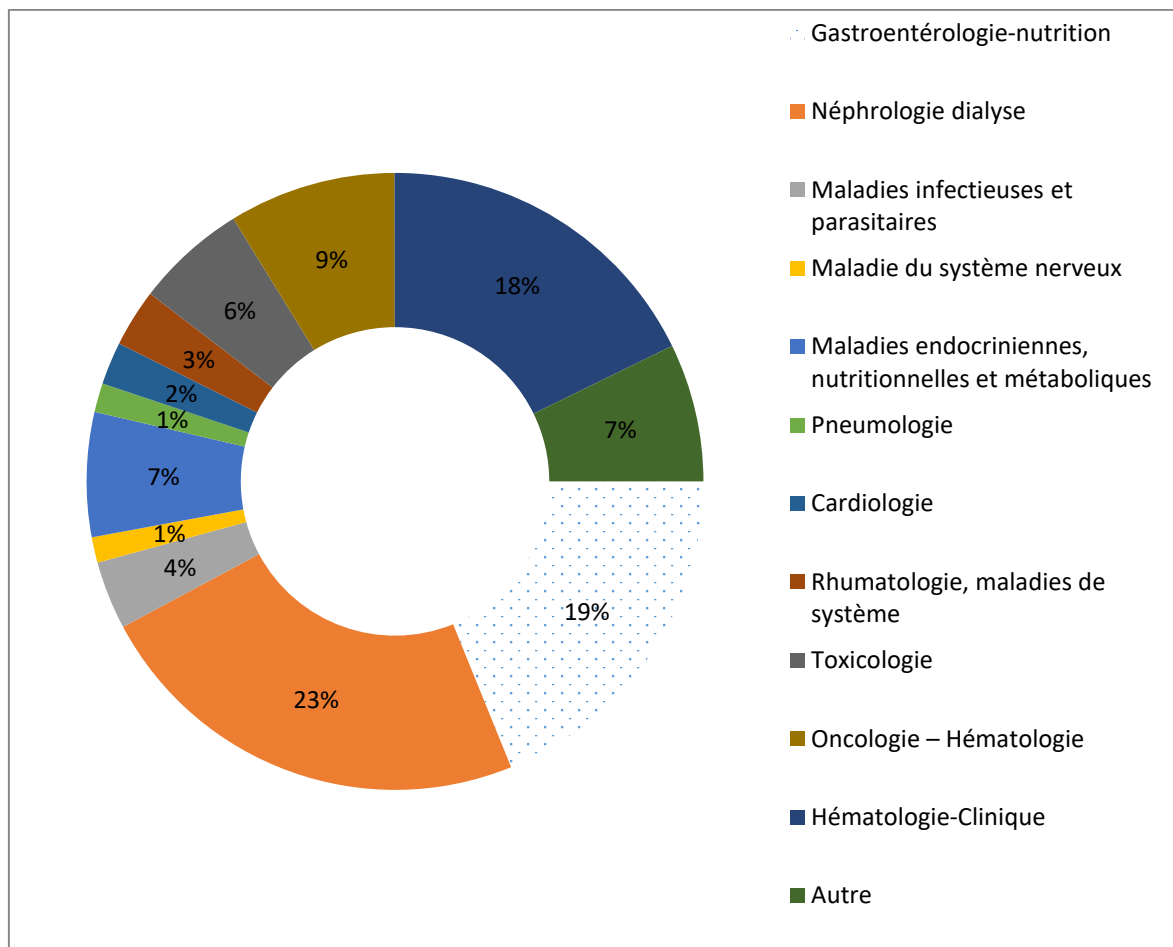
## A/ Epidémiologie et Incidence de la maladie cœliaque au Maroc

L'étude a été réalisée au sein de service de pédiatrie B et à l'unité de diététique à l'hôpital Mère et Enfant au CHU Med VI de Marrakech. Le nombre de patients consultés et hospitalisés au cours de ces dernières années a été étudié. Les maladies liées à la nutrition et à l'alimentation sont en augmentation considérable au Maroc. Les **figures 11 et 12** montrent que l'estimation de ces maladies constitue 23% et 25% au cours de l'année 2018 et 2019 respectivement du nombre total de tous les malades. Cela montre que le quart des enfants peuvent souffrir d'une maladie liée à l'alimentation. Les pathologies de la gastro-entérologie et nutrition représentent 18% et 19 en 2018 et en 2019 respectivement. Parmi ces maladies liées à la gastro-entérologie et nutrition citant la MC.



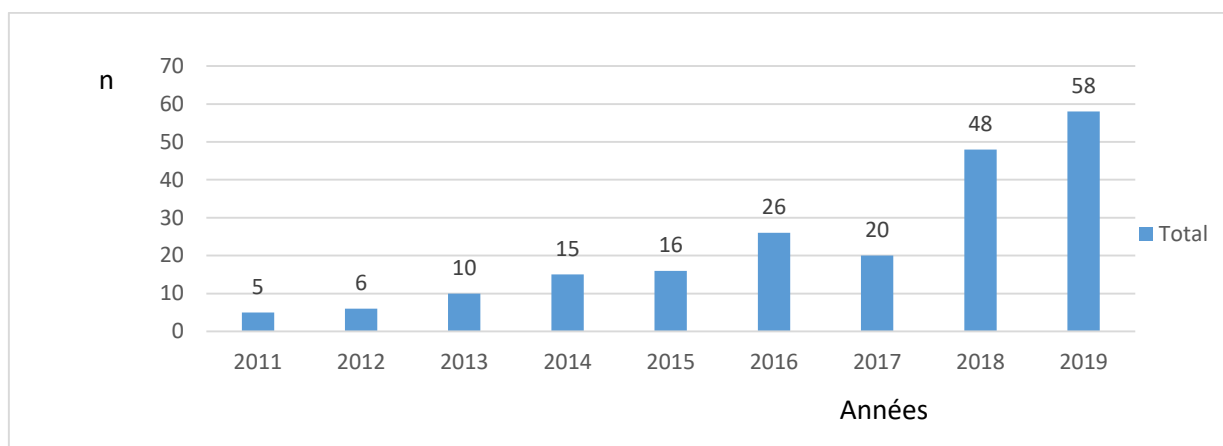
**Figure 11** Pourcentage des pathologies chez les enfants au niveau de CHU de Marrakech -Année 2018





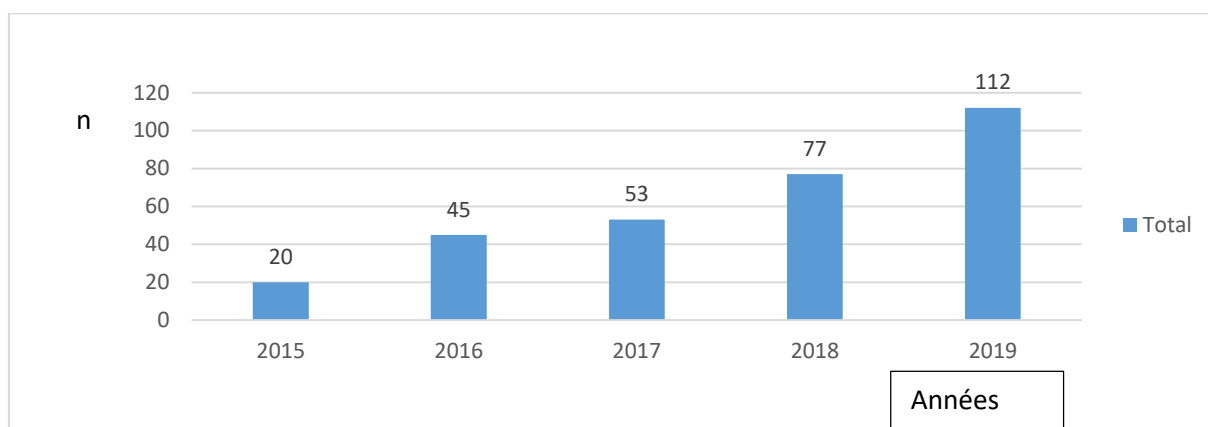
**Figure 12** Pourcentage des pathologies chez les enfants au niveau de CHU de Marrakech - Année 2019

Le nombre de nouveaux enfants et adolescents atteints de la MC qui ont hospitalisés au CHU M<sup>ed</sup> VI de Marrakech est en augmentation considérable. Ce nombre a augmenté de 25 à 50 par ans entre 2012 et 2018 (**Figure 13**). Parmi les enfants et adolescent consultés ont nécessité une hospitalisation au niveau de service de pédiatrie B. Ainsi, Certains patients cœliaques ont besoin d'une hospitalisation au cours du diagnostic de la maladie. Cette nécessité d'hospitalisation est indiquée généralement lors de l'apparition d'une dénutrition sévère observée chez le patient accompagnée par des carences en énergie totale, en macronutriments, en micronutriments, en vitamines, en oligo-éléments et en minéraux. L'anémie reste la manifestation la plus remarquée chez 70% des patients hospitalisé. L'hospitalisation peut être aussi indiquée si la maladie cœliaque est associée à une autre maladie telle que diabète type 1.



**Figure 13** Nombre d'enfants cœliaques hospitalisés au niveau de CHU de Marrakech

Le nombre des enfants et adolescents consultés a augmenté considérablement au cours de ces dernières années. Il est passé de 20 patients en 2015 à 112 en 2019 (**Figure 14**).



**Figure 14** Nombre d'enfants cœliaques consultés au niveau de CHU de Marrakech

Les résultats obtenus au cours de la présente étude ont montré que l'incidence et le nombre d'hospitalisation de la MC à la région de Marrakech-Safi est en augmentation considérable. Ces résultats peuvent être généralisés sur le sud de Maroc, puisque la majorité des patients atteints de la maladie cœliaques sont suivis au CHU de Marrakech. Ces données confirment aussi les résultats obtenus par El Fakiri et al. (2016) qui disaient que l'incidence de la MC au Maroc est en augmentation considérable.

La prévalence de la MC chez la population générale au Maroc a été estimée à 1.3% par Missoum et al. (2019). Cela montre que cette prévalence estimée est similaire à ceux mondiaux et inclus dans la fourchette mondiale estimée de 0.7 à 1.4% à travers un méta-analyses réalisé sur 120 études en 2018 (Singh et al., 2018). Cela pourrait être lié à la consommation fréquente de blé et d'orge au Maroc qui est un pays méditerranéen dont la consommation des céréales surtout avec l'adaptation du programme du « Plan Maroc Vert » par le gouvernement marocain. Cependant, une évaluation de l'apport en gluten consommé par jour chez les enfants et les adultes marocains permet de mettre en évidence l'impact de consommation de gluten sur le développement de la MC au Maroc. Cet apport est évalué par un questionnaire de fréquences alimentaires (Crespo Escobar et al., 2015; Hopman et al., 2012; Hopman et al., 2007). Néanmoins, aucun questionnaire de fréquences alimentaires pour évaluer la fréquence de consommation de gluten n'a été développée au Maroc. Cette prévalence élevée peut aussi être expliqué par la fréquence élevée de l'haplotype DR3-DQ2 prédisposant la MC au sein de ces populations (Piancatelli et al., 2017; Barada et al., 2010). Les valeurs obtenues au Maroc en tant qu'un pays arabe sont incluses dans cette fourchette.

Les études réalisées au Maroc sur la prévalence de la MC chez la population à haut risque concernaient essentiellement les patients atteints de diabète type 1. Cette prévalence a été estimée à 13 % chez 31 adultes DT1, mais, cette estimation a été basée sur l'étude des auto-anticorps tTGA (Bourhanbour et al., 2016). Azzi et al. (2011) ont examiné les dossiers de 720 DT1 pédiatriques et ont conclu une prévalence de la MC prouvée par biopsie à 3,05%. Cependant, les auteurs ont considéré ce taux comme être une sous-estimation puisque la plupart des patients ne sont pas systématiquement dépistés pour MC. Récemment, Oujamaa et al. (2019) ont estimé la prévalence des auto-anticorps spécifiques de la MC (tTGA et EMA) chez 176 enfants et adultes DT1 à 9,1%. Huit cas présentaient des titres faibles d'IgA-tTGA, parmi lesquels 4 étaient positifs pour HLA-DQ2, 1 pour HLA-DQ8, 1 pour DQ2 et DQ8 et 2 autres

cas avaient un MC prouvé par biopsie. Cela montre que la prévalence de la maladie cœliaque chez les patients à haute risque (DT1) est élevée au Maroc. Cependant, cette prévalence est incluse dans la fourchette remarquée dans les pays arabes (5.5% à 20%) selon une étude réalisée récemment par El-Metwally et al. (2020). Cela indique que cette prévalence est plus élevée dans les populations à haut risque (DT1) dans les pays Arabes par rapport aux pays de l'Ouest,, contrairement de la population générales qui est similaire(Barada et al., 2009).

**B/Évaluation de l'Etat Nutritionnel  
des Enfants et Adolescents Cœliaques  
Et Efficacité du Régime Sans Gluten  
sur l'Indice de Masse Corporelle**

## **Évaluation de l'état nutritionnel des enfants et adolescents cœliaques Et efficacité du régime sans gluten sur l'indice de masse corporelle**

La maladie cœliaque (MC) détruit les villosités intestinales des individus sensibles au gluten et affecte leur statut nutritionnel. L'objectif de cette étude rétrospective est d'évaluer l'état nutritionnel d'enfants et d'adolescents cœliaques, et d'apprécier l'évolution de leur état nutritionnel sous un régime sans gluten (RSG) dans un centre de santé universitaire. Des indicateurs de l'état anthropométrique (poids, taille et indice de masse corporelle) ont été utilisés pour évaluer l'état nutritionnel de 127 enfants et adolescents cœliaques et de 127 enfants et adolescents sans maladie cœliaque (contrôle). La médiane (écart interquartile (IQR)) du poids et de son z-score, de la taille et de son z-score, et de l'indice de masse corporelle (IMC) et de son z-score des enfants et adolescents cœliaques est significativement inférieure à celle du groupe témoin. La prévalence des enfants et des adolescents présentant une insuffisance pondérale était de 62.2 %, ceux présentant une insuffisance de taille de 54.3 % et ceux présentant une maigreur (22.0 %) étaient élevés. Après 22.00 (15) mois de suivi du RSG, le changement de la médiane (IQR) de l'IMC et de son z score était significatif : [15.74 kg/m<sup>2</sup> (2.45) contre 16,18 kg/m<sup>2</sup>(3.15), p=0.006], et [-0.66 (2.01) contre -0.26 (2.16) SDS, p=0.046 respectivement]. Ce RSG a amélioré l'état nutritionnel en réduisant le nombre de personnes minces (z-scores IMC < -2) de 28 à 16 (p<0.0001). Cependant, il y a une augmentation significative (8.7% à 14.1% ; p<0.0001) du nombre d'enfants et d'adolescents avec un IMC z-scores > +1 indiquant un risque de surpoids et d'obésité. Au moment du diagnostic, la MC se caractérisait par une détérioration de l'état nutritionnel. L'adhésion au RSG a contribué à améliorer cette détérioration, mais l'étude a permis de constater une augmentation du nombre d'enfants dont l'IMC a évolué de manière significative et qui répondaient aux critères de surpoids et d'obésité.

## Research paper

### Assessment of the Nutritional Status of Celiac Children and Adolescents And Effectiveness of Gluten-Free Diet on the Body Mass Index

#### **Abstract:**

**Purpose:** Celiac Disease (CD) destroys the intestinal villi of gluten-sensitive individuals, and affects their nutritional status. The objective of this retrospective study is to assess the nutritional status of celiac children and adolescents, and to appraise the evolution of their nutritional status under a gluten-free diet (GFD) at a university health center.

**Design and methods:** Anthropometric status indicators (Weight, Height, and Body Mass Index) were used to evaluate the nutritional status of 127 celiac children and adolescents and 127 of children and adolescents without Celiac Disease (Control).

**Results:** The median (interquartile range (IQR)) of weight and its z-score, height and its z-score, and Body Mass Index (BMI) and its z-score of celiac children and adolescents are significantly lower than those in the control group. The prevalence of children and adolescents that were underweight was 62.2%, those with a height deficiency was 54.3%, and thinness was (22.0%) were high. After 22.00 (15) months of following the GFD, the change in the median (IQR) of BMI and its z score were significant: [15.74 kg/m<sup>2</sup> (2.45) vs. 16.18 kg/m<sup>2</sup> (3.15), p=0.006], and [-0.66 (2.01) vs. -0.26 (2.16) SDS, p=0.046 respectively]. This GFD improved nutritional status by reducing the number of thin (BMI z-scores < -2) people from 28 to 16 (p<0.0001). However, there is a significant increase (8.7% to 14.1%; p<0.0001) in the number of children and adolescents with a BMI z-scores > +1 indicating overweight risk and obesity.

**Conclusions:** At diagnosis, CD was characterized by deterioration in nutritional status. Adherence to the GFD helped to improve deterioration, but the study saw an increase number of children with a significant change in BMI that met criteria for overweight and obesity.

**Keywords:** Children; Gluten-free Diet; Body Mass Index; Obesity; Thinness.

## **1. Introduction**

Celiac Disease (CD) is an autoimmune disease characterized by villous atrophy of the small intestinal mucosa, crypt hyperplasia, and increased intraepithelial lymphocytes. It is caused by the absorption of gluten; a protein in wheat, rye, and barley (Green et al., 2015). The diagnosis of the typical form of the disease is based on certain symptoms, such as the delay in growth (height and weight), signs of malnutrition, chronic diarrhea, and abdominal bloating (Husby & Murray, 2014). The atypical form is more frequent than the typical form, and is generally characterized by extra digestive forms, which are not symptomatic, silent, or even latent bloating (Admou et al., 2009). Confirmation of the disease is based on serological tests and/or duodenal or jejunal biopsy (Green et al., 2005). According to Lamireau & Clouzeau (2013), there has been a considerable increase in the incidence of CD, probably due to a better understanding of atypical forms over the last 30 years. However, several cases are not yet diagnosed (Guandalini & Assiri, 2014). CD's prevalence is generally estimated to be 1% in the USA and Europe (Catassi, Gatti, & Lionetti, 2015; Rubio-Tapia et al., 2012). CD is almost unknown in South-East Asia and Black Africa, but it is common in North Africa, the Middle East and India, with a prevalence similar to that of Europe or the United States (Lamireau & Clouzeau, 2013). In Morocco, the prevalence is unknown. However, the number of new cases per year are increasing considerably (El Fakiri et al., 2016). Celiac Disease affects many aspects in children, adolescents, and adults such as the quality of life (Guennouni et al., 2020 a).

At diagnosis, CD is co-associated with high prevalence of obesity, and a risk of being overweight for adults and children (Kabbani et al., 2012; Aurangzeb, Leach, Lemberg, & Day, 2010; Barera et al., 2000; Norsa, 2013; Sadiki et al., 2013; Venkatasubramani, Telega, & Werlin, 2010). Even though, some studies have shown the opposite. CD is accompanied by a high prevalence of under-nutrition (Brambilla et al., 2013; El Fakiri et al., 2016; Sadiki et al., 2013). Once the CD is confirmed, a gluten-free diet (GFD) is required; it is the only effective and healthy treatment of CD that aims to cure the intestinal mucosa, and correct the nutritional



abnormalities (Gallegos & Merkel, 2019). The GFD must be balanced since the improvement of nutritional status requires perfect adherence to the diet (Laurence, Esther, & Corinne, 2011). However, this improvement may lead to an increase in obesity for both adults (Murray, Watson, Clearman, & Mitros, 2004) and children (Norsa, 2013; Valletta et al., 2010).

The aim of the present study is twofold. Firstly, we attempted to estimate the nutritional status in 127 children and adolescents celiac (CAC) during the time of diagnosis. Secondly, we assessed the change in anthropometric indicators (weight, height, and BMI) and their z-scores, as well as the nutritional status following the implementation of a GFD.

## **2. Methods**

### **2.1. Study design**

This is a retro-prospective and longitudinal study. Firstly, it describes the nutritional status of celiac children and adolescents compared to the control group (children and adolescents without Celiac Disease). Secondly, it assesses the efficacy of GFD on the celiac cohort. Anthropometric indicators were used to evaluate the nutritional status of 127 celiac children. The study covers a period of 7 years from 2012 to 2019. The criteria by which celiac patients were selected are as follows: 1) The age category of the patients ranges from 18 months to 16 years old. 2) Both children and adolescents were treated by an experienced dietician at Mohamed VI University Hospital in Marrakech. 3) CD should be confirmed based on serological as well as histological indicators (biopsy). 4) The absence of an autoimmune disease associated with CD. A biostatistician was asked to select a random sample of healthy children and adolescent to be included in the control group. The control group did not have a significant difference in age and sex when compared to the celiac sample of children and adolescents. The study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine and Pharmacy of Marrakech (Number 029/2020).

## **2.2. Anthropometric assessment**

The nutritional status of children and adolescents was evaluated using anthropometric indicators. These anthropometric measurements were chosen according to the standards of the World Health Organization (WHO) (WHO, 1995; WHO Working Group, 1986). The use of these measurements provided us with anthropometric indices such as height for age, weight for age, and BMI. Note that weight and height are not important if they are not associated with the individuals' age. The WHO advises using standard deviation scores of these indices (z-scores), because they give a better coverage for the observed dispersion in the referenced population. The z-score reflects the difference between the observed measure and the median value established for the referenced population. This difference is expressed by taking the standard deviation of the distribution as the unit of measurement (WHO, 1995; WHO Working Group, 1986). In this study, we depended on the WHO standards. There are WHO standards covering the 5 years old (WHO, 2019 a), and WHO references covering the 5-19 years old range (WHO, 2019 b). We made use of *Anthro Plus* software to help us calculate the z-scores (WHO, 2019 c). These calculations determined the nutritional status; therefore, children's nutritional status depends on the value of BMI z-scores. A child is considered obese when his/her BMI z-score is strictly greater than +2 (z-scores > +2), overweight when his/her BMI z-score is greater than +1 and less than or equal to +2 ( $+2 \geq \text{z-scores} > +1$ ), and thin when his/her BMI z-score is strictly lower than -2 (z-scores < -2). Height deficiency corresponds to a value of height/age z-scores strictly less than -2, and underweight corresponds to a value of weight/age z-scores strictly less than -2 (OMS, 1983; WHO, 1978). However, in several researches the word "underweight" has been used as a synonym for "thinness". The z-scores were first stated when the CD has been confirmed, and re-stated again after the GFD treatment.

## **2.3. Statistical analysis**

The collected data were analyzed using SPSS- Statistical Package for Social Software Sciences for Windows (SPSS version 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The difference was considered

significant for  $p < 0.05$ . The Kolmogorov-Smirnov or the Shapiro-Wilk tests were used in order to test the data normality according to the sample size. Continuous variables are reported as median (interquartile range (IQR)) for an abnormal variable distribution, or mean (SD (Standard Deviation)) for normally distributed variables. Also, the Levene test was used to verify the variances' homogeneity. The Fisher or Chi-square tests were used in cross-tabulations to verify the existence or absence of dependency between categorical groups. The Comparisons between continuous and categorical variables were made using Wilcoxon-Mann-Whitney test or Student test, based on data normality and homogeneity of variances.

### **3. RESULTS**

#### **3.1. Characteristics of the celiac cohort and controls before following GFD**

The present study concerns 127 celiac children and adolescents and an equal number of children without CD in the control group. Females represented 59.1% in the intervention group and 47.2% in the control group. Patients living in rural areas were the most represented either for the celiac cohort by 70 children or for the control cohort by 79 children. No differences were noted between celiac patients and controls by sex, place of residence, and age category (**Table 6**). The median age (IQR) of children and adolescents celiac and control group was non-significant (**Table 7**).

#### **3.2. Anthropometric measurements of CD subjects and controls before GFD**

The nutritional status assessment was conducted for both celiac children and adolescents and controls group. This assessment was done before following the GFD using anthropometric indicators. The Assessment of anthropometric indicators involved 127 celiac children and adolescents and an equal number of controls. The median weight and its z-score of the evaluated celiac children were significantly lower than those of the controls. The median height of celiac children and adolescents and its z-score (IQR) were also significantly lower compared to those of non-celiac children and adolescents. The same remark was observed when calculating the median BMI of the celiac children and adolescents compared to that of the controls (**Table 7**).

**Table 6 Categorical measurement of celiac children before follow-up GFD and controls**

	Celiac patients		Controls	
	n	%	n	%
<b>Gender</b>				
Female	75	59.1	60	47.2
Male	52	40.9	67	52.8
Total	127	100.0	127	100.0
<b>p+=0.06</b>				
<b>Residence</b>				
Rural	70	55.1	77	60.6
Urban	57	44.9	50	39.4
Total	127	100.0	127	100.0
<b>p+=0.374</b>				
<b>Category of age</b>				
[18 months - 5 years [	52	40.9	45	35.4
[5 years -12 years [	50	39.4	47	37.0
more than 12 years old	25	19.7	35	27.6
<b>p+= 0.322</b>	127	100.0	127	100.0
<b>BMI</b>				
Underweight (Wasting)	28	22.0	8	6.3
Normal weight	88	69.3	99	78
Overweight	9	7.1	14	11.0
Obese	2	1.6	6	4.7
Total	127	100.0	127	100.0
<b>p++=0.001</b>				
<b>BMI</b>				
Underweight (Wasting)	28	22.0	8	6.3
Non Underweight	99	78.0	119	93.7
Total	127	100.0	127	100.0
<b>p+&lt;0.001</b>				
<b>BMI</b>				
Overweight	9	7.1	14	11.0
Obese	2	1.6	6	4.7
Non Overweight non Obese	116	91.3	107	84.3
Total	127	100.0	127	100.0
<b>p++=0.182</b>				

**p+: Chi-square test; p++ : Fisher test**

**Table 7 Continuous measurements (age and anthropometric variables) of celiac children and adolescents before and after follow-up GFD compared to controls**

	Controls Non celiac children (n=127)		Celiac children before GFD (n=127)		Celiac children after follow-up GFD (n=127)		WMW test	WMW test
	Median	IQR	Media n	IQ R	median	IQR	p-value+	p-value++
Age (years)	8.00	9	5.50	6.75	7.50	6.79	0.497	<0.0001
Weight (kg)	24.00	18.00	16.00	10.0 1	20.00	10.00	< 0.0001	<0.0001
Weight (SDS, WHO)	-0.33	1.53	-2.00	2.00	-1.50	2.50	< 0.0001	<0.0001
Height (m)	1.21	0.47	1.01	0.33	1.15	0.29	< 0.0001	<0.0001
Height (SDS, WHO),	-0.74	1.81	-3.00	2.75	-2.00	2.25	< 0.0001	<0.0001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16.43	2.72	15.74	2.45	16.18	3.15	0.002	0.006
BMI (SDS, WHO)	0.02	1.80	-0.66	2.01	-0.26	2.16	0.009	0.046

+ **Test U of Mann-Whitney** (Controls (Non celiac children) / Celiac children before GFD)

++ **Test rang singe of Wilcoxon** (Celiac children before GFD / Celiac children after follow-up)

Therefore, all the anthropometric measurements of celiac children and adolescents were significantly lower than those of the controls. The anthropometric indicators were utilized to determine the prevalence of malnutrition in celiac children and adolescents. The celiac cohort is characterized by a high prevalence of under-nutrition; this is manifested in three forms (22.0% in thinness, 62.2% in underweight, and 54.3% in height deficiency). Overweight risk and obesity were noted in celiac children at 7.1% and 1.6% respectively. The reported prevalence is also significantly lower for celiac children than that of the controls ( $p=0.001$ ). This difference was highly significant for thinness (78.0% vs. 6.3%,  $p<0.001$ ), underweight (62.2% vs. 7.1%  $p<0.001$ ), and height deficiency (54.3% vs. 15.75%,  $p<0.001$ ). However, the differences were not significant for obesity and overweight risks (**Table 6**). The iron deficiency was predominant and confirmed in 55% of these celiac children, followed by folic acid

deficiency (B9). Other deficiencies had been observed mainly citing calcium, vitamin D and vitamin K. Deficiencies in sodium, potassium and magnesium were rarely observed.

### **3.3. Effect of follow-up on GFD**

The nutritional status of the 127 celiac children and adolescents was reassessed after a median (IQR) duration of 22.00 (15) months (range: 3-48 months). During this period, the children followed a strict GFD that contained both natural gluten-free foods and industrial gluten-free products (GFPs). The change in median weight (IQR) and its z-score was remarkable. Also, the change in the median size (IQR) was significant. In addition to that, the results showed that this diet has a significant effect on the change in BMI that takes both size and weight into consideration. This variation in the median (IQR) and its z-score was significant (**Table 7**).

According to body index mass, the change in the nutritional status was significant after following the GFD by celiac children and adolescents. Thus, the number of underweight patients decreased by about the half from 28 (22.0%) to 16 (12.6%). Contrary to this, the number of children at risk of overweight or obesity increased from 11(8.7%) to 18 (14.1%). Therefore, the number of children with a normal BMI has slightly changed from 88 (69.3%) to 93 (73.2%) (**Table 8**).

Furthermore, the improvements in the prevalence of under-nutrition noted by anthropometric measurements were highly significant ( $p < 0.001$ ) for both cases, according to the Fischer test. Thus, the height deficiency decreased from 69 (54.3%) to 57 (44.9%), and underweight for age decreased from 48 (37.8%) to 34 (26.8%) (**Table 9**).

**Table 8 Change of anthropometric categories distribution status of CD children after follow-up GFD n=95**

	BMI Categories' Distribution before follow-up GFD									
	Underweight (Wasting)		Normal weight		Risk of Overweight		Obesity		Total	
BMI Categories' Distribution after follow-up FGD	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%
Underweight (Wasting)	11	68.8	5	31.1	0	0.0	0	0.0	16	100
Normal weight(BMI)	15	16.1	75	80.6	1	1.1	2	2.2	93	100
Risk of Overweight	1	7.7	6	46.2	6	46.2	0	0.0	13	100
Obesity	1	20.0	2	40.0	2	40.0	0	0.0	5	100
Total	28	22.0	88	69.3	9	7.1	2	1.6	127	100

p<0,001 Test exact of Fischer

**Table 9 Prevalence of nutritional status of children and adolescents with celiac disease assessed by weight/age and height/age at diagnosis and after gluten-free diet follow-up**

		<i>Stature/age at diagnosis</i>			<i>weight / age at diagnosis</i>		
		<i>Statural-insufficiency n(%)</i>	<i>Non Statural-insufficiency n(%)</i>	<i>Total</i>	<i>Underweight n(%)</i>	<i>-Non Underweight n(%)</i>	<i>Total n(%)</i>
Stature/age at study time	<i>Statural-insufficiency n(%)</i>	<b>50(87.7)</b>	<b>7(12.3)</b>	<b>57 (44,9)</b>	-	-	-
	<i>Non Statural-insufficiency n(%)</i>	<b>19(27.1)</b>	<b>51(72.9)</b>	<b>70 (45,1)</b>	-	-	-
	<i>Total n(%)</i>	<b>69(54.3)</b>	<b>58(45.7)</b>	<b>127 (100)</b>	-	-	-
weight / age at study time	<i>Underweight n(%)</i>	-	-	-	<b>29(85.3)</b>	<b>5(14.7)</b>	<b>34 (26.8)</b>
	<i>Non Underweight n(%)</i>	-	-	-	<b>19(20.4)</b>	<b>74(79.6)</b>	<b>93 (73.2)</b>
	<i>Total n(%)</i>	-	-	-	<b>48(37.8)</b>	<b>79(62.2)</b>	<b>127 (100)</b>

p<0,001 Test exact of Fischer; n: number; %: percentage of prevalence

## **4. Discussions**

### **4.1. Before flow-up on GFD**

The celiac children in this study had a very high incidence of under-nutrition at diagnosis. It affects underweight (62.2%), height deficiency (54.3%), and thinness (22.0%) with a significant difference compared to the controls. The high percentage of under-nutrition in celiac children and adolescents is due to the mal-absorption of micro and macronutrients, compared to non-celiac children and adolescents who do not suffer from mal-absorption. The intensity of the impact of Celiac Disease on the height and weight of the celiac cohort can be explained by the time of diagnosis. In Morocco, diagnostic centers are limited. Thus, a late diagnosis of the disease leads to its discovery at an advanced stage, characterized by an atrocious mal-absorption. As a consequence, a stature-weight delay is established and manifests itself by a high prevalence of underweight, height deficiency, and thinness. The prevalence of under-nutrition in these celiac children was lower than that obtained in another study from 2008 to 2012 (71%), which was conducted at the same university hospital where this study was conducted (El Fakiri et al., 2016). The study conducted at the university hospital of Casablanca found that under-height and underweight were present in 93.27% and 90.86% respectively (Sadiki et al., 2013). Based on the z-score of BMI, the prevalence before GFD in this study was similar to that of a study in Algeria where thinness in children under 18 years of age was 16% in boys, and 39% in girls ( Boukezoula & Zidoune, 2014). The late diagnosis and poor adherence to the GFD affects negatively the nutritional status of children in these countries, and limits their growth. In the developed countries, the prevalence of under-nutrition provoked by CD, as a secondary cause, still persists. However, this prevalence before GFD is still lower than that in this study. For example, In the Italian cohort of 125 celiac children, the prevalence of underweight-thinness was 14% (Mazza et al., 2015). In another Italian study of 150 children aged 2 to 16, underweight-thinness affected 16% (Brambilla et al., 2013). Other studies found



lower frequencies of underweight-thinness (7%, 5%, and 9.6% respectively)(Norsa, 2013; Reilly et al., 2011; Valletta et al., 2010).

In contrast, the latter studies found a high prevalence of obesity and overweight in diagnosis (14.1%, 14.1%, and 19%)(Norsa, 2013; Reilly et al., 2011; Valletta et al., 2010). This prevalence was higher than the ones obtained in this study (8.7%). The co-existence of CD and the risk of becoming overweight and obese were also noted in several other cohorts. Capriati et al. (2016) found that the prevalence of obesity and overweight risk in 445 celiac children between 2009 and 2013 was 7.8%. VAN der pal et al. (2014) reported 13.8% in a cohort of 242 celiac children, and Mazza el al. (2015) found 16% in 125 celiac children. At diagnosis, 20.8% of the 25 celiac children were overweight, but none were obese according to Aurangzeb, Leach, Lemberg, and Day (2010). Recently 16% of celiac children were obese and overweight in diagnosis, in a cohort of 61 Portuguese celiac children (Soares et al., 2017).

The prevalence of overweight and obesity obtained in this study with a non-significant difference compared to the controls can be partially explained by the nutritional transition that Morocco is witnessing (Benjelloun, 2002). In children, the prevalence of overweight and obesity were 5.1% and 3.6% respectively (Cherkaoui Dekkaki et al., 2011). In adolescents, the prevalence of overweight was 7.69%, and that of obesity was 3.41% (El Kabbaoui et al., 2018). Thus, these results are similar to those obtained during the present research. This change is part of the global trend of increased obesity and risk of gaining weight for children (De Onis, Blössner, & Borghi, 2010). On the other hand, several authors have explained the presence of obesity and the risk of gaining more weight during CD diagnosis by the «*Compensatory*» Hypothesis. This hypothesis assumes that the absorption of macro and micro nutrients occurs at the level of the distal intestine in celiac children whose intestinal villi are attacked and eradicated by gluten. Hence, in 1986, Semeraro, Barwick, and Gryboski (1986) were the first to announce this hypothesis; they assumed that the absorption coefficient and energy

consumption will increase in celiac children, thereby increasing the risk of obesity and overweightness. Several other authors have supported this *Compensatory Hypothesis* (Czajka-Bulsa, Garanty-Bogacka, Syrenicz, & Gebala, 2001).

#### **4.2. After the GFD follow-up**

After following GFD by this cohort, the vast majority of individuals had a significant increase in their anthropometric measurements and their z-scores. Changes in the prevalence of being underweight, under-height, and thin were all significant. This confirms that the GFD had a visible effect on this cohort, and that the nutritional status of celiac children and adolescents improved significantly. Once the disease is confirmed, dieting is essential. The gluten-free diet corrected intestinal mal-absorption. Thus, a progressive recovery of height and weight allowed a significant evolution of the Body Mass Index accompanied by an improvement in undernourished patients, and an increase of obesity prevalence.

Results from this study confirm recent findings from Rodrigues, Yonamine, and Fernandes Satiro (2018), which show that most children recovered weight and height deficits after 5 years of treatment in a tertiary center in Brazil. Another study shows that after a duration of 4.4 (4.2) years of GFD, the number of malnourished children has decreased significantly from 27 to 13, as underweight children moved to the normal nutritional status from 20 to 27 (Brambilla et al., 2013). According to several researchers, improved nutritional conditions and the BMI normalization in celiac children were successful in healing the intestinal villi, and the restoration of all intestinal absorption functions (Diamanti et al., 2014). The authors suggest that 12 to 24 months restore intestinal absorption (Murray, Watson, Clearman, & Mitros, 2004). The median duration of this study was 22 months, which was enough to assess the effect of GFD on individuals who committed strongly to it for the correction of nutritional anomalies (Newnham et al., 2016). This is why this cohort benefited from the advice and recommendations of an experienced dietician at each appointment of 3, 6, 12, 18, and 24

months. The aim of this selection was to have an excellent adherence to the diet. This adherence is the major problem in the failure of CD recovery using a strict GFD (Malamut & Cellier, 2010). This adherence is poor in Arab countries (Al-Qabandi et al., 2015; Sarkhy et al., 2015), and in countries where gluten-based foods are widely consumed (48% had a poor adherence) (Boukezoula & Zidoune, 2014).

The number of overweight and obesity cases was remarkable in this study; it went from 11 (8.7%) to 18 (14.1%). Sbaibi et al. (2013) conducted a cross-sectional study over 4 years from 2009 to 2013, which showed that the prevalence of weight gain from 5 to 19 years old was stable. In Morocco, anthropometric indicators were measured annually; therefore we can conclude that the increase in obesity in this celiac cohort is due to re-nutrition (gluten-free diet). In addition, the results of this study confirm the other studies' results, which demonstrate that GFD increases the risk of obesity and overweight. Some studies have reported this obesity evolution and the risk of being overweight under GFD in case reports (Oso & Fraser, 2006). In the cohort of Valetta et al. (2013) of 149 children, the percentage of overweight children has nearly doubled (11% vs. 21%,  $p=0.03$ ). According to Mazza et al. (2015), the prevalence of obesity was also doubled after a year of GFD (from 6.4% to 12%). Norsa et al. (2015) showed that the prevalence of overweight and obesity risk under GFD has increased from 14.1% to 19.4%. Recently in a cohort of 61 Portuguese children after GFD, the overweight risk moved from 16.7% to 19.8%, with a significant increase ( $p=0.008$ ) in BMI in celiac boys and girls after 5 years (Soares et al., 2017). Excessive weight gain in celiac children and adolescents, especially in the first two years, was observed in a Brazilian tertiary center (Rodrigues et al., 2018). Więch et al. (2018) found that weight and BMI significantly increased in celiac children and adolescents under GFD ( $p=0.034$  and  $p=0.021$  respectively). The consumption of gluten-free foods is increasing considerably even amongst the healthy population (Martin et al., 2013). The main factors that are involved in the development of obesity under GFD remain unknown.

However, aside from healing the intestinal lining after banning gluten-containing foods, several authors have discussed the energy quality of GFD itself. Some studies have discussed the energy quality of GFD itself, as well as shown that this diet contains low levels of fiber (Martin et al., 2013). According to FAO/WHO experts, high fiber consumption plays an important role in the prevention of obesity (Martin et al., 2013; Nishida et al., 2004; Reguła & Śmidowicz, 2014). In contrast, this diet is rich in fat, as well as complex carbohydrates (Zuccotti et al., 2013). Recently, Patricia Soares and co-workers confirmed the increase in total energy and carbohydrates' consumption, based on quantification of the difference between the energy values ingested and those recommended (Soares et al., 2017). Therefore, GFD is rich in calories and causes a significant weight gain.

### **5. Study limitations**

This study has some advantages as well as some limitations. The first advantage is that the study lasted for 22 months, which gave us enough time to assess GFD. The second one is that we worked on a large control population unlike other studies that worked only on a limited one (Aurangzeb et al., 2010; Barera et al., 2000; Brambilla et al., 2013; Van der Pals et al., 2014). The third advantage is that this study is, to our knowledge, the first one to examine the effect of GFD on children and teenagers with celiac disease in Morocco. Nevertheless, this study, like any other one, has its own limitations. On the one hand, this research did not include a balanced diet and a level of physical activity to determine whether the improvement or failure of the evolution of BMI is due to caloric balance or to compliance to GFD. On the other hand, this study worked on its cohorts using the BMI z-score methodology, unlike the other studies that used heterogeneous methods like BMI-percentile or IOTF cut-off point. Another limitation may be added, concerning the presentation of serological and histological results during the follow-up of the gluten-free diet. However, this study only included patients with good adherence to the GFD. Patients with poor control serological test were excluded from the study and were redirected to their pediatricians.

## **6. Conclusion:**

In Morocco, Celiac Disease is predominated by a high and aberrant prevalence of under nutrition in all three forms, as well as a non-negligible prevalence of obesity and overweight. The use of GFD corrects this under-nutrition and improves the nutritional status. However, it was accompanied by an increase in obesity and the risk of being overweight. Therefore, it is important to take precautions in order to prevent the development of obesity after the GFD follow up. Therefore, it is necessary to follow a balanced GFD supervised by a dietician using a Food Frequency Questionnaire or adequate software. In addition to that, it will be desirable to also consider in the future the testing of CD tolerated cereal alternatives, as well as researching enzyme treatment.

**CHAPITRE 2 :**  
**Adaptation des Questionnaires Spécifiques  
à La Maladie Cœliaque et Evaluation de la  
Qualité de Vie**

**A/Chez les Enfants et Adolescents**

**B/Chez les Adultes**

**A : Adaptation de questionnaire  
spécifique à la maladie cœliaque chez  
les enfants et adolescents Marocains  
(CD-DUX) pour l'Evaluation de leur  
Qualité de Vie**

## **Qualité de vie des enfants cœliaques marocains : Traduction en arabe et validation d'un instrument spécifique à la maladie cœliaque**

Le régime sans gluten (RSG) est un traitement à vie pour les patients atteints de la maladie cœliaque (MC), qui peut affecter leur qualité de vie (QV). Celle-ci peut être évaluée par des instruments génériques ou spécifiques. Nous avons voulu traduire, valider et adapter de manière interculturelle un instrument spécifique de la MC à la version arabo-marocaine (M-CD-DUX), puis l'appliquer pour évaluer la QV des enfants marocains atteints de MC. L'instrument CD-DUX a été traduit et adapté culturellement, et évalué de manière préliminaire sur 15 enfants et leurs tuteurs. La reproductibilité et la cohérence interne du M-CD-DUX ont été mesurées respectivement par des tests de coefficient intra-classe (ICC) et  $\alpha$  de Cronbach. L'analyse statistique des données recueillies a été réalisée à l'aide de SPSS et le test de Goodness-of-Fit a été mesuré par SPSS AMOS. La fiabilité de l'instrument M-CD-DUX a montré une bonne cohérence interne et une bonne reproductibilité. Les propriétés psychométriques de M-CD-DUX étaient acceptables, et l'ajustement du modèle de l'instrument était bon [(Root Mean Square Error of Approximation = 0.062 ;  $\chi^2 = 603.08$ ,  $p < 0.001$ ]. Le M-CD-DUX a été complété par 52 enfants atteints de MC et leurs tuteurs. Il a montré une moins bonne qualité de vie pour tous les items et sous-échelles, et aucune différence n'a été observée entre la qualité de vie des enfants atteints de MC déjà sous RSG et ceux récemment diagnostiqués. Ainsi, M-CD-DUX a été le premier instrument fiable et adapté utilisé pour évaluer la QV des enfants cœliaques dans un pays arabe, soulignant un impact négatif de la MC sur leur QV. Par conséquent, l'amélioration de leur QV nécessite la prise en compte de nombreux facteurs, dont ceux liés à la disponibilité à un prix raisonnable de produits sans gluten, une alimentation équilibrée avec une stricte adhésion au RSG, ainsi qu'une bonne intégration dans la société.



## Research paper

### Quality of life of Moroccan celiac children: Arabic translation and validation of a specific celiac disease instrument

#### Abstract:

**Background:** A gluten-free diet (GFD) is a lonely lifelong management for patients with celiac disease (CD), which may affect their quality of life (QoL). This can be assessed by generic or specific instruments. We aimed to translate, validate and cross-culturally adapt a specific CD instrument to the Moroccan-Arabic version (M-CD-DUX), and then apply it to evaluate the QoL of Moroccan children with CD.

**Patients and Methods:** The CD-DUX instrument has been translated and culturally adapted, and preliminarily evaluated on 15 children and their proxies. The reproducibility and internal consistency of M-CD-DUX were measured respectively by intra-class coefficient (ICC) and Cronbach  $\alpha$  tests. The statistical analysis of the collected data was conducted using SPSS and the Goodness-of-Fit test was measured by SPSS AMOS.

**Results:** The reliability of the M-CD-DUX instrument showed a good internal consistency and reproducibility. The psychometric properties of M-CD-DUX were acceptable, and the instrument's Model fit was good [(Root Mean Square Error of Approximation = 0.062;  $\chi^2 = 603.08$ ,  $p < 0.001$ ]. M-CD-DUX has been completed by 52 children with CD and their proxies. It showed a poorer QoL for all items and subscales, and no difference was observed between the QoL of children with CD already under GFD and those recently diagnosed.

**Conclusion:** M-CD-DUX was the first reliable and adapted instrument used to evaluate the QoL of celiac children in an Arab country, emphasizing a negative impact of CD on their QoL. Therefore, improving their QoL requires taking into account many factors, including those related to the availability at a reasonable price of gluten-free products, balance nutrition with strict adherence to GFD, as well as a good integration into society.

**Keys Words:** Celiac disease; Children; Quality of life; Gluten-free diet; CD-DUX Adaptation; Morocco.

## **1. Introduction**

Celiac disease (CD) is a chronic autoimmune disease triggered by the ingestion of gluten in predisposed individuals which causes a small intestinal villous atrophy (Admou et al., 2009). It manifests as symptomatic or asymptomatic, with frequent systemic manifestations. The diagnosis is usually confirmed by immunological assays and intestinal biopsy (Husby and Murray, 2014; Buzby, 2010). Its overall prevalence is estimated between 0.7 and 1.4%, but varies among regions and ethnic groups (Singh et al., 2018), and may be associated with type 1 diabetes (Erickson et al., 2015).

A lifetime exclusion of any food containing gluten from the diet remains the only effective treatment (Ludvigsson et al., 2014). Strict adherence to the gluten-free diet (GFD) imposes significant lifestyle changes, which affects the quality of life (QoL) of the celiac patient. According to WHO, QoL is defined as "an individual's perception of his or her place in life, in the context of the culture and value system in which he or she lives, and in relation to his or her goals, expectations, norms and concerns" (*WHOQOL Group, 1994*). Wagner et al. (2008) highlighted the importance of the adherence to the GFD on the QoL of children and adolescents with CD.

Many instruments have been used to assess the QoL in these categories, such as generic, disease-generic and disease-specific questionnaires (Yacavone et al., 2001). As generic methods, TACQOL (Loonen et al., et 2007) and DUX-25 (Koopman et al., 1998) were used first, while the PedsQL Measurement Model (Varni et al., 2003) and The European KIDSCREEN (Ravens-Sieberer et al., 2014) have recently been taken more into account. Then disease-generic methods were used to assess the QoL regardless of the nature of the disease (Petersen et al., 2005). Recently, disease-specific instruments have been developed and validated for adults, children and adolescents with CD (Guennouni et al., 2020 a). Three of these instruments have been used for adults (CD-Q, CD-QOL and CD-AQ) (Huuser et al., 2007; Dorn et al., 2010; Crocker et al., 2018). For children and adolescents, the CD-DUX method was

the first method developed and used in the Netherlands in 2008 (Van Doorn et al., 2008). Five years later, Jordan et al. (2013) developed and validated the CDPQOL method in the USA. The CDQOL method was developed in order to evaluate the QoL of children, adolescents and adults (Skjerning et al., 2017). A cross-cultural translation, adaptation and validation of these methods have been carried out in various countries (Guennouni et al., 2020a), including CD-DUX in Argentina (Pico et al. 2012), Brazil (Lins et al., 2015), and Spain (Barrio et al., 2018). In the light of our knowledge, no specific instrument aiming to assess the QoL of children and adolescents with CD has been validated to date, neither in Morocco nor in Arab countries.

The objective of this study was first to translate, cross-culturally adapt, and validate a CD-specific instrument, then use it to evaluate the QoL amongst children and adolescents with CD in Morocco.

## **2. Materials and Methods**

In order to apply the final Moroccan/Arabic version of CD-DUX to Moroccan children and adolescents with CD, we have carried out the following steps: (i) translation; (ii) cultural adaptation; (iii) calculation of the internal consistency and reproducibility; (iv) validation; (v) calculation of the scores obtained from the items of the final M-CD-DUX and (vi) highlighting the factors influencing QoL improvement. This process was conducted according to IQOLA (International Quality of Life Assessment) project recommendations (Ware & Sherbourne, 1992; Bullinger et al., 1998; Gandek & Ware, 1998).

### **2.1. Questionnaire**

In order to assess the QoL of children (including adolescents) with CD, we used the CD specific questionnaire (CD-DUX) which has been developed and applied by the Netherlands. This instrument is based on 12 items subdivided into three subscales: "Having CD (3 items)", "Communication (3 items)" and "Diet (6 items)", and allows to know how patients feel about the disease (van Doorn et al., 2008). Responses obtained using this instrument were assessed by the Likert scale, which assigns a score from one to five to each response. Higher scores

correspond to a better QoL. This scale is accompanied by facial expressions in pictures, which helps children to respond easily. A version of CD-DUX intended to children and adolescents' caregivers has been developed in order to appreciate their children's feelings towards CD. The overall and subscales scores were transformed into a scale ranging from 0 to 100. The QoL was considered good, neutral, poor and very poor when scores were respectively above 61, between 41 and 60, between 21 and 40, and below 20. The consent from the original author of the CD-DUX was received by email prior to its use. The questionnaire also included socio-demographic and economic aspects (gender, age, living environment, intellectual level, marital status and medical insurance) as well as medical characteristics (height, weight, age at CD diagnosis, adherence to GFD and its duration). An authorization to use the questionnaire has been received by email from the corresponding author who developed the method (**Appendix 5**).

## **2.2. Subjects**

The study focused on children and adolescents with confirmed CD according to Marsh's modified classification (Oberhuber, 2000). They were members of the Moroccan association of gluten intolerant (AMIAG) and/or the national association of CD and wheat allergies (BASMA). This study targeted children (including adolescents) with CD aged of 8 to 18 years. Seventy-seven patients and their caregivers were targeted by the survey and only 52 of them responded to the questionnaire.

## **2.3. Translation, Cultural Adaptation and Validation**

The validation of the questionnaire to be used in this study was carried out according to the following steps: translation and back-translation of the original version; adaptation to the cultural context of the population; assessment of the comprehension of the questionnaire by a group of participants; and study of the psychometric properties of the translated version.

### **2.3.1. Translation and back-translation**

The translation of the original version of the questionnaire into Arabic was carried out separately by a university professor specializing in translation and a university professor

specializing in health sciences. This resulted in a similar version of the questionnaire. The latter was retranslated by two other university professors belonging to similar specialties. The resulting version was then sent to the main author of the original version to verify the conformance of the retranslated version.

### **2.3.2. Cultural Adaptation and Semantic Evaluation**

To adapt the Netherland's original version of the questionnaire to Moroccan culture, some terminological words have been either removed, added or replaced. This process resulted in an easy version for Moroccan children with CD and their proxies to understand, and thus overcoming any difficulties related to intercultural differences.

### **2.3.3. Pilot Test**

The objective of this step was to assess the comprehensibility of all items of the questionnaire. This questionnaire was given to five children with CD and their proxies in order to highlight difficulties in understanding the translated version. The opinions of dieticians and pediatric gastroenterologists have taken into account any changes.

### **2.3.4. Reproducibility and Internal Validity of the Arabic CD-DUX**

To evaluate the consistency of the translated version of the questionnaire, the internal consistency and reproducibility of the items were assessed to 15 children and their proxies. First, reproducibility was assessed by re-administering the questionnaire 7 to 15 days after its first administration to the same participants. This period is considered sufficient to avoid any influence linked to the answers to the first questionnaire. This reproducibility was considered "good" if the ICC was higher than 0.4 (Auquier & Robitail, 2001). The internal consistency between items was assessed by Cronbach  $\alpha$  value, which must be greater than 0.60 to have a "good" internal consistency (Nunnally & Bernstein, 1978). The percentage of responses to all questions was used to measure the feasibility of the instrument (ceiling and floor effects).

## **2.4. Adherence to gluten-free diet and Discriminant validity**

Children were subdivided into two groups depending on whether or not they were on the GFD. The first group included those newly diagnosed and not yet under GFD, while the second group included those who have already initiated GFD. Discriminant validity was determined by comparing the two groups.

### **2.5. Moroccan CD-DUX Application**

The final translated, cross-culturally adapted and validated version was intended for 77 children with CD and their proxies. The number of completed questionnaires was 52 and each questionnaire contained 12 items in Arabic divided into 3 subscales.

### **2.6. Statistics**

The scores obtained in this study were analyzed using SPSS - Statistical Package for Social Logiciel Sciences for Windows (SPSS version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The normality of data was assessed using Shapiro-Wilk test, and the homogeneity of the variances was evaluated by Levene test. The normal distribution variables were expressed as means (SD) while the abnormal distribution variables were expressed as medians (IQR). T-Student test was used to assess the independence between quantitative and qualitative variables for two categories and ANOVA test was used to compare variables for three or more categories. The correlation between quantitative variables was measured by Spearman coefficients, and Chi-square test was used to estimate the association between qualitative variables. The difference is considered significant when p-value is less than 0.05. In addition, the studied psychometric properties of the Moroccan/Arabic version were floor effects (% of patients scoring at the highest score), ceiling effects (% of patients scoring at the lowest score), reliability (internal consistency and reproducibility) and discriminant validity. The difference in scores between patients with CD following GFD and those without diet (at diagnosis) was used to determine the validity of the concomitant discriminatory endpoint. Confirmatory Factor Analysis (CFA) was used to determine construct validity. The Kayser Meyer Olkin test ( $KMO > 0.5$ ) and the Bartlett Sphericity test ( $p < 0.05$ ) were calculated to verify the possibility of factorizing the data

(Galtier, 2003). Each item must represent a community greater than 0.5 to be included in the CFA. When applying the CFA, factors with an Eigen value greater than or equal to 1 have been maintained. An orthogonal rotation (Varimax) has been applied when the correlation between items is less than 0.3 (Galtier, 2003). The fit of the model has been studied by the calculation of Root Mean Square Residual (RMSR <0.08: acceptable fit) and by Chi-squared test ( $p < 0.05$ ) (Schermelleh-Engel et al. 2003).

## **2.7. Ethics, authorisation and approval**

The study focuses on children and their proxies. Therefore, the anonymity of each celiac patient was considered according to recommendations of the Declaration of Helsinki. A permission to use the original version (CD-DUX) has been granted by the developer of the instrument obtained by e-mail from the corresponding author. The study was approved by Faculty of Medicine and Pharmacy of Marrakesh (N°29/2020).

## **3. Results**

### **3.1. Translation, Cultural Adaptation and Semantic Evaluation**

During the translation and cultural adaptation processes, a discussion was initiated between the members of the translation and cultural adaptation committee on the term "celiac" in Arabic. It was translated as "digestive dysfunction disease ". However, the overwhelming majority of patients use the foreign word "coeliaque" in French. Thus, the word "السيلياك", which means CD, has been used in the Arabic version. The original CD-DUX original instrument for children consists of a single version for both girls and boys. However, when translating the original version into Arabic, it was possible to use two versions of the questionnaire, one for girls and another for boys separately; or one common version for both genders. The translation committee judged that the latter version to be most practical and adequate because it contains terms that are suitable for both sexes. Therefore, alphabets have been added in brackets to certain Arabic verbs to show that the question is also addressed to the female gender. However,

no difficulty was found in the translation and culturally adaption of the versions intended for proxies.

### **3.2. Reliability (Internal consistency & Reproducibility), Ceiling and Floor effect**

The results obtained by calculating the values of Cronbach's  $\alpha$  show that the internal consistency of the questionnaire was good either for the children or for their proxies, and Cronbach's  $\alpha$  values obtained were greater than 0.7 (**Table 10.a & Table 10.b**). The reproducibility was considered as “good” in the proxies through either ICC (ICC > 0.4), Pearson correlation (> 0.68) or Wilcoxon's test (non-significant difference). This good reproducibility was noted for all items as well as for each subscale (**Table 10.a & Table 10.b**). For children, the Wilcoxon's test showed that the reproducibility was considered ‘poor’ only for "Communication" and "having CD" subscales, while it was “good” for "Diet" subscale and for all other items. ICC and Pearson test showed that the reproducibility in children was excellent for all items and for all subscales. It should be noted that this reproducibility was more consistent among the proxies than children (**Table 10.a & Table 10.b**).

### **3.3. Socio-economic and demographic characteristics of the participants**

The application process of the final version of the instrument was initially intended for 77 celiac children, but only 52 of them completed the questionnaire, with a response rate of 67.5%. Children living in rural areas were the most represented (86.5%) and the majority were female (65.4%). The mean age of the surveyed children was  $13.85 \pm 3.70$  years (range: 8-18 years) and the age group between 13 and 18 years old was the most represented (63.5%). The mean of BMI was  $18.17 \pm 3.64$  showing a risk of obesity in only one case. The majority of proxies were



**Table 10 a. Reproducibility and Reliability scores of CD-DUX children version (n = 15 participants).**

	Score			Pearson Correlation		Intraclass Correlation Coefficient		Cronbach $\alpha$
	Test Mean (SD)	Retest Mean (SD)	p+	Correlation	p	ICC	p	
Communication	28.33	46.66	<b>0.001</b>	0.57	<b>0.027</b>	0.72	<b>0.001</b>	<b>0.813</b>
Having CD	38.33	19.47	<b>0.001</b>	0.76	<b>0.001</b>	0.83	<b>0.001</b>	
Diet	33.05	26.11	<b>0.05</b>	0.74	<b>0.002</b>	0.82	<b>0.001</b>	
Total CD-DUX	33.24	30.75	<b>0.36</b>	0.88	<b>&lt;0.001</b>	0.87	<b>&lt;0.001</b>	

**ICC** : Intraclass Correlation Coefficient ; **SD**: Standard deviation ; + : based on the Wilcoxon's test

**Table 10 b. Reproducibility and Reliability scores of CD-Dux proxy version (n = 15 participants).**

	Score			Pearson Correlation		Intraclass Correlation Coefficient		Cronbach $\alpha$
	Test Mean (SD)	Retest Mean (SD)	p+	Correlation	p	ICC	p	
Communication	25.55	22.78	<b>0.33</b>	0.68	<b>0.006</b>	0.81	<b>0.002</b>	<b>0.789</b>
Having CD	31.67	27.22	<b>0.18</b>	0.77	<b>0.001</b>	0.85	<b>0.001</b>	
Diet	35.83	36.94	<b>0.33</b>	0.97	<b>&lt;0.001</b>	0.98	<b>&lt;0.001</b>	
Total CDDUX	31.02	28.98	<b>0.21</b>	0.90	<b>&lt;0.001</b>	0.94	<b>0.001</b>	

**ICC** : Intraclass Correlation Coefficient ; **SD**: Standard deviation ; + : based on the Wilcoxon's test

married, live in a nuclear family, with a medium level of education and have a medical insurance. The disease was diagnosed mainly after atypical manifestations (84.6%), and the majority of them were under GFD (**Table 11**).

**Table 11. Socio-economic, demographic and medical characterisation of the study sample (children/proxies) (n=52).**

Characteristics	Category	Number of Respondents (%)
<b>Gender</b>	Female	34(65.4)
	Male	18(34.6)
<b>Place of residence</b>	Urban	45(86.5)
	Rural	7(13.5)
<b>Age(Year)</b>	13.85 ±3.70	
<b>Age category</b>	[8-13 years[	19(36.5)
	[13-18 years]	33(63.5)
<b>BMI (kg/m2)<sup>2</sup></b>	18.17±3.64	
<b>BMI category</b>	Underweight	23(44.2)
	Normal	23(44.2)
	Risk of obesity/Obesity	1(1.9)
<b>Educational level</b>	Illiterate	12(23.1)
	Primary	10(19.2)
	Secondary	18(34.6)
	University degree	12(23.1)
<b>Marital status</b>	Married	49(94.2)
	Divorced	3(5.8)
<b>Living condition</b>	Big family	18(34.6)
	Nuclear family	34(65.4)
<b>Medical insurance</b>	Medical assistance regime	7(13.5)
	Public	14(26.9)
	Private	14(26.9)
	Without medical insurance	7(32.7)
<b>Having CD in family</b>	No	12(23.1)
	Yes	40(76.9)
<b>Manifestation of CD</b>	Typical form	44(84.6)
	Atypical form	8(15.4)
<b>GFD adherence</b>	Yes	44(84.6)
	No	8(15.4)

The overall floor and ceiling effects tended to zero for both children and their proxies. The ceiling effect was zero for all subscales, whether for children or proxies. The floor effect was inferior to 4% in all subscales for proxies and children, while only “communication” subscale was high (13%) for proxies (**Table 12**).

### **3.4. Confirmatory Factor Analysis & Model fit (Construct validity)**

Applied to the data collected through the used instrument, the factorizing tests' values of Kayser Meyer Olkin's and Bartlett's sphericity tests were 0.654 (KMO > 0.5) and 187.08 ( $p < 0.001$ ) respectively for children, and 0.693 (KMO > 0.5) and 204.06 ( $p < 0.001$ ) respectively for proxies. The Confirmatory Factor Analysis (CFA) showed that all items represented communalities greater than 0.5 and the total variance explained showed that three components represented almost 60% of the total variance. The root mean square error of approximation (RMSEA) was equal to 0.062 ( $< 0.08$ ) and the Chi-square test was equal to 603.08 ( $p < 0.001$ ). This showed that the model fit of this instrument was good.

### **3.5. Application of Moroccan CD-DUX (M-CD-DUX)**

The application of the Moroccan version of CD-DUX (M-CD-DUX) showed that the QoL perceived by children with CD and their proxies was respectively equal to  $36.48 \pm 14.98$  and  $29.09 \pm 14.57$ . This led to the conclusion that this QoL was poor for proxies and children. The scores obtained from three subscales (having CD, communication and diet) ranged between 24 and 39 and no subscale reached 40 (neutral QoL). Among all subscales, the scores found for "having CD" subscale remained the most affected (**Table 12**).

### **3.6. Child/proxies concordance**

The QoL perceived by parents was poorer compared to that perceived by their children. This difference was globally significant ( $36.48 \pm 14.98$  vs.  $29.09 \pm 14.57$ ;  $p = 0.012$ ), which was noticeable especially for the "communication" subscale ( $33.97 \pm 19.30$  vs.  $24.68 \pm 17.30$ ,  $p = 0.011$ ). The difference was not significant for "having CD" and "diet" subscales ( $p = 0.064$  and  $p = 0.103$ ) respectively (**Table 12**).

**Table 12. Data quality and Scores of the Moroccan version of Celiac Questionnaire (M-CD-DUX)**

Properties	Measure	Having CD		Communication		Diet		CD-Dux Overall	
		Children	Proxies	Children	Proxies	Children	Proxies	Children	Proxies
<b>Data quality</b>									
<b>Floor effect</b>	% of patients scoring at the lowest score	3.85%	5.77%	1.92%	13.46%	1.92%	0.00%	0.00%	0.00%
<b>Ceiling effect</b>	% of patients scoring at the highest score	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<b>Scores</b>									
	<b>Mean</b>	39.74	32.53	33.97	24.68	35.74	30.05	36.48	29.09
	<b>SD</b>	20.78	18.45	19.30	17.30	17.91	17.31	14.98	14.57
	<b>P</b>	0.064		0.011		0.103		0.012	

**SD:** Standard deviation

Model fit is good through SPSS AMOS: **Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA) = 0.062 and  $\chi^2 = 603.08$ ,  $p < 0.001$**

### **3. 7. Influence of socio-economic, demographic and medical characteristics**

The living areas, gender, nutritional status, living condition, and type of CD manifestations had no influence on the total and subscales scores.

However, this QoL was poor in the 8-12 age group compared to the 13-18 age group (30.26±13.59 vs. 40.07± 13.60, p=0.02). QoL was also poor among patients without medical insurance (39.24±15.45 vs. 30.80±12.50, p=0.041) compared to those with (**Table 13**).

### **3. 8. Discriminant validity (Influence of GFD on QoL)**

**Table 13** shows that no difference was observed in the QoL of patients with CD under gluten-free diet and those who were recently diagnosed. A non-significant difference was also observed regarding the duration of the GFD. Therefore, GFD did not improve the QoL in children celiac.

**Table 13. Influence of socio-economic, demographic, medical characteristics and GFD of sample study on the scores of M-C-DUX.**

Characteristic	Having CD				Communication		Diet		CD-Dux Overall	
	Mean (SD)	P			Mean (SD)	p	Mean (SD)	p	Mean (SD)	p
<b>Age category</b>										
[8-13 years]	33.33(21.87)	0.090			25.00(19.24)	<b>0.010</b>	32.45(17.04)	0.321	30.26(13.59)	<b>0.020</b>
[14-14 years]	43.43(19.52)				39.14(17.61)		37.63(18.38)		40.07(13.60)	
<b>Gender</b>										
Female	38.23(21.23)	0.477			37.99(18.02)	0.038	34.19(18.65)	0.398	36.80(15.82)	0.834
Male	42.59(20.19)				26.39(19.85)		38.65(16.51)		35.88(13.66)	
<b>Place of residence</b>										
Urban	40.55(21.29)	0.480			35.55(19.25)	0.136	37.13(15.09)	0.157	37.75(15.09)	0.125
Rural	34.52(17.63)				23.81(17.63)		26.78(20.67)		28.37(12.16)	
<b>Living condition</b>										
Nuclear family	38.97(17.49)	0.376			32.11(19.37)	0.343	34.68(17.64)	0.564	35.25(14.47)	0.420
Big family	41.20(46.52)				37.50(19.23)		37.73(18.77)		38.81(16.06)	
<b>Medical insurance</b>										
No	42.85(22.24)	0.087			36.67(19.30)	0.149	38.21(18.24)	0.144	39.24(15.45)	<b>0.041</b>
Yes	33.33(16.14)				28.43(18.65)		30.63(16.60)		30.80(12.50)	
<b>Nutritional status (BMI category)</b>										
Underweight	37.68(18.44)	0.951			39.88(18.77)	0.856	35.33(17.17)	0.609	35.20(11.92)	0.946
Normal	36.23(19.88)				32.61(19.95)		35.51(19.78)		35.51(16.82)	
Obesity	33.33				41.67		16.67		30.55	
<b>Manifestation of CD</b>										
Typical form	40.72(20.66)	0.432			35.61 (19.52)	0.155	37.12(17.94)	0.194	37.81(14.36)	0.134
Atypical form	34.57(22.02)				25.00(16.06)		28.12(16.78)		29.17(17.17)	
<b>GFD adherence</b>										
Yes	39.39(22.11)	0.779			34.28(19.79)	0.792	35.61(18.18)	0.903	36.43(15.84)	0.948
No	41.67(11.78)				32.29(17.50)		36.46(17.50)		36.81(9.65)	
<b>GFD duration</b>										
[At diagnosis – 2 years]	45.07(20.99)	0.277			32.95(17.15)	0.818	39.58(18.75)	0.237	39.20(12.81)	0.540
]2-5years]	35.00(19.74)				33.33(20.77)		34.58(17.95)		34.30(16.05)	
Over 5 years	37.50(21.61)				37.50(22.31)		29.58(16.01)		34.86(14.98)	

#### **4. Discussion**

Several researchers have used generic methods to assess the QoL of patients with CD, while others have gradually developed specific methods to CD (Guennouni et al., 2020a). These specific instruments allow specialists to better understand the effect of CD on the QoL of their patients in different aspects (van Doorn et al., 2008). Indeed, the development of such instruments requires the deployment of significant human and financial resources. This is why many authors have adapted and validated already developed instruments. To implement one instrument in another country, a translation, cross-cultural adaptation and validation of the original questionnaire are necessary (Patrick et al., 1994). In this study, we adapted a specific method already developed in Netherlands to assess the QoL of Moroccan children with CD. No difficulties were encountered during the translation and intercultural adaptation process. The psychometric properties of the adapted version including internal consistency, reproducibility, floor and ceiling effects were acceptable. Similar findings were reported by a study previously conducted on both children and adults (Guennouni et al., 2020a). The results obtained from the application of confirmatory factor analysis and model fit allowed to retain the structure of the original version. This structure is composed of 12 items subdivided into three subscales (communication, having CD and diet). Therefore, the application of the final version (M-CD-DUX) to Moroccan children with CD became possible.

Generally, the CD causes a decrease in the QoL of patients with CD (Marchese et al., 2013; Skjerning et al., 2017). Our result is consistent with this conclusion. In fact, the instrument used in our study (M-CD-DUX) showed that the QoL scores were worse than those obtained through the original version of the questionnaire (van Doorn et al., 2008). However, this QoL was neutral in studies driven in Brazil, Spain and Argentina, using other adapted versions (Lins et al., 2015; Barrio et al., 2018; Pico et al., 2012). In Morocco, the incidence of CD is increasing (El Fakiri et al., 2016), but Moroccan patients with CD suffer from the low availability, high cost and unbalanced nutritional quality of GFP (Guennouni et al., 2020b; Guennouni et al.,

2020 c). This causes patients with CD to isolate themselves in society with integration difficulties, which has a negative impact on their QoL. The quality of life was negatively impacted by the lack of medical insurance, which confirms the influence of low individual income on QoL, in particular with the exorbitant price of GFP and the low availability of medical centers responsible for monitoring patients with CD in Morocco.

GFD plays an important role in improving the QoL of patients with CD, one that has been demonstrated by several studies (Barrio et al., 2018; Aksan et., 2015; Casellas et al., 2013). Unfortunately, our study did not show a significant difference in the ‘Discriminant validity’ between the newly diagnosed group and the group of patients on the gluten-free diet. This could be due to the scarcity of GFPs and their high cost (Guenouni et al., 2020 b). This may also be linked to the lack of compliance with regulations regarding the exact gluten content and / or the labelling of these foods. This can be achieved by overcoming the factors that affect the adherence to GFD (Xhakollari et al., 2019).

The Moroccan celiac proxies find that their children’s QoL is low compared to how their children feel (p=0.012). A similar observation was noted during either the development of the original version of the instrument (van Doorn et al., 2008) or its adaptation in Argentina (Pico et al., 2012) and Brazil (Lins et al., 2015). Conversely, a Spanish study reported a lack of improvement (Barrio et al., 2016) (**Table 14**). Recently, Abreu Paiva et al. (2019) developed a specific questionnaire (CDPC-QoL) for children with CD proxies in Brazil.

**Table 14 Comparison between total scores of QoL in Children and adolescents/ Parents or guardians by CD-DUX questionnaire**

Country (Reference)	Children and adolescents	Parent or guardian	p
	Total scores: Mean(SD)	Total scores: Mean(SD)	
Netherlands (van Doorn et al. 2008)	44 (15)	39(15)	<0.05
Brazil (Lins et al. 2015)	57.6 (12.3)	45.4 (10.4)	<0.01
Argentina (Pico et al., 2012)	53.33(17.18)	51.46(14.45)	<0.05
Spain (Barrio et al. 2016)	54.82 (12.30)	5.48 (12.72)	=0.499
Morocco (present study)	36.48 (14.98)	29.09 (14.57)	0.012

## **5. Conclusion**

The psychometric properties of the Arabic version (M-CD-DUX) (internal consistency, reproducibility, floor and ceiling effect) and the model fit were good and acceptable, allowing the adapted version to be applied in Morocco. Overall, the QoL of the children with CD in our study was worse, especially in the context of a lack of medical insurance, where even the surveillance of the GFD could not improve their QoL. The Moroccan celiac proxies find that their children's QoL is low when compared to how their children feel. It is therefore important to act on the factors responsible for a failure of GFD compliance, in particular those related to low availability, to the high price and imbalance of nutritional quality of gluten-free foods. Furthermore, public awareness of CD through media and social networks remains a priority for a better understanding of this disease, thus enabling an easy integration of patients with CD in society.

### **Supplementary Materials**

- **Supplementary Material 1 (Annexe 6) :** Moroccan Arabic version of CD-DUX for children and adolescents (M-CD-DUX)
- **Supplementary Material 2 (Annexe 6):** Moroccan Arabic version of CD-DUX for proxy (M-CD-DUX)/Boy version
- **Supplementary Material 3 (Annexe 6):** Moroccan Arabic version of CD-DUX for proxy (M-CD-DUX)/Girl version

### **Acknowledgments:**

We would like to express our sincere gratitude to Mrs. ELAOURI Zahra and Mr. MARRAH Abdelkader, professors of English (specialized in translation) from the Faculty of Letters and Human Sciences at Cadi Ayyad University of Marrakech; to Mr ABOUAZZA Houcien, and ABOUISSABA Abir, English teachers for their help in translation. Our thanks also go to the leaders of the Moroccan association of gluten intolerant and allergic people (AMIAG) and the national BASMA association of celiac diseases and wheat allergies. In addition, we would like to thank the dieticians, gastroenterologists and paediatric affiliated to the Gastroenterology department and paediatric at Mohamed VI University Hospital of Marrakech.



**A : Adaptation de questionnaire  
spécifique à la maladie cœliaque chez  
les Adultes Marocains (CD-Q) pour  
l'Évaluation de leur Qualité de Vie**

## **Qualité de vie des patients cœliaques marocains : Traduction arabe, adaptation transculturelle et validation du CD-Q**

La prise en charge de la maladie cœliaque (MC) repose sur un régime sans gluten (RSG) à vie qui affecte la qualité de vie (QV) des patients cœliaques. Des instruments spécifiques ont été utilisés pour évaluer cette qualité de vie, comme le CD-Questionnaire (CD-Q). L'objectif de cette étude était de traduire, valider et adapter le CD-Q dans une version arabe, puis de l'appliquer à l'évaluation de la qualité de vie des patients cœliaques marocains adultes. La version marocaine du CD-Q (M-CD-Q) a été administrée à 150 patients cœliaques et 112 d'entre eux l'ont entièrement complétée. La reproductibilité et la fiabilité du M-CD-Q ont été étudiées par le coefficient intra-classe (ICC) et l'alpha de Cronbach respectivement. Des tests paramétriques et non paramétriques, l'analyse factorielle confirmatoire, la corrélation de Spearman et le test du chi carré ont été utilisés pour l'analyse statistique des données effectuée par SPSS, et le test de Goodness-of-Fit a été déterminé à l'aide de SPSS AMOS. Aucune difficulté n'a été constatée lors de la traduction et de l'adaptation culturelle de l'instrument CD-Q. L'alpha de Cronbach a montré une bonne cohérence interne. Le re-test a montré une excellente reproductibilité ( $ICC > 0.4$ ). L'étude des propriétés psychométriques du M-CD-Q a montré une bonne acceptation et un effet de plancher et de cellule nul. L'ajustement du modèle était bon [(Root Mean Square Error of Approximation = 0.075 (RMSEA < 0.08)) et  $\chi^2 = 509.04$ ,  $p < 0.001$ ]. Les scores totaux ont montré une qualité de vie neutre. Cette QV était plus mauvaise dans la sous-échelle des soucis qui est liée aux produits sans gluten. Le RSG n'a pas amélioré la qualité de vie de l'échantillon. Le M-CD-Q est le premier instrument fiable et adapté dans un pays arabe pour l'évaluation de la qualité de vie des patients cœliaques.

## Original Research

### Quality of life in Moroccans coeliac patients: Arabic translation, cross-cultural adaptation and validation of CD-Q

#### Abstract:

**Background:** Celiac disease (CD) management is based on lifelong gluten-free diet (GFD) that affects the quality of life (QoL) of celiac patients. Specific instruments have been used to evaluate this QoL such as CD-Questionnaire (CD-Q). The objective of this study was to translate, validate, and cross-cultural adapt the CD-Q in an Arabic version, and then apply it to evaluate the QoL of Moroccan adult celiac patients.

**Methods:** The Moroccan version of CD-Q (M-CD-Q) was administered to 150 celiac patients and 112 of them fully completed it. Reproducibility and reliability of M-CD-Q were studied by the intra-class coefficient (ICC) and the Cronbach alpha respectively. Parametric and non-parametric tests, Confirmatory Factor Analysis, Spearman Correlation, and Chi-Square test were used for the statistical analysis data performed by SPSS, and Goodness-of-Fit test was determined using SPSS AMOS.

**Results:** No difficulties were found during the translation and cultural adaptation of the CD-Q instrument. Cronbach's alpha showed a good internal consistency. The retest showed excellent reproducibility ( $ICC > 0.4$ ). The study of the psychometric properties of M-CD-Q showed good acceptance and zero ceiling and floor effect. The Model fit was good [(Root Mean Square Error of Approximation = 0.075 (RMSEA < 0.08)) and  $\chi^2 = 509.04$ ,  $p < 0.001$ ]. The total scores showed a neutral QoL. This QoL was worse in worries subscale who is related to gluten-free products. The GFD did not improve QoL among sample.

**Conclusion:** The M-CD-Q is the first reliable and adapted instrument in an Arab country for the evaluation of QoL in celiac patients.

**Keys Words:** Health related quality of life; Celiac disease; Gluten-free diet; CD-Questionnaire; Adaptation; Morocco.

## **1. Introduction**

The ingestion of gluten proteins found in wheat, rye, and barley induces gluten intolerance in certain predisposed individuals. This is known as celiac disease (CD) (Caio et al., 2019). This disease causes destruction of the villi of the small intestine, crypt hyperplasia, and increased intraepithelial lymphocytes. Its prevalence is increasing considerably worldwide (Lohi et al., 2007). According to a review and meta-analysis conducted by Singh et al. (2018), this prevalence has been estimated at 0.7% to 1.4% worldwide. The management of CD is based on a ban of all gluten-containing foods. It is a lifelong gluten-free diet (GFD) (Makovicky et al., 2020). The efficacy of GFD has been clinically, serologically, and histologically approved (Catassi et al., 2007). Changing dietary habits influences the lifestyle and quality of life (QoL) of the celiac patients. Quality of life, as defined by the World Health Organization is «an individual's perception of their position in life in the context of the culture and value systems in which they live, and in relation to their goals, expectations, standards and concerns» (WHOQOL Group, 1994). Health is one of the pillars of this quality of life (HRQoL). In order to assess HRQOL in celiac patients, several generic methods have been used (Yacavone et al., 2001). In children, QoL was assessed by several generic methods such as PedsQoL (Varni et al., 2003), DUX 25 (Koopman et al., 1998) or KIDSCREEN-52 questionnaire (Barrio et al., 2018), and in adults by SF-36 (Riddle et al., 2001), Euro-QoL (Casellas et al., 2008), or Gastrointestinal Quality of Life Index (Jordá and Vivancos, 2009). Recently, disease-specific methods have been developed for children, adolescents, and for adults (Guennouni et al., 2020a). CD-DUX was the first disease specific instrument for children, and adolescents which was developed in the Netherlands in 2008 (van Doorn et al., 2008), followed by CDPQOL in the USA in 2013 (Jordan et al., 2013). For the category above 18 years of age, three instruments have been developed. In Germany, Winfried Hauuser and co-workers developed the CD-Questionnaire method, which includes 28 items (Huuser et al., 2007). In the USA, Dorn et al. (2010) developed CD-QOL instrument based on 20 items subdivided into four subscales.

Recently, the third method called CDAQ was developed by Crocker et al. (2018) which includes 32 items. In Denmark, Skjerning et al. (2017) conceived a CD-specific instrument for children, adolescents and celiac adults alike. These tools have been translated, cross-culturally adapted and validated in several countries (Guennouni et al., 2020); including CD-Questionnaire which has been adapted in Italy (Marchese et al., 2013), France (Pouchot et al., 2014), Turkey (Aksan et al., 2015), Brazil (Pratesi et al., 2018), Poland (Zysk et al., 2018), and Iran (Barzegar et al., 2018). In Morocco, despite the considerable increasing incidence of CD (El Fakiri et al., 2016), no specific methods for adults with CD haven't been adapted yet. The objective of this study, as part of this framework was first to translate, to cross-culturally adapt, and to validate the items of the CD-Questionnaire (Huuser et al., 2007), and secondary, to evaluate the quality of life amongst adults affected by CD in Morocco.

## **2. Material and Methods**

This research was conducted between June 2019 and October 2020. To adapt a CD-Q instrument, we proceeded to following steps: (i) translation; (ii) cultural adaptation; (iii) calculation of psychometric properties such as internal consistency (Cronbach  $\alpha$ ) and reproducibility (Intra-Class Coefficient) of the Moroccan version of the CD-Q (M-CD-Q); (iv) validation; (v) calculation of final QoL scores in Moroccan adults with CD; and (vi) highlighting the factors influencing QoL improvement.

### **2.1. Questionnaire**

The specific CD-Q instrument used in this study to evaluate the QoL was developed by Häuser et al. (2007) in Germany as the first disease-specific tool to measure the QoL in celiac patients over 18 years. It is composed of 28 items subdivided into four subscales. Each subscale (Emotion, Social, Worries, and Gastrointestinal) includes seven items. Each item offers seven possible answers ranked from 1 to 7. The scores of each item range from 0 to 49 points. The total score of the whole questionnaire varies between 0 and 196. A high total score reflects a high HRQoL, while a very low total score indicates a poor HRQoL. The patient should

complete the questionnaire himself or with the help of the investigator. Before using the CD-Questionnaire, an agreement from the author of the original version was received by email. The socio-demographic and economic questionnaire includes gender, age, living environment, intellectual level, marital status, and medical insurance. While, the medical questionnaire includes height, weight, body mass index, GFD adherence, age of CD diagnosis, and duration of gluten-free diet follow up. An authorization to use the questionnaire has been received by email from the corresponding author who developed the method (**Appendix 7**).

## **2.2. Subjects**

The study was conducted in adults with CD. The inclusion criteria included an age over 18 with a histopathological confirmed CD, according to Marsh classification (Marsh, 1992). The attending physician can be either in the private or in the public sectors. Celiac patients were members of the Moroccan Association of Gluten Intolerant and Allergic (AMIAG) and/or the national association BASMA of celiac and wheat allergic diseases. The reproducibility (test/re-test) was studied on 16 celiac patients. The final version was intended for 150 celiac adults, and 112 of them responded on the final Arabic-Moroccan version of M-CD-Q.

## **2.3. Translation, cultural adaptation, and validation**

Before the use of an instrument developed in other country and culture, a rigorous set of guidelines must be applied and strictly respected according to the methodology of the IQOLA project (International Quality of Life Assessment) (Ware & Sherbourne, 1992; Gandek & Ware, 1998; Bullinger et al., 1998). Within this framework, the original version of the CDQ instrument was first translated, back translated, and culturally adapted. Then, its reproducibility and feasibility was assessed. After what, the instrument was compared to a generic instrument (SF-36). Finally, the M-CD-Q was applied to Moroccan celiac patients. In parallel, the influence of certain factors was highlighted.

### **2.3.1. Translation and back-translation**

This step was carried out in two phases. The aim of the first stage was to translate all the items and subscales of the original questionnaire, including the introductory sentences. On one hand, an English university professor specialized in translation produced the first version. On the other hand, a professor of health sciences translated the second version. A discussion highlighted the linguistic differences between the two versions and concluded to a unique version. The latter version was translated again in the second phase by two other professors. The resulting version was sent to the corresponding author of the original version for review.

### **2.3.2. Cultural adaptation and semantic evaluation (First Step)**

As the original version was developed in Germany, and this adapted version will be applied in the Moroccan context, a cultural adaptation of certain terms remains necessary. This adaptation will make it possible to remove, replace, or add other terms taking into consideration the Moroccan population culture. As a result, it will produce a version that is easy to understand by Moroccan celiac adults and to overcome any difficulties related to intercultural differences.

### **2.3.3. Pilot test (second step)**

The version obtained after the cultural adaptation and the semantic evaluation has been tested on a limited number of adults with CD. The objective of this phase was to test the comprehensibility of different items by celiac patients and to clarify any item presenting certain ambiguity. The opinion of gastroenterologists and dieticians was taken into consideration for any change.

### **2.3.4. Reproducibility and internal validity of the Arabic M-CD-Q**

Reproducibility means stability over time, which it was studied by the test-retest method. It was used to check whether celiac patients respond with the same answers to two time-lagged administrations. This reproducibility was estimated by calculating the intra-class correlation coefficient (ICC) with a value greater than 0.4 (Auquier & Robitail, 2001). It was also evaluated using Pearson correlations and the Student t-test. Internal consistency was determined by calculating the Cronbach  $\alpha$  whose value should exceed 0,7 in order to have a good internal

consistency (Nunnally & Bernstein, 1978). The percentage of answers to all questions in the instrument was used to measure feasibility (acceptance, ceiling effect, and floor effect).

#### **2.4. Psychometric evaluation and validation of M-CD-Q through a generic instrument**

The psychometric parameters were assessed by the validated specific version of M-CD-Q using a generic instrument. This instrument correspond to the Medical Outcome Study-Short Form-36 (MOS SF-36 or SF-36) (Grawitz, 1993), which was validated in Arabic by Sabbah et al. (2003) and used in some studies in Morocco (El Emrani et al., 2016 ; Khoudri et al., 2007). The SF-36 is the "gold standard" of the most widely used generic instruments, which was developed by Ware and Sherbourne in 1992 in the United States (Grawitz, 1993). It consists of 36 items subdivided into eight subscales (Physical Functioning, Role Physical, Bodily Pain, General Health, Vitality, Social Functioning, Mental Health, and Role Emotional). The Scores for each item range from 0 to 100 points. A high total score reflects a high HRQoL, while a very low total score indicates a poor HRQoL. Two summary scores (Physical Health Status (PCS) and Mental Health Status (MCS)) have also been calculated. The convergent validity between CQ-Q subscales and SF-36 subscales was assessed using Pearson's correlation ( $r > 0.4$ ) (Gandek & Ware, 1998).

#### **2.5. Adherence to gluten-free diet and discriminant validity**

Celiac patients were subdivided into two groups. The first group included newly diagnosed adult celiac patients who were not yet following the gluten-free diet (GFD). The second group included adult celiac patients who had already been diagnosed and were following the GFD. The assessment of the adherence to GFD made it possible to determine the discriminant validity by comparing the group following GFD and the one not yet under this diet. The questionnaire also allowed the evaluation of patient's adherence to GFD.

#### **2.6. Calculate dimension scores and overall index score**

The CD-Q scales range between 1 and 7. The dimension scores and overall index score were transformed to a scale of 100 according to the following formulas:



Dimension score = (((sum of scores for all questions within the dimension) – lowest possible dimension score) / dimension score range) \* 100;

Overall index score = ((sum of dimension scores) / 4) for CD-Q;

Overall index score = ((sum of dimension scores) / 8) for SF-36.

Dimension and overall scores range from 0 to 100, where 0 indicates poorest QoL and 100 indicates highest quality of life.

## **2.7. Statistics**

The difference was considered significant when p-value is less than 0.05. The analysis of the collected data was performed using SPSS software - Statistical Package for Social Software Sciences for Windows (SPSS version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ETATS-UNIS)- and IBM SPSS AMOS (Analysis of Moment Structures) version 22 (Amos Version 22.0, IBM SPSS, Chicago, IL, USA). The Levene test was used to verify the conditions of variance homogeneity, and normality was tested by the Kolmogorov-Smirnov test. Quantitative variables with a normal distribution were reported as median (Standard Definition (SD)). Their analysis was done by parametric tests (Student's t-test, ANOVA). Using non-parametric tests (Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis), the quantitative variables with an abnormal distribution were expressed as median (Interquartile Range (IQR)). The association between the qualitative variables was analysed by the Chi-square test or the Fischer test. The correlation between variables was analysed using Person test. The logistic regression analysis allowed us to know the relationship between the reduction of HRQOL and the examined variables. In addition, the studied psychometric properties of the Moroccan Arabic version are acceptability (% missing data), floor effects (highest scores), ceiling effects (lowest scores), reliability (internal consistency and reproducibility), and discriminant validity. The difference in scores between celiac patients following GFD and those without diet (at diagnosis) was used to determine the validity of the concomitant discriminatory criterion.

Confirmatory Factor Analysis (CFA) was used to determine construct validity. The Kaiser Meyer Olkin test ( $KMO > 0.5$ ) and the Bartlett sphericity test ( $p < 0.05$ ) were calculated to check the possibility of factorizing the data (Galtier, 2003). Each item must represent a community greater than 0.5 to be included in CFA. During the application of CFA, factors with an Eigen value greater than or equal to 1 have been maintained. An orthogonal rotation (Varimax) was applied when the correlation between items is less than 0.3 (Galtier, 2003). The model fit has been studied by the calculation of Root Mean Square Residual ( $RMSR < 0.08$  : acceptable fit) and by Chi-squared test ( $p < 0.05$ ) (Schermelleh-Engel et al. 2003).

### **2.8. Ethic, authorization and approval**

During the study, the anonymity of each celiac patient was considered according to recommendations of the Declaration of Helsinki. Permission to use the original version (CD-Q) was granted by the developer of the instrument obtained by e-mail from the correspondent author. The study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine and Pharmacy of Marrakech (Number 029/2020).

## **3. Results**

### **3.1. Translation, cultural adaptation, and semantic evaluation**

During the translation of the original version of the CD-Q, a discussion was held between the members of the translation committee about the most appropriate type of version to be used. There was a choice to use two versions of the questionnaires, one for women and another for men separately; or one common version for both genders. The translation committee judged that the latter version was most practical and more adequate. It contains words in brackets that are suitable for both sexes. Therefore, alphabets have been added in brackets to some verbs in Arabic to show that the question is also intended for the female gender. In addition to this, the Arabic translation of "celiac disease" is translated as "disease of digestive dysfunction".

This does not make it possible to know the disease by celiac patients themselves. However, in the Moroccan culture, several words from the French language are frequently used. The word

"celiac" in French is generally the most widely used in Morocco. Thus, the word "cœliaque" has been retained in the final version.

### 3.2. Reliability (Internal consistency & Reproducibility)

Before distribution of the final version, a questionnaire reliability study was conducted on 16 celiac adults. The Cronbach's alpha calculation ( $\alpha=0.76$ ) showed a good internal consistency. All items had Cronbach's values above 0.7. The item concerning sexual activity has the lowest value and its suppression increased the Cronbach's value to 0.80. The questionnaire was redistributed to the same patients 7 days after the first distribution. Reproducibility was studied using a retest. Reproducibility was considered as acceptable using either intra-class coefficient (ICC), Pearson correlation, or Student t-tests. The values of ICC and r Pearson's correlation were above 0.4. The p-values of Student test were greater than 0.05. As shown in **Table 15**, the reproducibility was significant for the total scores as well as for the different dimensions.

**Table 15. CD-QoL scale reproducibility (n = 16 participants).**

	Score			Pearson Correlation		Intraclass Correlation Coefficient	
	Test Mean (SD)	Retest Mean (SD)	p+	Correlation	P	ICC	p
<b>Emotion</b>	3.93(0.78)	4.02(0.68)	<b>0.73</b>	0.598	<b>0.014</b>	0.744	<b>0.006</b>
<b>Social</b>	4.10(1.52)	4.36(1.09)	<b>0.58</b>	0.896	<b>0.016</b>	0.933	<b>0.005</b>
<b>Worries</b>	3.66(1.07)	3.95(0.92)	<b>0.42</b>	0.925	<b>&lt;0.001</b>	0.956	<b>&lt;0.001</b>
<b>Gastrointestinal</b>	5.36(1.21)	4.74(0.86)	<b>0.64</b>	0.914	<b>&lt;0.001</b>	0.926	<b>&lt;0.001</b>
<b>Total</b>	4.25(0.88)	4.27(0.55)	<b>0.98</b>	0.965	<b>0.002</b>	0.948	<b>0.003</b>

**ICC** : Intraclass Correlation Coefficient ; **SD**: Standard deviation ; + : based on the Student's t-test

### **3.3. Socio-economic and demographic characterisation of sample**

The study was initially intended for 150 celiac adults, only 112 of whom completed the questionnaire with a response rate of 74.66%. The majority were female (83.9%) and living in urban area (83.9%). The mean age of the respondents was  $40.25 \pm 2.25$  years (range: 18-63 years). The age group between 26 and 40 years old was the most represented (48.6%). The average body mass index was  $22.45 \pm 3.73$ . Thus, 64.2% of the respondents had normal nutritional status and 20.2% were obese. Approximately, two thirds of patients had an academic level and 24,3% of them had no medical insurance. Half of the patients were single and living with their families. The typical clinical form of the disease was predominant (79.3%) and CD was noticed in family members among 21.6% of the sample. A large majority of patients (88.40%) reported good adherence to GFD (**Table 16**).

### **3.4. Psychometric properties of M-CD-Q**

#### **3.4.1. Acceptance, ceiling effect, and floor effect of M-CD-Q**

Questionnaire acceptance of M-CD-Q was assessed by the percentage of item missing. Among all items (n=28) of the questionnaire, 21 had less than 5% of missing data, and four items had between 5.4% and 9.8% of missing data, and only one item had no missing data. The item related to sexual activity contains 37.5% of missing data, which was mainly noticed among single patients. About the four subscales of the M-CD-Q, the percentage of missing data was less than 5% in the subscales of emotion, worries, and gastrointestinal with 2.17%, 2.93%, and 4.21% respectively. However, this percentage was estimated at 8.80% in the social problems' subscale. The overall percentage of missing questionnaire data was 4.52% (**table 17**). Floor effect of the present study was zero for two subscales (Emotion & Gastrointestinal) and equal to 0.89% for the other two subscales (Social & Worries). Ceiling effect was also zero for two subscales (Emotion & Worries), 3.57% for gastrointestinal subscale, and 4.46% for social subscale. The overall floor and ceiling effect tended towards zero (**Table 17**).

**Table 16. Socio-economic, demographic and medical characterisation of the study sample (n=112)**

<b>Characteristics</b>	<b>Category</b>	<b>Number of Respondents (%)</b>
<b>Gender</b>	Female	<b>94(83.9)</b>
	Male	18(16.1)
<b>Place of residence</b>	Urban	<b>97(86.6)</b>
	Rural	15(13.4)
<b>Age(Year)</b>	<b>40.25 ±2.25</b>	
<b>Age category</b>	[18-25 years]	32(29.4)
	]25-40 years]	<b>53(48.6)</b>
	Over 40 yeas	24(22.0)
<b>BMI (kg/m2)<sup>2</sup></b>	22.45±3.73	
<b>BMI category</b>	Underweight	17(15.6)
	Normal	<b>70(64.2)</b>
	Risk of obesity/Obesity	22(20.2)
<b>Educational level</b>	Illiterate	4(3.6)
	Primary	7(6.3)
	Secondary	29(26.1)
	University degree bachelor	<b>53(47.7)</b>
	University degree Master	18(16.2)
<b>Marital status</b>	Single	<b>62(55.9)</b>
	Married	45(40.9)
	Divoced	4(3.6)
<b>Living condition</b>	Family	<b>58(57.7)</b>
	Alone/partner	50(46.3)
<b>Medical insurance</b>	Without medical insurance	<b>27(24.3)</b>
	Private	11(9.9)
	National social security fund	21(18.9)
	National fund for social welfare organizations	30(27.0)
	Medical assistance regime	22(19.8)
<b>Having CD in family</b>	No	<b>87(78.4)</b>
	Yes	24(21.6)
<b>Manifestation of CD</b>	Typical form	<b>88(79.3)</b>
	Atypical form	23(20.7)
<b>GFD adherence</b>	Yes	<b>99(89.2)</b>
	No	12(10.8)

### **3.4.2. Internal consistency of M-CD-Q**

Base on the overall score of Cronbach' alpha equal to 0.863 (>0.7), the internal consistency of M-CD-Q was considered good. The Cronbach' alpha values applied to the four subscales

(Emotion, Social problems, Gastrointestinal, and worries) were 0.621, 0.79, 0.768 and 0.675 respectively (**Table 17**).

### **3.5. Confirmatory Factor Analysis & Model fit (Construct validity)**

Kayser Meyer Olkin's test value was 0.72 ( $KMO > 0.5$ ) and Bartlett's sphericity test value was 0.025 ( $p < 0.05$ ), thus, these values were used to factorise the data. The Confirmatory Factor Analysis (CFA) application showed that all items represented communalities greater than 0.5. With the exception of the item related to difficulties encountered in recreational or sport activities, for which the lowest communalities had a value around 0.50. The results obtained from the evaluation of model fit through SPSS AMOS showed that this instrument represents a good model fit, with a root mean square error of approximation (RMSEA) equal to 0.075 ( $< 0.08$ ) and the chi-square equal to 557.492 with degrees of freedom equal to 344 and probability level lower than 0.001.

### **3.6. Scores of Moroccan celiac disease questionnaire (M-CD-Q)**

The application of M-CD-Q in celiac adult patients made it possible to calculate the total score as well as the subscale score. The overall score was  $53.41 \pm 14.65$ . This shows that the QoL of celiac patients was neutral. It was remarkable that the worries and emotion subscale scores had the lowest bias ( $42.25 \pm 4.25$  and  $45.78 \pm 11.14$  respectively) causing a poor QoL in these subscales. The other subscales (Social and Gastrointestinal) show a neutral QoL with averages of  $58.95 \pm 23.09$  and  $65.88 \pm 19.16$  respectively (**Table 17**).

### **3.7. Convergent validity (M-CD-Q vs. MOS SF-36)**

We explored the relationship between the subscales of CD-Q and the related conceptual dimensions of the MOS-SF36. All correlation coefficients were non-significant ( $r < 0.4$ ;  $p > 0.05$ ), while the correlation coefficient between social functioning (SF) and emotions and between mental health (MH) and social were significant ( $r < 0.4$ ;  $p > 0.05$ ). The QoL assessment score using the generic SF-36 method was higher than that for the specific CD-Q method.

**Table 17. Psychometric properties and Scores of the Moroccan version of Celiac Questionnaire (M-CD-Q)**

Properties	Measure	CDQ Overall	Emotion	Social	Worries	Gastrointestinal
<b>Data quality</b>						
<i>Floor effect</i>	% of patients scoring at the lowest score	<b>0.00%</b>	<b>0.00%</b>	<b>0.89%</b>	<b>0.89%</b>	<b>0.00%</b>
<i>Ceiling effect</i>	% of patients scoring at the highest score	<b>0.00%</b>	<b>0.00%</b>	<b>4.46%</b>	<b>0.00%</b>	<b>3.57%</b>
<i>Missing of data</i>	% items missing	<b>0.00-37.5%</b>				
	% of scales missing	<b>4.52%</b>	<b>2.17%</b>	<b>8.80%</b>	<b>4.21%</b>	<b>2.93%</b>
<b>Scaling assumptions</b>						
Internal consistency	Cronbach alpha	<b>0.863</b>	<b>0.621</b>	<b>0.790</b>	<b>0.675</b>	<b>0.768</b>
Item internal consistency	% of items with Pearson item-scale correlation $\geq 40\%$	<b>100%</b>	<b>57.14%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>
<b>Scores</b>						
	Mean (sd)	<b>53.41(14.65)</b>	<b>45.78(11.14)</b>	<b>58.95(23.09)</b>	<b>42.92(19.89)</b>	<b>65.88(19.16)</b>
	Median (25th–75th)	<b>54.54(43.90-63.62)</b>	<b>46.62(40.48-52.38)</b>	<b>59.08(44.28-77.69)</b>	<b>41.33(28.57-57.14)</b>	<b>64.62(51.89-83.33)</b>
	Min–max	<b>10.71-83.33</b>	<b>11.90-78.57</b>	<b>0.00-100.00</b>	<b>0.00-95.24</b>	<b>11.90-100.00</b>

**SD:** Standard deviation

Model fit is good through SPSS AMOS: **Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA) = 0.075 and  $\chi^2 = 509.04$ ,  $p < 0.001$**



### **3. 8. Influence of socio-economic, demographic and medical characteristics of sample study on the scores of M-CD-Q**

Age category, gender, nutritional status, living condition, and type of CD manifestations had no influence neither on the total scores nor on the scores of the four subscales assessing quality of life. However, this quality was poor in rural areas compared to urban areas ( $41.30 \pm 14.25$  vs.  $55.28 \pm 13.86$ ,  $p < 0.001$ ). Quality of life was also poor amongst patients without medical insurance ( $45.96 \pm 16.97$  vs.  $55.90 \pm 13.09$ ,  $p = 0.002$ ) compared to those without. However, this factor did not influence the worries and emotion subscales ( $p = 0.115$  and  $p = 0.105$  respectively) (**Table 18**).

### **3. 9. Discriminant validity (Influence of GFD on the QOL of celiac adults)**

The convergent validity of this instrument has been evaluated through the adherence to GFD and the difference between the duration of GFD follow up. No significant differences in QoL scores were found between those who regularly adhered to the GFD and those who did not. Similarly, non-significant difference was noticed between newly diagnosed patients and those who have already been under diet. Moreover, the difference between patients following GFD for less than 2 years, 2 to 5 years, and more than 5 years was non-significant. Thus, GFD did not improve the QoL in celiac patients (**Table 18**).

**Table 18. Influence of socio-economic, demographic and medical characteristics of simple study on the scores of M-CD-Q.**

Characteristic	Emotion		Social		Worries		Gastrointestinal		Overall	
	Mean (SD)	p	Mean (SD)	p	Mean (SD)	P	Mean (SD)	P	Mean (SD)	p
<b>Age category</b>										
[18-25 years]	42.79(6.71)	0.386	49.57(21.03)	0.207	41.99(21.03)	0.914	65.83(20.86)	0.915	50.05(12.50)	0.604
[26-39 years]	46.52(12.46)		60.73(23.92)		42.35(23.92)		66.48(20.79)		54.02(15.99)	
Over 40 yeas	47.40(8.53)		22.08(4.71)		44.30(22.08)		64.51(17.85)		53.87(12.30)	
<b>Gender</b>										
Male	49.36(10.87)	0.148	53.36(23.34)	0.188	45.45(20.12)	0.558	62.30(21.49)	0.390	52.37(16.50)	0.745
Female	45.21(11.12)		60.21(22.94)		42.44(19.91)		66.56(18.733)		53.60(14.35)	
<b>Place of residence</b>										
Urban	46.99(10.82)	<b>0.006</b>	61.33(22.37)	<b>0.005</b>	44.15(20.05)	0.098	68,64(17.85)	<b>&lt;0.001</b>	55,28(13.86)	<b>&lt;0.001</b>
Rural	38.65(10.74)		43.55(22.40)		35.00(17.36)		48,00(19.86)		41,30(14.25)	
<b>Living condition</b>										
Family	45.97(12.42)	0.816	58.85(25.20)	0.975	44.01(21.27)	0.432	63.78(20.85)	0.316	53.15(16.26)	0.910
Alone/ partner	46.47(9.81)		58.99(22.07)		40.96(18.86)		67.49(17.37)		53,48(13.58)	
<b>Medical insurance</b>										
No	43.10(9.93)	0.105	46.98(27.57)	<b>0.002</b>	37.54(21.09)	0.115	56.23(20.92)	<b>0.002</b>	45.96(16.97)	<b>0.002</b>
Yes	47.04(11.16)		62.87(20.30)		44.49(19.37)		69.24(17.49)		55.90(13.09)	
<b>Nutritional status (BMI category)</b>										
Underweight	42.79(6.710)	0.386	49.57(21.03)	0.207	41.99(20.86)	0.914	65.83(17.65)	0.914	50.05(12.50)	0.604
Normal	46.52(12.46)		60.73(23.92)		42.35(20.79)		66.48(20.39)		54.02(15.99)	
Obesity	47.40(8.54)		59.27(22.08)		4.031(17.85)		64.51(15.15)		53.88(12.30)	
<b>Manifestation of CD</b>										
Typical form	45.10(10.63)	0.065	58.65(23,84)	0.757	43.03(20.53)	0.807	65,06(19.04)	0.274	52.96(15.06)	0.462
Atypical form	49.83(11.66)		60,34(20,91)		41.88(17.86)		69.97(19.37)		55.51(13.27)	
<b>GFD adherence</b>										
Yes	45.70(11.10)	0.298	59.80(23.08)	0.299	43.20(19.91)	0.539	66.6543(18,69)	0.363	53.84(14.55)	0.472
No	49.21(9.59)		52.41(24.03)		39.44(20.71)		61.3100(22.73)		50.59(16.18)	
<b>GFD duration</b>										
[At diagnosis - 2 years]	48.48(10.99)	0.147	56.78(20.74)	0.721	42.08(17.89)	0.719	66.02(18.01)	0.593	53.34(13.07)	0.997
]2-5years]	45.77(11.61)		57.20(27.82)		41.35(21.77)		67.95(21.46)		53.07(17.83)	
Over 5 years	43.29(10.14)		61.16(20.98)		45.42(22.13)		62.76(18.74)		53.16(14.85)	

#### **4. Discussion**

During the adaptation and validation of the Questionnaire used in this study, the following psychometric properties, including internal consistency, reproducibility, acceptance, floor effect, and ceiling effect were considered acceptable, allowing the final version (M-CD-Q) to Moroccan adult patients with CD. Linked to these psychometric properties, similar good results were previously reported during the development or adaptation of different instruments used to evaluate the QoL in adults with CD (Guennouni et al., 2020). The fit model in this study would be considered good. It retained the original questionnaire structure by subdividing the 28 items into four subscales.

The total scores obtained during this study show that the QoL of celiac patients was neutral, while it was worse during the development of the original version of CD-Q in Germany (Huuser et al., 2007). A similar reduced QoL was observed during the validation of this instrument in Brazil (Pratesi et al., 2018). This QoL was mediocre in France (Pouchot et al., 2014), in Poland (Zysk et al., 2018), in Turkey (Aksan et al., 2015), and in Iran (Barzegar et al., 2018). Only an Italian study displayed a good QoL using the same instrument (Marchese et al., 2013). Using other specific instruments, the QoL of adult patients with CD was generally either poor or neutral (CD-QoL or CDQL) (Guennouni et al., 2020a).

In the present study, gender, age, and education had no general influence on QoL in celiac patients, which is in accordance with several other studies using similar specific instruments (Marchese et al., 2013; Pouchot et al., 2014; Aksan et al., 2015). Our study showed that the living area influences the QoL (low and poor in rural area). This may be explained by the fact that patients living in rural areas have more difficulty in accessing health care. In Morocco, CD is generally diagnosed at the university hospital centers. Therefore, this makes access to adequate medical centers more difficult for people living in rural areas, hence a delay in the diagnosis of the disease. Furthermore, most gluten-free products are generally available in supermarkets existing only in cities. This increases the burden on these families in terms of

traveling to the sales outlets. The second factor influencing the QoL of our celiac patients is related to medical insurance; those without medical insurance had lower QoL. In fact, the lack of medical insurance reduces the frequency of consultations and the capacity of purchasing medicines and other supplies.

On the other hand, in Morocco, gluten-free products are not reimbursed by medical insurance and patients with CD do not receive any subsidy and do not benefit from any price reduction, while some countries do reimburse these products. In other countries, celiac patients receive direct subsidies, eg. Italy and Greece (Celiac Disease Foundation, 2018; Panagiotou and Kontogianni, 2017), or direct food without gluten supply, eg. Spain (Asociación de Celiacos de Extremadura, 2015), price reduction, eg. United Kingdom (Coeliac UK, 2019), tax deductions, eg. United States of America and Ireland (Coeliac society of Ireland, 2019) (Department of the Treasury Internal Revenue Service of USA, 2019), or Reimbursement, eg. France (Association Française Des Intolérants Au Gluten, 2019). These strategies give patients the confidence that their country is helping them and considers their suffering.

Early diagnosis of CD and GFD follow-up has led to improved health-related quality of life of celiac patients in several studies (Zysk et al., 2018; Aksan et al., 2015; Khoshbaten et al., 2012; Skjerning et al., 2017; Zingone et al., 2013). However, in the present study, there was no difference in QoL scores between patients who regularly adhered to GFD and those who did not adhere regularly. This goes in line with the study conducted by Marchese et al. (2013) in Italy. Also, the duration of GFD did not improve the QoL of these patients. This shows that in Morocco, the effectiveness of the GFD on the QoL of patients is still limited. Such observations are also correlated with lowest subscale scores related to worries, indicating poor quality of life. This subscale includes the items assessing the QoL, which is linked to the gluten-free diet and gluten-free products. The low availability and exorbitant prices make access to these products rather difficult in Morocco. This influences negatively the adherence to GFD.

## **5. Conclusions**

No difficulties were noticed when translating and adapting the original CD-Q version into the Moroccan Arabic version (M-CD-Q). The study of the psychometric properties showed that this instrument is reliable and valid (good acceptability, ceiling effect and floor effect zero, internal consistency > 0.7, and excellent reproducibility) and the model fit was good, allowing the preservation of the structure of the original questionnaire version. The M-CD-Q version led to the conclusion that the QoL of adult patients with CD in Morocco was neutral, and that this QoL was poor in rural areas, and among people without medical insurance. The QoL was worse in the items related to gluten-free diet and gluten-free products. In addition, there was no significant differences between celiac patients under GFD and those without. Consequently, it is necessary to intervene on the factors that can influence the improvement of the QoL of Moroccan celiac patients. This underlines the importance of facilitating access to gluten-free products at an appropriate price. In addition, it is essential to raise awareness about this disease through the mass media and social networks, allowing people to more understand the disease and to make celiac patients more integrate in the society.

### **Supplementary Materials:**

- **Supplementary Materials (Annex 8):** Moroccan Arabic version of CD-Q (M-CD-Q)
- **Supplementary Materials (Annex 9):** Generic Celiac Disease Questionnaire for the Assessment of Quality of Life in Celiac Children SF-36.

### **Acknowledgments:**

We would like to express our sincere gratitude to Mrs. ELAOURI Zahra and Mr. MARRAH Abdelkader, professors of English (specialized in translation) from the Faculty of Letters and Human Sciences at Cadi Ayyad University of Marrakech; to Mr ABOUAZZA Houcien, and ABOUISSABA Abir, English teachers for their help in translation. Our thanks also go to the leaders of the Moroccan association of gluten intolerant and allergic people (AMIAG) and the national BASMA association of celiac diseases and wheat allergies. In addition, we would like to thank the dieticians and gastroenterologists affiliated to the Gastroenterology department at Mohamed VI University Hospital of Marrakech.

**CHAPITRE 3 :**

**Disponibilité, Prix Et Qualité  
Nutritionnelle des Aliments Sans Gluten**

**A/ Disponibilité & Prix des ASG**

**B/ Qualité Nutritionnelle des ASG**

## **A/ Disponibilité et Prix des aliments agro-alimentaires sans gluten**

## **Disponibilité et coût des produits sans gluten dans les supermarchés et les plateformes de commerce électronique marocains**

La prévalence de la maladie cœliaque (MC) augmente de façon alarmante. Le seul traitement efficace de cette maladie est un régime sans gluten (RSG) strict. Des efforts ont été faits par les industriels pour produire des produits sans gluten (PSG) ; cependant, leur faible disponibilité et leur coût élevé, par rapport aux produits contenant du gluten (PCG), restent parmi les facteurs d'échec de l'adhésion au régime sans gluten. L'objectif de cette enquête est de comparer la disponibilité et le coût des produits sans gluten dans les supermarchés de deux villes marocaines, Marrakech et Casablanca, et sur les plateformes de commerce électronique, et de voir comment ils se comparent aux produits contenant du gluten. Il s'agit d'une étude transversale qui cible les supermarchés et les sites web de commerce électronique qui vendent des PSG et leurs équivalents PCG. Le prix de chaque produit est enregistré par 100g. L'étude a porté sur 271 PSG et leurs équivalents (579 PCG), qui ont ensuite été divisés en six catégories. La catégorie "Biscuits et gâteaux GF" est arrivée en tête de liste des produits. Les PSG étaient plus disponibles sur les sites de commerce électronique que dans les supermarchés de deux villes marocaines ( $p=0,003$ ). Les PSG sont 364% (115% - 1309%) plus chers que leurs homologues PCG. De même, nous avons enregistré une différence de prix significative entre les PSG vendus dans les supermarchés et ceux vendus sur les sites en ligne. Cette étude révèle que les PSG labellisés sont moins disponibles et plus chers que leurs équivalents PCG au Maroc. Cela affecte l'adhésion au RSG et la qualité de vie des patients cœliaques. Les patients qui utilisent les PSG ont besoin d'une compensation financière de la part du gouvernement national.



## **Research paper**

### **Availability and Cost of Gluten-free Products in Moroccan supermarkets and e-commerce platforms**

#### **Abstract**

**Purpose:** the prevalence of celiac disease (CD) is increasing alarmingly. The only and effective treatment for this disease is a strict gluten-free diet (GFD). Efforts have been made by industrialists to produce gluten-free products (GFPs); however, their low availability and high cost, compared to gluten-containing products (GCPs), still remain among the factors that cause gluten-free adherence failure. The objective of this survey is to compare the availability and cost of gluten-free products in supermarkets in two Moroccan cities, Marrakech and Casablanca, and on e-commerce platforms, and see how they compare to gluten-containing products.

**Design/methodology/approach:** This is a cross-sectional study that targets supermarkets and e-commerce websites that sell GFPs food and their GCPs equivalents. The price of each product is recorded per 100g.

**Finding:** The study surveys 271 GFPs and their 579 GCPs equivalents that were subsequently divided into 6 categories. The “GF Cookie and Cakes” category came on top of the list of products. GFPs were more available on e-commerce websites than at supermarkets in two Moroccan cities ( $p=0.003$ ). The GFPs are 364% (115% - 1309%) more expensive than their GCPs counterparts. Also, we recorded a significant price difference between GFPs sold in supermarkets and those sold on online.

**Originality/value:** This study reveals that labelled GFPs are less available and more expensive than their equivalents GCPs in Morocco. This affects GF diet adherence and quality of life of celiac patients. The patients who use GFPs products need financial compensation from the national government.

**Keywords:** Coeliac disease, Availability, Cost, Gluten-free diet, Gluten-free Product.

## 1. Introduction

Cereals contain Gluten which is a protein that consists mainly of prolamin and glutelin (Wieser, 2007). A fraction of prolamin is soluble in alcohol and causes, to a predisposed person, to develop certain diseases such as celiac disease (Comino et al., 2011). This one is the most widespread and is caused by permanent intolerance to wheat prolamins (gliadin), barley (ordeine) and rye (secaline). It is an autoimmune chronic bowel disease that affects about one percent of the world's population (Kang et al., 2013). In Morocco, the prevalence of celiac disease remains unknown with an increase in the number of new cases per year (El Fakiri et al., 2016).

The treatment of celiac disease is entirely based on the total avoidance of foods that contain gluten. The GFD is the only and effective treatment available (Armstrong et al., 2009). Thus successful treatment requires lifelong adherence to the GFD. Sticking to a strict treatment has an important impact on the quality of life in celiac patients (White et al., 2016). However, a lot of barriers limit absolute adherence to the GFDs, mainly their availability in the marketplaces, high prices and labelling of GFPs (Frcpc, 2014). Low availability and high prices of gluten-free food (GFF) have a negative impact on GFD compliance (Arias-Gastelum et al., 2018). Hence the need to implement the necessary measures to enable patients to purchase GFPs at reasonable prices. The GFF could be either organic (e.g. fruit, vegetables, unprocessed meats, dairy products, fish and poultry) or industrial foods labelled GF, in which gluten-containing grains are indirectly replaced by other GF grains (e.g. hydro-colloids, white's egg protein) (Capriles and Arêas, 2014). During the production of GF- labelled foods by industries, a set of standards must be respected: the most important one is that the product must not contain gluten, or, in some cases, must not exceed 20 ppms (Commission Regulation, 2009).

Over the past decade, the increase in consumers of GFF has allowed the GF industry to benefit from a significant growth (Cureton and Fasano, 2009). Despite this colossal increase of GFPs

in developed countries, their availability and cost are still, to this day, beyond the purchasing power of the overwhelming majority of consumers. Several authors and have written in various articles about the shortage and high cost GFPs. Most of these studies were carried out in the UK (Singh and Whelan, 2011; Allen and Orfila, 2018; Fry et al., 2018), and the rest were conducted in other European countries such as Greece (Panagiotou and Kontogianni, 2017). Others were carried out both in North and South American countries (Estévez et al., 2016; Lee et al., 2007; Oyarzún et al., 2016; Carla Johana Guirín et al., 2015; Castillo L and Rivas C, 2008; Bagolin do Nascimento et al., 2014; Kulai and Rashid, 2014). Unfortunately, studies of the sort are rare in Arab countries, the most recent one was a survey in the United Arab Emirates (Abdulla and Garemo, 2018). In Morocco, to the best of our knowledge, such survey has never been carried out.

As a result, availability and price are the most important issues for GFPs consumers. Now that the context is clear, the framework for this research is to assess the availability and cost of GFPs compared to their GCPs equivalents. The survey is carried out in supermarkets in two major Moroccan cities as well as on online shopping sites.

## **2. Scope and Methodology**

The purpose of this study is twofold. On the one hand, examine the availability of GFPs, and on the other, compare the price of GFPs to their GCPs counterparts. The methodology followed has been used in several studies (Singh et Whelan, 2011)(Burden et al., 2015). This cross-sectional survey is conducted in supermarkets and online food selling websites. Sampling consisted of GFPs and their equivalents GCPs. These products must be packaged and labelled accordingly. The labelling will contain all the necessary information that we will need to process in our study. As part of the study, a visit permission has been granted by a staff member from each of the premises visited.

## **2.1. Data collection**

### **2.1.1. Survey procedure**

This cross-sectional survey was conducted between July 2018 and March 2019. The data are collected from the premises of the sale of GFPs and GCPs (supermarkets and websites). The collected data contain the name of the producer, name of the product, price and net weight. The causes for the exclusion of certain foods are , on the one hand, due to the existence of more than one brand for a duplicate product, so we excluded the most expensive ones, and on the other hand, we pick only one product if the same product exists in different weight forms.

### **2.1.2. Place of survey**

A thorough search on Google search engine (Based in Morocco) is carried out to locate the sales centers and selling websites of GFPs. Other premises are determined through interviews with celiac patients, others through the Moroccan association of Gluten Intolerance and allergies (AMDIAG), and through The National Association of celiac diseases and wheat allergies (BASMA) and health-related personnel to CD. Supermarkets and online retailers have been identified. Supermarkets in Casablanca (the economic capital of Morocco) and Marrakesh are selected for this study. These supermarkets dominate the sales market in Morocco with an overall turnover in 2009 that exceeded 15,1 billion Dirhams ( Conseil de la concurrence, 2011). It is worth mentioning though that some supermarkets have been excluded from the survey because celiac consumers have difficulties accessing them. Also, Several websites were identified, but later excluded. The main reason behind this exclusion goes to the limited number of GFPs on sale, as that hugely depends on the distribution area that the website covers. Note that the shipping price is not included in the registered price.

### **2.1.3. Food categories**

In Morocco, there is no law regulating how to group food. So, the grouping of products was done according to the Codex Alimentarius GSFA's food category (FAO, 2019). Several conditions were applied when selecting the product samples. Also, we had to compare GFPs to

their counterparts GCPs, mainly whether or not they have the same characteristics. As for the grouping, the 271 foods are grouped into six categories. The same approach is applied when dividing 579 GCPs into 6 categories.

#### **2.1.4. Availability and cost calculation**

Methodology for calculating GFP availability followed the method used by several studies (Singh and Whelan, 2011; Burden et al., 2015):

Product : Availability rate by-product= (number of GFP available per supermarket/ total of GFP available in all the stores that this study focuses on)\*100, and Category : Availability rate by-category = (number of categories with at least one GFP available in a single store/ total of food product categories)\*100

The price assessment for each product was done by choosing the lowest price for each GFP and its counterpart GCP. The price of all food products is indicated in local Moroccan currency MAD (Moroccan Dirham), then converted to the European Union currency € (Euro). Therefore, you'll see it displayed as €/100g.

#### **2.2. Statistical analysis**

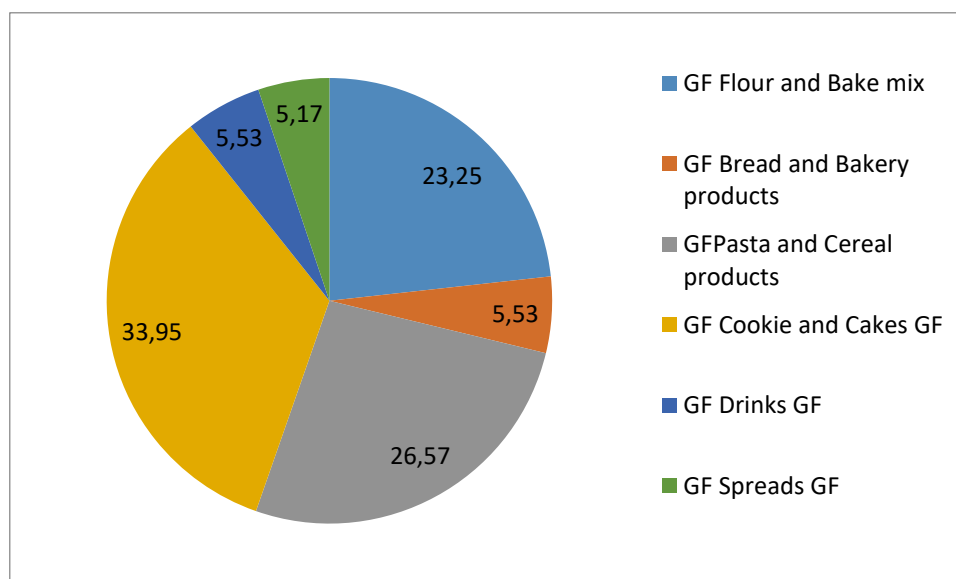
Data from the survey are analyzed using SPSS- Statistical Package for Social Sciences Software for Windows (SPSS version 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ETATS-UNIS)-. The difference is considered significant if  $p < 0.05$ . The normality of the data are examined by the Kolmogorov-Smirnov test or the Shapiro-Wilk test according to the sample size. The first test is more appropriate for large sample sizes. Whereas, the second test is more appropriate for small sample sizes. The homogeneity of variances was examined by the Levene test. Comparison between the prices of products was made according to the normality of the data and the homogeneity of the variances of variables. Variables with normal distributions were reported on average (SD) and compared with the Student test for independent samples and the ANOVA test with the Bonferroni correction. While the variables with abnormal distribution were

indicated in median (IQR) and compared with the Mann-Whitney U test and the Kruskal-Wallis test. The comparison between the qualitative variables was made according to the Exact Fischer test or the Khi-Two test. The latter is used when one or a few cells have very small expected occurrences.

### 3. Résultats

#### 3.1. Availability of gluten-free products

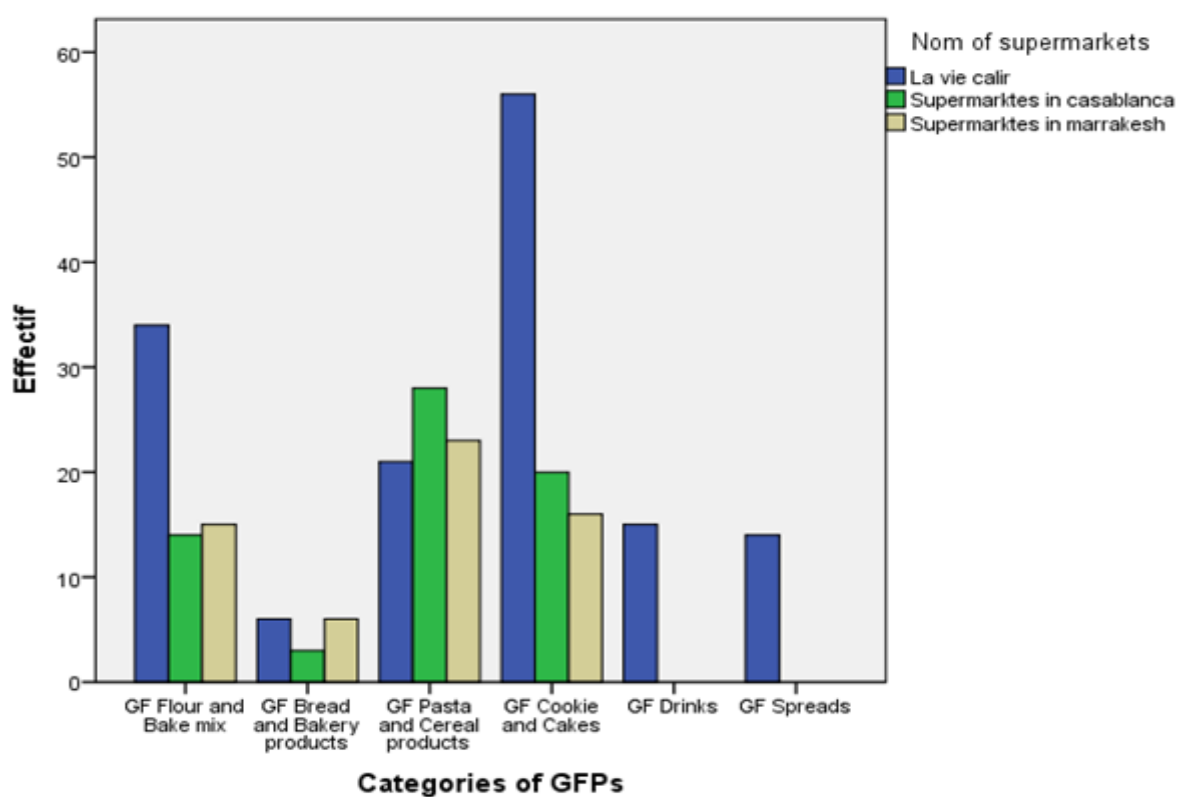
The total number of GFPs identified in the various supermarkets and e-commerce platforms reached 271. The category of “Gluten-Free(GF) Cookies and Cakes” is the most represented by more than one-third by 92 GF (33.95%), followed by the category of “GF Pasta and Cereal products” by a number of 72 GF (26.57%). The categories of “GF Drinks”, “GF Spreads” and “GF Bread and Bakery products” are the least identified by a prevalence of 5.17%, 5.53% and 5.53% respectively (**Figure 15**).



**Figure 15 The prevalence (%) of gluten-free products by categories identified in supermarkets and online selling platform**

All the categories that the study examines are available online at 100% (6/6). However, the prevalence of this availability was 66.67% for supermarkets in Casablanca and supermarkets in Marrakech (4/6 for each supermarket). No significant differences were noted regarding the availability of GF categories in supermarkets either in Marrakech or Casablanca ( $p=0.649$ ;

Fisher exact test). Therefore, it was significant among the categories of supermarkets of the two cities and online selling platforms ( $p=0,003$ ; Fisher exact test). The websites had several items of GFPs compared to supermarkets in the two cities. “GF Spreads” and “GF drinks” are only available on websites, but supermarkets in both cities lacks either. The availability on websites for the “GF Flour and Bake mix” category and the “GF Cookie and Cake” category exceeds more than half the availability in both supermarkets in both cities (**Figure 16**). It is important to note that 91,14% of GFPs are manufactured abroad while local GFPs do not exceed 8,56%.



**Figure 16 Availability of gluten-free product categories in supermarkets, both in Casablanca and Marrakech, and online selling platforms**

### 3.2. Cost of gluten-free foods

The prices of the 271 GFPs were compared to the prices of the 571 GCPs equivalents for 100 g. A currency convert from MAD to EURO on the basis that 1 MAD=0,092 EURO; according to the official bank of Morocco “BANK AL MAGHRIB” (BANK AL MAGHREB, 2019).

### **3.2.1. Cost of gluten-free foods and regular products equivalents**

**Table 19** shows the results that this comparison yielded. It shows that GFPs are 364.0% more expensive than their GCPs counterparts with a significant difference of  $p < 0.0001$ . The difference is highly significant for all categories (115.0% - 1309.0%). The excess price is so high for the category of “Bread and Bakery Products” and the category of “GF Flour/bake mix” exceeding 1309.0% and 857.5 % respectively ( $p < 0.0001$ ). The excess price in GFPs from GCPs is 382.1% and 340.0% for the “Pasta and Cereal products” category and “Spreads” category, respectively. This excess price is less important for the category of “Cookies and Cakes” and “Drinks” of 115.0% and 165.8% respectively.

### **3.1.1. City of purchase**

After comparing the GFPs prices with the prices of their GCPs equivalents, another comparison was made regarding the price of GFPs in the supermarkets of the two cities (Casablanca and Marrakech). The result is that no significant differences were noted for all available categories in the two cities. The difference between the average of the categories of "GF Flour and Bake mix", "GF Bread and Bakery products", "GF Pasta and Cereal products" and “GF Cookie and Cake” for gluten-free products in the two cities are  $p = 0.894$ ,  $p = 0.714$ ,  $p = 0.670$  and  $p = 0.588$  respectively **Table 20**.

### **3.1.2. Cost of GFPs in e-commerce platforms and in supermarkets**

The comparison of GFPs prices in the two major cities compared to the GFPs prices offered on e-commerce websites shows a significant difference for the majority of the categories available; except for the category of “Bread and Bakery Products” where the difference was not significant ( $p = 0.508$ ). The difference for the category of “Pasta and Cereal products” is significant at  $p = 0.005$ , whereas this difference is highly significant for the other 2 categories ( $p < 0.0001$ ) (**Table 21**).



**Table 19 Price comparison between products labeled as Gluten Free and their regular equivalents per € /100g**

Products	Regular products (GCPs)					Gluten free products (GFPs)					p <sup>++</sup>	in excess
	N	Median	Q1	Q3	Q3-Q2	N	Median	Q1	Q3	Q3-Q2		
Flour and Bake mix	22	0,10	0,07	0,16	0,09	63	0,98	0,59	1,33	0,74	< 0,0001	857,494
Bread and Bakery products	40	0,12	0,09	0,21	0,12	15	1,73	1,16	2,32	1,16	< 0,0001	1309,06
Pasta and Cereal products	235	0,22	0,17	0,35	0,18	72	1,06	0,84	1,49	0,65	< 0,0001	382,14
Cookie and Cakes	218	1,23	0,80	1,72	0,92	92	2,64	2,07	2,95	0,89	< 0,0001	115
Drinks	46	0,12	0,10	0,13	0,02	15	0,31	0,27	0,40	0,14	< 0,0001	165,83
Spreads	18	0,79	0,55	0,91	0,36	14	3,48	3,04	4,62	1,58	< 0,0001	340,05
Total	579	0,32	0,17	1,04	0,87	271	1,48	0,84	2,57	1,73	< 0,0001	364,03

++ U-test of Mann-Whitney

**Table 20 Price comparison of gluten-free products in supermarkets between two cities per € / 100g**

GF products	N	GFP in Supermarkets A Casablanca City							GFP in Supermarkets B Marrakech City							p*
		n	median	Q1	Q3	Q3-Q2	Mean	SD	n	median	Q1	Q3	Q3-Q2	Mean	SD	
GF Flour and Bake mix	29	14	0,54	0,42	0,89	0,47	-	-	15	0,513	0,411	0,891	0,480	-	-	0,894 <sup>++</sup>
GF Bread and Bakery products	9	3	1,15	1,12	2,14	1,02	-	-	6	1,714	1,158	2,253	1,096	-	-	0,714 <sup>++</sup>
GF Pasta and Cereal products	51	28	0,96	0,73	1,24	0,52	-	-	23	0,874	0,666	1,216	0,550	-	-	0,670 <sup>++</sup>
GF Cookie and Cakes	36	20	-	-	-	-	1,870	0,640	16	-	-	-	-	1,812	0,765	0,588 <sup>+</sup>
GF Drinks	0	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-
GF Spreads	0	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-
Total	125	65	1,14	0,64	1,68	1,04	-	-	60	1,121	0,605	1,729	1,124	-	-	0,726 <sup>+</sup>

+ t- test for independent samples; ++ U-test of Mann-Whitney; \* Calculation based on normality and homogeneity of variances

**Table 21 Price comparison of gluten-free products between online selling platforms and supermarkets in two cities per €/ 100g**

GF products	N	GFP in Online					GFP in Supermarkets A Casablanca City					GFP in Supermarkets B Marrakech City					P*
		n	median	Q1	Q3	Q3-Q2	n	median	Q1	Q3	Q3-Q2	n	median	Q1	Q3	Q3-Q2	
GF Flour and Bake mix	63	34	1,20	0,92	1,48	0,56	14	0,54	0,42	0,89	0,47	15	0,51	0,41	0,89	0,48	<0,0001
GF Bread and Bakery products	15	6	1,88	1,56	2,30	0,74	3	1,15	1,12	2,14	1,02	6	1,71	1,16	2,25	1,10	0,508
GF Pasta and Cereal products	72	21	1,20	1,09	1,89	0,81	28	0,96	0,73	1,24	0,52	23	0,87	0,67	1,22	0,55	0,005
GF Cookie and Cakes	92	56	2,76	2,65	3,39	0,73	20	2,01	1,38	1,54	0,16	16	2,02	2,15	2,18	0,03	<0,0001
GF Drinks	15	15	0,31	0,27	0,40	0,14	0	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-
GF Spreads	14	14	3,48	3,04	4,62	1,58	0	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-
Total	271	146	2,28	1,15	2,94	1,79	65	1,14	0,64	1,68	1,04	60	1,12	0,60	1,73	1,12	<0,0001

\* : Test de kurskal-Wallis

## **4. Discussion**

### **4.1. Availability of gluten-free products**

Several authors and co-authors agreed that the availability and price of GFPs have an impact on good adherence to the diet. Improving the quality of life for GFPs consumers whose primary celiac patients are required to strictly adhere to GFD. This adherence requires a wide range of GFPs including industrial GFPs. However, the regular purchase of these products faces several obstacles, the most important of which are the high price and scarcity.

The results of this study confirms these barriers for both low availability and high prices. In this survey, the availability of GFPs is very low. This is the first survey to investigate the availability of GFPs in Morocco. This study shows a small amount of GFPs and a limited variety of categories of food products labeled and packaged without gluten in supermarkets and online selling websites. This low availability of GFPs was also observed by Lee et al.(Lee et al., 2007) and it was variable across sales locations. Foods without gluten were less available by 26.6%, 26.9%, 41%, and 42% compared to GCPs equivalents in Argentina, in Mexico, in Chile, and in the UK respectively(Carla Johana Guirín et al., 2015; Arias-Gastelum et al., 2018; Singh and Whelan, 2011; Estévez et al., 2016). In Brazil, low availability has affected all categories(Bagolin do Nascimento et al., 2014). The significant difference in the availability of GF pasta and bread in our research was consistent with that of Beatrice Allen and Caroline Orfila(Allen and Orfila, 2018). A huge difference was also reported for “GF Cereals and Cereals products” ( $p=0.05$ )(Oyarzún et al., 2016). Thus, the range of choice in supermarkets remains limited, even in supermarkets of the largest city of Casablanca - the economic capital - the availability of GFPs remains quite limited and no significant difference was noticed compared to Marrakech city. This availability was quite limited in comparison to GFPs availability on websites. Unfortunately, online selling in Morocco is not that well-developed and still faces many challenges. The study carried out by Mitchell Burden al.(Burden et al., 2015) in the UK was one of the few studies that found a good availability of GFPs in regular,

quality supermarkets and online selling websites as well. So, patients with gluten allergies and celiac patients are have difficulties accessing their food. The other factors that are recorded include the high the price of GFPs.

#### **4.2. Cost of gluten-free Products**

The second barrier to GF adherence that this research looks into is the price of GFFs. The results obtained during this survey showed a large price difference between products with and without gluten. The latter are three to four times more expensive than those containing gluten. Consumers regularly compete at retail centers to purchase GFPs with limited availability. They suffer from very high prices of the overwhelming majority of GFPs. This study confirms the results of several studies carried out in previous or recent years. Our result confirms that obtained in several studies in European countries, especially in the UK where thhe overwhelming majority of studies have been conducted. A significant difference was noted in a study conducted by Mitchell Burden et al. 2015) which found that GF products are 4 times more expensive than GCPs ( $p=0.001$ ). A significant difference was also found by another study by Singh et al.(Singh and Whelan, 2011) confirming that all 10 categories of GF wheat are very expensive than their gluten-containing equivalents of 76% to 518% ( $p=0.001$ ). According to Fry et al. (2018) GCPs are 159% more expensive than their gluten equivalents (£0.44/100 g versus £1.14/100 g). The same comment was advanced by anothers studies (Allen and Orfila, 2018; Capacci et al., 2018). Recently, Anne R. Lee et al. ( 2019) show the persistence of GFPs' high charge compared to GCPs equivalents (183%). In Spain, the money difference in buying products with and without gluten is €1028.21/year ( Federación de Asociaciones de Celiacos de España, 2018). In Greece, GCPs are cheaper than their counterparts containing gluten with a difference of 159% (Panagiotou and Kontogianni, 2017).

Several researchers in the mainland of South and North America have calculated the money value of a GFF basket. The normal basket is 54.19% cheaper than GF basic food basket in Argentina, so the celiac patient has to pay a difference of about \$567.43 per month from a

person who does not follow a GFD (Carla Johana Guirín et al., 2015). The difference between a normal basket and a gluten basket is 89%, 240%, 242.81% and 300% , in Chile(Castillo L and Rivas C, 2008), in USA(Lee et al., 2007), and in Canada (Stevens and Rashid, 2008). Six years later, the difference increased from 89% to 300% in Chile (Estévez et al., 2016), whereas, in Canada, the difference decreased to 162% (Kulai and Rashid, 2014). In Mexico, this difference was estimated in GFPs from 190% to 1088% more than GCPs equivalents with  $p=0.05$ (Arias-Gastelum et al., 2018). In the mainland of Australia, this difference ranged from 205% for Cereals category to 267% for Bread and Bakery category (Missbach et al., 2015). Nowadays, a similar conclusion was also indicated in an Arab country-Emirates- by Abdulla and Garemo (2018). The latter their published in 2018 shows that most of the 266 GFPs are significantly expensive compared to GCPs equivalents and with a price difference of 5% and 1000% (average of 259%).

Several studies show that the high price of GFPs correlates with low availability such as the case in Brazil (Bagolin do Nascimento et al., 2014). However, the exorbitant prices are kept high even in greater availability in regular and quality supermarkets as well as on online selling websites (Burden et al., 2015). The low availability and high price of GFPs are also observed in several studies even though the global market is valued at \$14.94 trillion in 2016 and estimated to have an annual growth of 9.3% between 2017 and 2025 (Grand View Research,2017).

Faced with the economic cost dominated by exorbitant prices and a very expensive basket of GFPs, several countries have made several efforts to facilitate access to these products. The follow-up procedures concern the reduction of taxes on GFPs, prescription and state subsidies for consumers, especially for celiac patients. Some countries give allowances to celiac patients. For exaply, in Italy celiac patients monthly receive vouchers for GFFs of about £140 on strict terms ( Celiac Disease Foundation, 2018). In Greece, this allowance is estimated at 100 £/month

for adults and 120 £/month and children under 18 years of age respectively for cereal based-products all provided by the National Health Services Organisation (Panagiotou and Kontogianni, 2017). Spain prefers direct food supply without gluten (Asociación de Celiacos de Extremadura, 2015) . While the UK adopts the prescription system, the British celiac patients receive GFFs as part of their GFD prescription at a significantly reduced price (Coeliac UK, 2019). The prescription system was also adopted in New Zealand (Ministry of Healthy of New Zealand, 2019). Other countries such as Ireland and the USA have chosen the strategy of tax deductions- refunded the costs already incurred (Coeliac society of Ireland, 2019; Department of the Treasury Internal Revenue Service of USA, 2019). France reimburses consumers for gluten-free products in accordance with the Decree issued on 25th March 2004 on specific conditions (Association Française Des Intolérants Au Gluten, 2019). Nonetheless, the tax deduction system in Canada is worrisome; It is less balanced and its patient support system remains limited compared to the GF subsidy system (Pinto-Sanchez et al., 2015).

Unfortunately, the situation is alarming in Morocco. Moroccan celiac patients receive no tax reduction, no money transfer or state subsidy of any kind. In fact, Moroccan pharmacies do not accommodate GFPs. This makes it difficult to follow doctors' treatment properly. As a result, consumer suffering, diet adherence and quality of life is poor are not in the best condition at all, especially with celiac patients with low socioeconomic status. The high price of these products can be explained, on the one hand, by the cost of quality control of these foods to verify the gluten content of GFPs. On the other hand, the industrial production of GFPs in Morocco by local agro-food companies is low. Therefore, GF market is predominated by a range of products manufactured abroad especially in European countries, causing a significant increase in their transportation and tax costs.

## **5. Study limitations**

This study has limitations as it has advantages. The first limitation of this study concerns the nature of gluten-free products included in the study. Sampling only includes labelled GFPs, which excluded several unlabelled foods without gluten that many people use as staples for direct consumption or for culinary preparations. The second limitation to be recognized concerns the points of sale of the products under investigation. Some items may be available in retail locations where prices and availability may be different from those in supermarkets and health product stores. The last limitation in our study is the sample size. The number of products in certain categories of GFP is quite small, thus influencing the power of statistical analysis especially in certain categories where the number of products did not exceed even 14 or 15 in some categories in the points of sale. As for the strength of this study, there are many to mention, one of which that this study, according to our knowledge, is the first that treats GFPs in Morocco. This study has made it possible to highlight the suffering of celiac patients to have easy access to GFPs at a reasonable price.

## **6. Conclusion**

This study shows that the gluten-free products in Morocco are not very available and very expensive. So, Even though availability and price influence the quality of life and GFD adherence for celiac patients, this study shows Moroccan celiac patients suffer from the scarcity and high cost of GFPs. To counter that, we need to give these results the attention they deserve. The information obtained in this study is relevant to a database that could be used to establish a public policy that guarantees food security and availability of GFPs for patients whose treatment is strictly based on a GFD such as celiac patients and those suffering from gluten allergies. Financial compensation from the national government for patients who consume these products is desirable. Efforts must also be made by healthcare workers such as dietitians and physicians through being aware of the low availability and high price of these products during their consultation.



**B/ Qualité Nutritionnelle des  
Aliments agro-alimentaires sans  
gluten**

## **Qualité nutritionnelle des produits sans gluten dans les supermarchés marocains et les plateformes de commerce électronique**

Le gluten présent dans le blé, l'orge et le seigle est à l'origine de la maladie cœliaque. Le traitement de cette maladie est basé sur le régime sans gluten. Ce régime implique la consommation d'aliments sans gluten, y compris les produits sans gluten (PSG) développés par les fabricants. L'objectif de cette enquête est d'estimer la composition nutritionnelle des produits sans gluten en les comparant à des produits réguliers (PR) équivalents contenant du gluten. Alors que la teneur en fibres était plus élevée dans les produits sans gluten, les teneurs en protéines et en sucre étaient plus faibles par rapport aux produits ordinaires ( $p < 0.0001$ ). Les différences dans l'énergie totale, les glucides totaux, les graisses saturées et le sel diffèrent d'une catégorie à l'autre. Le nombre de produits sans gluten qui ont été enrichis en fer et en vitamines était limité. La catégorie "Pain et produits de boulangerie" qui est la plus consommée au Maroc est caractérisée par une teneur faible et élevée en protéines et en fibres ( $p < 0.001$  ;  $p = 0.015$ , respectivement). La qualité nutritionnelle des produits sans gluten est déséquilibrée. Une carence importante en protéines est constatée. Il est important d'améliorer la qualité nutritionnelle des produits sans gluten en remplaçant le gluten par des hydro-colloïdes et des enzymes riches en protéines. Une fortification en fer et en vitamines reste une nécessité pour combler le déficit.

## **Research paper**

### **Nutritional Quality of Gluten-free Products in Moroccan Supermarkets and e-Commerce Platforms**

#### **Abstract**

**Background and objectives:** Gluten found in wheat, barley, and rye causes celiac disease. The treatment of this disease is based on the gluten-free diet. This diet involves the consumption of gluten-free foods including gluten-free products (GFPs) developed by manufacturers. The objective of this survey is to estimate the nutritional composition of the gluten free products by comparing them to equivalent regular products (RPs) containing gluten.

**Findings:** While the fiber contents were higher in the gluten free products, protein and sugar contents were lower in comparison to regular products ( $p < 0.0001$ ). The differences in total energy, total carbohydrate, saturated fat, and salt differ from one category to another. The number of gluten free products that have been fortified with iron and vitamins was limited. The category of "Bread and Bakery products" which is the most consumed in Morocco is characterized by a low and high content of proteins and fibers ( $p < 0.001$ ;  $p = 0.015$ , respectively).

**Conclusions:** The nutritional quality of the gluten free products is unbalanced. A significant protein deficiency is noted.

**Significance and novelty:** It is important to improve the nutritional quality of the gluten free products by replacing gluten with hydrocolloids and protein rich enzymes. A fortification by iron and vitamins remains a necessity to make up the deficit.

**Keywords:** Coeliac disease; Gluten-free diet; Gluten-free product; Nutritional composition; Regular products.

## **1. Introduction**

Several recent studies have shown that coeliac disease (CD) affects about 1.1% to 1.7 % of the world's population. In Morocco, the prevalence is unknown. However, the number of new cases per year has increased considerably in recent years (El Fakiri et al., 2016). Celiac disease is a chronic autoimmune disease that affects the small intestines. It affects people who are genetically predisposed to gluten molecules (Admou et al., 2009). Gliadins of wheat, secalins of rye, and hordeins of barley are the part of gluten that are responsible for intolerance (Wieser, and Koehler, 2008). To treat it, coeliac patients should avoid foods containing gluten. Celiac patients must follow a gluten-free diet for life as it is the only effective treatment for CD (Kaukinen et al., 2014).

Coeliac patients use gluten-free foods produced by manufacturers (GFPs). Recently, there has been a significant increase in the industrial sector of gluten-free labelled and packaged foods (Cureton & Fasano, 2009). This has increased manufacturers' sales of GFPs (Mena & Sousa, 2015; Grand View Research, 2017). The Codex Alimentarius and Food and Drug Administration (FDA) require manufacturers to respect the production process by avoiding cross-contamination. The gluten content should not exceed 20 ppm (commission regulation, 2009; US Food and Drug Administration, 2013). These products labeled as gluten-free represent in some cases a risk for people with celiac disease (Patricia et al., 2016).

In Morocco, despite the fact that celiac disease is increasing considerably, studies concerning gluten free diet, the availability, the price and the nutritional quality of gluten-free products available in Morocco to our knowledge are rare or even non-existent (El Fakiri et al., 2016). In other parts of the world, several studies have been carried out in this context. These studies have shown that the availability of gluten-free products is still limited and still very expensive (Lee et al., 2007; Singh, & Whelan, 2011; Burden et al., 2015; Panagiotou, and Kontogianni, 2017; Abdulla, & Garemo, 2018). Nutritional quality was also questionable in several surveys. Following the gluten-free diet is correlated in several studies with considerable weight gain and

obesity development in a large number of adult coeliac (Murray et al. 2004), as well as children and adolescents with celiac disease (Rodrigues et al., 2018). Hence, more importance has been given to discuss the nutritional quality of gluten-free products. Several authors have approved the imbalance of this gluten free diet and gluten-free products in total energy, total fat, saturated fat, complex carbohydrates, proteins, and fibers (Saturni et al., 2010; Zuccotti et al., 2013; Lamacchia et al., 2013; Miranda et al., 2014; Allen, & Orfila, 2018; Fry et al., 2018). In addition, low levels of vitamins ( vitamin D, vitamin B12, and folic acid) and some minerals have been observed in gluten-free products ( Salazar Quero et al., 2015; Vici et al., 2016). Thus, the objective of this research fits into this framework. The aim was to estimate the nutritional composition of the gluten-free products sold in supermarkets and online websites in Morocco. This estimate of gluten-free products was compared to estimates of their equivalent gluten-containing products.

## **2. Methods**

The objective of this study is to evaluate the nutritional composition of gluten-free products in terms of total energy, macronutrients (proteins, carbohydrates, sugars, total saturated fat, fibre and salts) and micronutrients (vitamins & trace element). This cross-sectional survey was carried out in supermarkets and online food sales websites. The sample consists of gluten-free products and their gluten-containing equivalents (RPs). These products had to be packaged and labelled. The labelling contains all the necessary information to be processed.

### **2.1. Data collection**

#### **2.1.1. Survey procedure**

This is a survey conducted between February 2019 and September 2019. Gluten-free products and regular products were selected randomly. The data collected from the gluten free products and regular products related to the name of the producer, the name of the products, and the nutritional composition (total energy protein, carbohydrates, sugars, total fat, saturated fat, and salts, vitamins, and trace element). The causes of the exclusion of certain foods were mainly

related to foods that have been labeled with incomplete information on the nutritional composition.

### **2.1.2. Place of survey**

In order to collect a large number of foods, an in-depth research was carried out to identify supermarkets or websites selling gluten-free products. The research was carried out on the Google research engine (Morocco-based). This research has made it possible to identify supermarkets and online sales websites. The research was carried out in Arabic, French and English. The used terms in this research are : “Gluten-free products”, “Supermarkets and gluten-free products”, “website for online sales of gluten-free products”, and “purchase of gluten-free products”. Contact with members of the Moroccan Association of Intolerants and Allergics to Gluten (AMIAG) and members of the National Association of coeliac and Wheat Allergy Diseases (BASMA) have also made it possible to identify other gluten-free products sales offices and to confirm the results obtained by the Google research engine (Morocco-based).

### **2.1.3. Food categories**

The study is focused on 6 categories of gluten-free products and their equivalent categories containing gluten. This search included the categories of «Four and Bake mix», «Bread and Bakery products», «Pasta and Cereal products», «Cookies and Cakes», «Drinks», and «Spreads». Each category included at least 11 products. The limited number studied in the category of "gluten free Spreads" was explained by their low availability. The products in each category had the same characteristics. The number of products in the "Cookies and Cakes" category was the most represented. The gluten-free food industry is not yet well developed in Morocco. That is why gluten-free foods consumed by celiac patients residing in Morocco are imported. Thus, the majority of the foods tested in this study were foods marketed worldwide. The grouping of products was done according to the Codex Alimentarius GSEFA's food category (FAO, Codex Alimentarius Commission, 2019).

#### ***2.1.4. Nutritional content***

The nutritional profile was estimated through the nutritional values indicated on the packaging. This involves documenting the nutritional values that appeared on the labels of gluten-free products. Then, a comparison of these values with their regular products equivalents has been made. These gluten-containing and gluten-free products indicate in their labels the total energy content (Kcal/100g), total carbohydrates (g/100g), simple carbohydrates (g/100g), protein (g/100g), total fat (g/100g), saturated fat (g/100g), fiber (g/100 g), and salt (g/100g). Certain micronutrients were included even though the data were not sufficiently available such as cholesterol, potassium and calcium. They were expressed in mg/100g.

#### ***2.1.5. Fortification***

During this research, an estimate of the number of foods that have been fortified with elements such as iron and vitamins was made. This estimation has been made through the nutritional values indicated on the packaging.

### **2.2. Statistical analyses**

The selected values from the food labels were analyzed using the SPSS software - Statistical Package for Social Software Sciences for Windows (SPSS version 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA- UNIS) -. The Kolmogorov-Smirnov test examined the normality of the data and the Levene test examined the homogeneity of the variances. Comparisons between energy, macronutrient and micronutrient values were made with parametric tests (Student t-test) or non-parametric tests (Mann-Whitney U-test) according to the normality of the data and the homogeneity of the variances for the continuous variables. The variables with normal distribution were reported as mean (SD), while variables with abnormal distribution were reported as median (IQR). The comparison between the categorical variables was made by the Chi-square test or the Fischer test. The difference was considered significant for  $p \leq 0.05$ .

### 3. Results

#### 3.1. Nutritional composition of gluten-free products and regular products

##### 3.1.1 Macronutrients and energy content

The study was conducted on 184 gluten-free products and 278 equivalents regular products. The "Cookies and Cakes" group was the most represented by 67 gluten free products and 118 regular products respectively. Regular products were represented by 27, 65, 42, and 26 for the categories of "Bread and Bakery Products", "Pasta and Cereal products", "Drinks", and "Spreads" respectively. This representation was 15, 41, 16, and 11 for the same categories concerning gluten-free products. The nutritional composition of foods belonging to the "Flour and Bake mix GF" group should be compared to that of wheat flour or whole wheat flour. However, the nutritional composition values of the last regular products are absent in supermarkets and online sales websites. **Table 22** shows the average values obtained on the 34 foods "Flour and Bake mix Gluten Free".

**Table 22** mean and median content of energy, protein, carbohydrate total, sugar, total fat, saturated fat, fibre, and salt per 100g in "Flour and Bake mix Gluten-Free"

	Flour and Bake mix GF	
	Mean(SD)	Median (IQR3-IQR1)
Energy (kcal)	357.53 (28.04)	352.00 (24.50)
Protein(g)	5.76 (3.76)	5.65(4.73)
Carbohydrate total (g)	72.94 (14.09)	78.45 (12.83)
Sugar (g)	3.40 (4.09)	2.20 (3.38)
Total fat(g)	2.81 (3.54)	1.35 (2.58)
Saturated fat(g)	0.79 (1.25)	0.30 (0.45)
Fibre (g)	6.36 (6.90)	3.80 (4.70)
Salt(g)	0.62 (0.79)	0.03 (1.00)



**Table 23** shows the median values (IQR) of the nutritional composition contents obtained in the other 5 categories for gluten-free products and regular products.

*The energy content value* was generally not different between gluten-free products and Regular Products, with the exception of the category of "gluten free Cookies and Cakes " and "gluten free Spreads" which had lower and higher energy values with a significant difference of  $p < 0.0001$ .

*Protein content:* The most important difference was noted for proteins. With the exception of the "Beverages" category, all median protein contents of Gluten Free Products were significantly lower than those of Regular products ( $p < 0.0001$ ).

*Total carbohydrate content:* The median for *total carbohydrate content* was significantly higher ( $p < 0.0001$ ) in gluten-free products compared to regular products for the category of "Pasta and Cereal products" and "Cookie and Cakes". Whereas the opposite was noted for the category of "Drinks" and "Spreads" with  $p = 0.0002$  and  $p < 0.0001$ . However, the "Bread and Bakery products" category was the only category where the difference between the median levels of Gluten Free Products and regular products was insignificant.

*Sugar content:* The same result was obtained for the median sugar content as for the carbohydrate content in the category of "Bread and Bakery products", with a non-significant difference ( $p = 0.811$ ). However, the median levels of gluten-free products were significantly lower than those of regular products for the other categories ( $p < 0.0001$ ).

*Total fat content:* On the one hand, the difference was significantly higher ( $p < 0.0001$ ) for gluten-free products in the categories "Spreads" and "drinks". On the other hand, while the median of the total fat content was less significant for the category of "gluten free Cookies and cakes" in the other categories, it was insignificant.

*Saturated fats content:* No significant differences were noted also for the two categories of "Bread" and "Spreads". The difference was significant in the category of "gluten free Cookies

**Table 23: Difference between energy, protein, carbohydrate total, sugar, total fat, saturated fat, fibre, and salt per 100g in gluten-free products and regular products equivalents classified by food category**

		Bread and Bakery products		Pasta and Cereal products		Cookies and cakes		Drinks		Spreads	
		Median	Q 1-Q3	Median	Q 1-Q3	Median	Q 1-Q3	Median	Q 1-Q3	Median	Q 1-Q3
Energy (kcal)	GFP	241	223.50-345.00	356	349.00-57.00	456	419.50-83.50	45	37.00-9.500	605	595.50- 638.00
	RP	286	261.50-313.50	354	348.00-55.00	497.5	456.50-34.00	49	45.00-51.00	531.5	516.75- 543.25
	P <sup>+</sup>	<b>0.099</b>		<b>0.050</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>0.239</b>		<b>&lt; 0.0001++</b>	
Energy (kJ)	GFP	1008.00	942.00-453.50	1507.00	1472.00-513.00	1919.0	1751.00-023.00	189.00	158.25-207.25	2582.0	2483.50-2724.00
	RP	1200.14	1107.00-1319.75	1479.72	1463.00-507.00	2082.5	1916.22-233.53	200.64	188.10-213.18	2228.0	2183.00-2272.00
	P <sup>+</sup>	<b>0.101</b>		<b>0.108</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>0.254</b>		<b>&lt; 0.0001</b>	
Protein(g)	GFP	3.50	2.75-4.00	7.30	6.50-7.55	4.90	3.75-7.10	0.60	0.40-1.55	1.60	1.20-2.10
	RP	9.35	8.20-9.48	12.00	12.00-12.50	6.50	5.30-7.70	0.20	0.10-0.20	2.95	1.93-5.50
	P <sup>+</sup>	<b>&lt; 0.0001<sup>++</sup></b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>0.001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>0.009</b>	
Carbohydrate total (g)	GFP	46.00	42.50-66.00	77.00	74.00-78.00	65.50	59.75-73.50	4.50	1.50-7.31	26.00	11.20-38.75
	RP	50.00	46.00-53.68	71.80	71.00-72.00	58.90	51.00-65.00	12.00	11.33-13.00	61.85	59.08-64.00
	P <sup>+</sup>	<b>0.489</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001<sup>++</sup></b>	
Sugar (g)	GFP	5.20	1.90-6.60	0.50	0.50-1.10	21.05	12.25-26.00	3.20	0.50-5.65	6.65	4.88-28.68
	RP	5.10	2.55-5.78	3.00	1.00-3.50	33.10	26.00-43.00	11.00	10.00-12.00	60.70	55.00-62.00
	P <sup>+</sup>	<b>0.811</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>	
Total fat(g)	GFP	5.20	2.85-6.20	1.50	1.40 2.30	18.50	14.30-24.00	2.10	1.60-2.73	46.8	43.60-56.25
	RP	5.20	3.90-7.30	2.00	1.50 2.00	25.55	20.00-32.00	0.05	0.00-0.10	29.85	28.05-31.75
	P <sup>+</sup>	<b>0.586</b>		<b>0.057</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001<sup>++</sup></b>	
Saturated fat(g)	GFP	0.60	0.40-2.30	0.60	0.40-0.60	7.45	1.93-12.00	0.40	0.20-0.63	7.40	5.70-8.20
	RP	0.80	0.55-1.35	0.35	0.10-0.50	13.00	8.20-19.00	0.00	0.00-0.00	7.55	6.05-9.50
	P <sup>+</sup>	<b>0.476</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>0.952</b>	
Fibre (g)	GFP	6.40	4.85-7.35	1.90	1.35-2.20	3.30	1.90-5.50	0.40	0.20-0.50	6.95	4.53-9.20
	RP	3.30	2.80-4.73	3.00	2.90-3.50	2.40	1.50-4.53	0.15	0.10-0.35	2.00	0.90-3.20

	p	<b>0.023</b>		<b>0.003</b>		<b>0.205</b>		<b>0.071</b>		<b>0.001</b>	
<b>Salt(g)</b>	GFP	1.30	1.05-1.60	0.01	0.00-0.06	0.55	0.33-0.75	0.1	0.10-0.10	0.03	0.02-0.07
	RP	1.30	1.10-1.35	0.01	0.01-0.03	0.36	0.21-0.68	0.01	0.00-2.73	0.15	0.11-0.21
	P <sup>+</sup>	<b>0.773</b>		<b>0.912</b>		<b>0.041</b>		<b>&lt; 0.0001</b>		<b>0.002</b>	

**p** : Calculation based on normality and homogeneity of variances; **+**: U-test of Mann-Whitney (based on medians); **++**: T- test for independent samples (based on means); **GFP**: Gluten-Free Product; **RP**: Regular Product; **IQR** : InterQuartile Range

and cakes” as obtained by the median levels in total fat. However, this difference was highly significant ( $p < 0.0001$ ) in the categories of Gluten free "Spreads" and "Pasta and Cereal products ". The number of products detailing the type of saturated fats was insufficient to compare the content monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids.

*Fibre content*: The median fiber content was higher for gluten-free products compared to Regular Products in both categories of "Bread and Bakery products" and "Spreads" with  $p=0.023$  and  $p=0.001$  respectively. However, this median content was low in the category of "gluten free Pasta and Cereal products ". No significant differences were noted in the other two categories.

*Salt content*: The results were different from one group to another. In the "Bread and Bakery products" and "Pasta and Cereal products" categories, the difference was not significant. The median content in the category of "gluten free Cookies and cakes" and "gluten free Beverages" was significantly higher in gluten-free products with  $p=0.041$  and  $p < 0.0001$ , while the opposite was observed for the category of "Gluten free Spreads" with  $p=0.002$ .

### **3.1.2 Micronutrients**

The micronutrient content data on the labels of gluten-free products were very limited. Information on the content of calcium and magnesium were the most frequently cited, but with insufficient figures to allow comparison with regular products.

### **3.2. Fortification**

This research revealed that the majority of the identified gluten-free products did not benefit from any fortification. The number of products identified in this study which were enriched with iron, vitamin B6 and vitamin B9 were 6, 3 and 4.

## **4. Discussion**

### **4.1 Nutritional composition of Gluten-free Products**

The National Food Safety Office (ONSSA) requires manufacturers to indicate their nutritional compositions on food labels (ONSSA, Regulations: Labelling of food products, 2018). The results this label research has showed that the nutritional quality of gluten-free products is different from that of equivalent regular products in terms of content from one category to another. The absence of a database on Moroccan foods for the " flour and pastry" category prevented a general overview of equivalent contents. The average value of the protein content in gluten-free products obtained from this category during this research was lower than that required by the ministerial decree requiring a value of 9.5g/100 g for wheat flour (Decree of Moroccan Ministry of Agriculture and Maritime Fisheries, 2019).

The removal of gluten proteins from food products causes a decrease in the diversity of ingredients compared to similar gluten products (do Nascimento et al., 2013). As a result, energy, macro, and micronutrient levels will be modified. The element whose content has been most altered modified is protein. Our results confirm the results of other studies which indicated that the protein content of gluten-free products was low in the majority of studies. In 57% of all products covered by the survey of Missbach et al. (2015) gluten-containing products were twice as rich in protein as gluten-free products. Other studies have also reported that gluten-free

products contain less protein than equivalent gluten-containing products (Miranda et al., 2014; Bagolin do Nascimento et al., 2014; Kulai, & Rashid, 2014; Wu et al., 2015; Allen & Orfila, 2018; Fry et al., 2018). It is important to note that gluten is a visco-elastic substance which plays an important role in the expansion of the dough during bread making. The viscous and elastic properties of gluten make it very useful for making bread, pasta, and baked grain products. Gluten is mainly composed of prolamine protein and glutenin protein (Shewry, & Tatham, 1990).

The low protein content of gluten-free foods compared to those containing gluten is explained in this study by several arguments. On the one hand, in the manufacture of gluten-free foods, gluten is replaced by certain ingredients such as hydrocolloids (e. g. xanthan gum, guar gum and locust bean gum) and enzymes (e. g. transglutaminases and cyclodextrin glycosyl transferase) (Sumnu et al., 2009; Sciarini et al., 2010). These operations carried out by manufacturers reduce the amount of protein in the manufactured products and degrade their nutritional qualities. The low protein content in cereal-based food categories such as breads, cereals, cookies and cakes of gluten-free products is due to the fact that gluten-free products are made from rice, corn, cassava and potato starch which are low in protein, while regular products are made from wheat, barley and rye which are high in protein. In other cases, cereals are replaced by pseudo-cereals with very low protein content. In addition, many gluten free products are also made with purified starches. Starch plays an important role in gluten-free products, such as gelling, thickening, adhesion, moisture-retention, stabilizing, film forming, and texturizing. However, starches are low in protein (Matos Segura & Rosell, 2011; Öksüz & Karakas, 2016; Horstmann et al., 2017). The high protein content in the category of "Drinks" can be explained by the addition of food additives. Thus, to avoid low protein content, several authors have proposed the use of certain pseudo-cereals such as quinoa, amaranth and buckwheat (Alvarez-Jubete et al., 2009; Peñas et al., 2014).

The dietary fiber content in products of gluten and gluten-free differs between studies. Some have said that the fiber content is higher in gluten-free products than in regular products ( Missbach et al., 2015; Mazzeo et al., 2015; Allen, & Orfila, 2018), while others have said the opposite( Cúneo, & Ortega, 2012; Miranda et al., 2014; Bagolin do Nascimento et al., 2014; Kulai, & Rashid, 2014; Cornicelli et al., 2018). The fiber content in gluten-free foods depends on the ingredients used in their manufacture. Some gluten free products are made with purified starches that are low in fiber and have a higher glycemic index (Matos Segura & Rosell, 2011). The results of this study tended to the first rank except for the category of "Gluten free Cookies and Cakes ". The high fibre content is explained according to Capriles and Areas (2014) due to the fact that gluten-free products are made from plant fiber-rich components such as cellulosic polymers and psyllium husk powder. In order to reduce the development of obesity during the Gluten free diet according to several studies, manufacturers are developing gluten-free products with high fiber content. The latter plays an important role in protecting obesity according to FAO/WHO(Nishida et al., 2004).

Sugar contents were lower among gluten-free products in this study. The same result has been obtained by Fry et al. (Fry et al., 2018), but this difference was not significant in other studies(Miranda et al., 2014). Others have found that this content is high in gluten-free products (Mazzeo et al., 2015). In order to increase the palatability of gluten-free products, manufacturers are increasing the sugar contents in these products according to several articles(Wu et al., 2015). However, the Gluten Free Products sold in Morocco contain less sugar with a highly significant difference. The results obtained for total fat in this study showed that this difference was not significant for the category of "Bread and Bakery products". The results of this study are the opposite of those obtained in other studies(Kulai, & Rashid, 2014; Fry et al., 2018; Allen, & Orfila, 2018) where total fat contents were higher among gluten-free

Products. The latter finding was similar to the one obtained by a research on Gluten Free Diet itself in coeliac patients(Wu et al., 2015).

Excessive consumption of total fat can increase the risk of obesity and cardiovascular disease in coeliac patients. Several articles agreed that the marketed gluten-free products contain either excess or total energy similarities compared to the gluten-containing equivalents. The results of this study also suggested the same conclusion for the cereal or cereal-based products. There were however, few studies that indicated otherwise, such as the study by Cornicelli et al. (2018). The category "Bread and Bakery products", which is the most consumed in Mediterranean countries such as Morocco, was characterized by an insignificant difference in all median contents, except for the low and high protein and fibers.

#### **4.2 Fortification**

Coeliac patients generally suffer from micronutrient deficiencies, particularly anemia(Freeman, 2015) .Therefore, it is important to fortify gluten-free products with micronutrients such as iron. However, in Morocco, the number of gluten-free fortified products available on the markets is limited. The absence of fortification of marketed gluten-free products has been discussed by some surveys(Estévez et al., 2016). Fortification is an effective way to combat micronutrient deficiency diagnosed in coeliac patients. In this context, some countries such as the UK enrich bread with elements such as iron, niacin and thiamine (Allen, & Orfila, 2018). Germination of seeds increases the nutrient content. Their use to naturally fortify and enrich gluten-free foods has great potential (María Botero et al., 2012). In Morocco, Moroccan legislation has recently begun to require manufacturers to enrich foods – common wheat flour - with iron and vitamins(Official Bulletin, Decree of Moroccan Ministry of Agriculture and Maritime Fisheries, 2019). However, no requirements for the enrichment of gluten-free products have emerged.

## **5. Study limitations**

This study presented certain limitations and advantages. The first limitation concerns the estimation of the nutritional composition database on the packaging of food products established by the manufacturer. The best method to estimate this composition is through chemical analysis. However, several authors have demonstrated the validity of this indirect estimation through labeling information (Cúneo & Ortega, 2012; Miranda et al., 2014). The second limitation that must be addressed is the nature of the gluten-free products included in the study. The Sampling only concerns gluten-free products packaged with labeling and sold on websites and supermarkets. This excluded several others gluten-free but unlabeled foods, many of which are used by celiac as staple foods for direct consumption or for culinary preparations. It is also important to note that the choice of supermarkets as a study site excluded gluten-free products sold in stores and grocery stores. The third limitation is related to the sampling of each category. The limited number of products in certain categories influences the power of statistical analysis. However, this study has some strengths. This research is the first study, to our knowledge, that has dealt with the nutritional compositions of gluten-free products in Morocco. Also, this research has provided an important insight into the nutritional quality of gluten-free products in Morocco. A requirement by Moroccan legislation for the fortification of Gluten Free Products seems necessary to compensate for the deficit observed in coeliac patients, in particular with regard to iron and vitamins. It is important to note that many celiacs and their representatives are hoping to standardize the labeling of gluten-free products in order to have a safe gluten-free diet(Aleksandra & Grazyna, 2019).

## **6. Conclusion**

Availability, price and nutritional quality have a significant impact on the gluten free diet adherence and celiac disease treatment. The nutritional quality of gluten-free products packaged, labelled and marketed in supermarkets and web sites in Morocco is unbalanced. The nutritional quality was characterized by a low protein and sugar content and high fiber



content. A follow-up by physicians and dieticians during the prescription of gluten-free products and the monitoring of gluten free diet seems to be a necessity. Supplementation and fortification of gluten-free products by manufacturers is desirable. Studies in Morocco on the nutritional quality of the gluten-free diet in coeliac patients seem to be necessary. Therefore, it is important to establish a nutritional composition table for gluten-free products and to develop or adapt a national questionnaire for coeliac patients.

**CHAPITRE 4 :**  
**Qualité Microbiologiques et Teneur  
en Gliadine dans les Aliments Sans  
Gluten**

# **A/ Qualité microbologique des aliments sans gluten**

## Qualité microbiologique des repas, des aliments labellisés et des aliments naturellement sans gluten

La prévalence croissante des pathologies liées au gluten, comme la maladie cœliaque, entraîne une augmentation de la consommation d'aliments sans gluten (AGS). Cependant, ces aliments doivent être sûrs à la fois en termes de teneur en gluten et de contamination par des micro-organismes pathogènes afin d'éviter les intoxications alimentaires. L'objectif de cette étude était d'évaluer la qualité microbiologique de repas, d'aliments naturellement et étiquetés sans gluten. Nous avons collecté 62 échantillons d'ASG dont 20 repas (M-SG), 22 naturels (N-SG) et 20 étiquetés (L-SG) qui ont été analysés pour la contamination microbiologique selon les directives marocaines émises par l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO). L'analyse a consisté à détecter dans chaque échantillon, l'existence de *Salmonella* et de *Listeria monocytogenes* et à détecter et quantifier la charge microbienne des six bactéries suivantes : flore mésophile aérobie totale, coliformes totaux, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, anaérobie à réduction de sulfite, et levures et moisissures. Un total de 372 analyses a été réalisé, montrant une contamination microbiologique de 5.1%. Cette contamination concernait les N-SG dans 8.3 % des cas (principalement avec des levures et des moisissures), et les repas préparés à domicile dans 11.7 % des cas (principalement avec *Staphylococcus aureus* et des coliformes). Un seul cas (0.8 %) de contamination a été observé dans des produits étiquetés sans gluten et aucune contamination n'a été constatée dans les repas préparés dans les services de restauration. *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* n'ont été détectées dans aucun des échantillons d'aliments analysés. Ces résultats indiquent une bonne conformité du L-SG et des repas sans gluten préparés dans les services de restauration, tandis qu'une qualité insatisfaisante a été observée pour le N-SG et les repas sans gluten préparés à domicile. Par conséquent, des pratiques hygiéniques rigoureuses et des mesures correctives adéquates devraient être envisagées par les patients cœliaques, notamment en ce qui concerne le N-SG et les repas préparés à domicile.

## Original article

### Microbiological Quality of Meals, Labelled and Naturally Gluten-free Foods

#### Abstract:

**Background/Objectives:** Rising prevalence of gluten-related pathologies such as celiac disease leads to increased consumption of gluten-free foods (GFF). However, these foods must be safe both in terms of gluten content and contamination by pathogenic microorganisms in order to avoid food poisoning. The objective of this study was to assess the microbiological quality of meals, naturally and labelled gluten-free foods.

#### Methods:

We collected 62 GFF samples including 20 meals (M-GF), 22 naturally (N-GFF) and 20 labelled (L-GFF) which were investigated for microbiological contamination according to Moroccan guidelines regulations issued by the International Organization for Standardization (ISO). The analysis consisted in detecting in each sample, the existence of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* and in detecting and quantifying the microbial load of the following six bacteria: total aerobic mesophilic flora, total coliforms, fecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, Sulphite-Reducing Anaerobic, and yeasts and molds.

**Results:** A total of 372 analyzes was performed showing 5.1% of microbiological contamination. This contamination concerned N-GFF in 8.3% (predominantly with yeasts and molds), and meals prepared at home in 11.7 (predominantly with *Staphylococcus aureus* and *coliforms*). Only one case (0.8%) of contamination was observed in products labelled gluten-free and no contamination was noticed in meals prepared in food services. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* were not detected in any samples of food analyzed.

**Conclusions:** These results indicate a good compliance of L-GFF and meals gluten-free prepared in food services, while unsatisfactory quality was observed in N-GFF and meals gluten-free prepared at home. Therefore, rigorous hygienic practices and adequate corrective measures should be considered by celiac patients, especially regarding the N-GFF and meals prepared at home.

**Keywords:** Gluten-free foods; Microbiological quality; Contamination; Bacteria; Yeasts and Molds

## 1. Introduction

Celiac disease (CD) is an autoimmune disease characterized by a villous atrophy of the small intestinal mucosa, crypt hyperplasia and increased intraepithelial lymphocytes occurring in predisposed individuals (Caio et al., 2019). Gluten remains the main factor involved in the development of this disease (Malamut & Cellier, 2010). The prevalence of CD is generally estimated at 0.7 to 1.4% worldwide (Singh et al., 2018). It can be asymptomatic, latent or silent and its diagnosis is based on serological and biopsy tests (Admou et al., 2012; Sevinc, 2015). The management of CD is based almost exclusively on gluten-free diet (GFD) (Makovicky et al., 2020). This consists of regular consumption of naturally gluten-free foods, products labelled as “gluten-free” and/or gluten-free meals prepared at food services or at home. Good adherence of celiac patients to this diet requires the availability of gluten-free foods (GFF) with reasonable price and safe gluten content (Xhakollari et al., 2019; Codex stan 118-1979, 2008). In addition to the elimination of any source of gluten contamination, the safety of gluten-free foods requires the absence of pathogenic microorganisms. In fact, the latter contamination by pathogens can lead to further damage to the gut microbiota of celiac patients (Verdu et al., 2015). This can manifest as a more serious foodborne illness. Microbiological food contamination is caused mainly by bacteria, including *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* and *perfringens*, *Yersinia enterocolytica*, *Campylobacter jejuni*, *Brucella*, *Shigella*, *Shigella*, *Vibrios* and *Bacillus cereus*. In Africa, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* are the most involved microorganisms in this contamination (Paudyal et al., 2017). This contamination can be provoked by other microorganisms such as fungi (moulds and yeasts), viruses and parasites. Hence, the study of microbiological quality of gluten-free foods will allow assessing their safety during all processes; from the harvesting of the raw material, manufacturing, transport, storage and handling to consumption. It will also highlight the effectiveness of preventive actions such as

good hygiene practices (GHP) and good manufacturing practices (GMP) as well as the hazard analysis and critical control point system (HACCP).

The sanitary quality of food is assessed according to the type of microorganisms and the presence of a single colony of virulent pathogens such as *Salmonella*, *Yersinia*, *Brucella*, *Listeria*, *salmonella* in food is sufficient to make it toxic and then non-compliant. Whereas, less serious pathogens (aerobic mesophilic flora, sulphite-reducing anaerobes, *Staphylococci*, faecal or soil germs and yeasts and moulds) become toxic when the number of colonies per g or per ml exceeds the toxicity threshold (S) in the food. The counting of bacteria in foods can be done by several methods such as filtration and liquid counting, but in practice, the most commonly used method is the solid medium count. This requires inoculating the microbial sample in bulk or on the surface of an agar medium, followed by the calculation of the number of colony forming units (CFU).

Due to high prevalence of CD in Morocco (El Fakiri et al., 2016.), the consumption of gluten-free foods especially naturally gluten-free foods(N-GFF) in considerably increasing. The consumption of naturally gluten-free foods such as pseudo cereals sold in bulk is due to the low availability and exorbitant prices of products labelled gluten-free (L-GFP) (Guennouni et al., 2020a). This may represent an additional risk of microbiological contamination of foods to be consumed. The objective of the present study was to investigate the microbiological quality of naturally gluten-free (N-GFF), labelled gluten-free (L-GFP) products and meals gluten-free (M-GF) prepared in food services or at home.

## **2. Methods & Materials**

### **2.1. Food samples**

The study was carried out on 62 samples of gluten-free foods, which were divided into three groups. The first group included manufactured products labelled as follow: "gluten-free", "without gluten", "no gluten" and "zero gluten". The second group corresponded to naturally gluten-free foods, which do not contain wheat, rye and barley among their ingredients. Foods

with labels containing terms such as 'made in a wheat processing plant', 'may contain wheat traces', 'wheat starch', 'hydrolyzed wheat proteins', 'malt extract', or 'malt extract aroma' were excluded from the study. Each group was composed of different food categories. The "Cereals/Pseudocereals GF" and "Dried vegetables GF" constituted the gluten-free labelled products (L-GFP). The "Cereals/ Pseudocereals" and "Dry Fruits/Dried vegetables" constituted N-GFF. The third group concerned "GF Meals" sold in food services or prepared at home (Table 24). The food samples were collected in respect of rigorous hygienic procedures.

**Table 24 Categories of meals, naturally and labelled gluten-free analyzed**

	<b>Number sample</b>	<b>Select examples</b>
<b>Labelled gluten-free products</b>	<b>20</b>	
Cereals/ pseudo-cereals	10	Rice, Corn, Oat, Millet
Dried vegetables	10	Peas, Beans, Lentils, Haricot, Chickpeas, Soy
<b>Naturally gluten-free foods</b>	<b>22</b>	
Dry Fruits/ Dried vegetables	12	Cashew, Almond, Pistachio, Peanuts, Nut, Peas, Beans, Lentils, Haricot faba, Chickpeas, Soy
Cereals/Pseudo-cereals	10	Quinoa, Chia, Sesame, Rice, Flax seed, Corn, Oat, Rice, Corn, Ryegrass
<b>Meals gluten-free</b>	<b>20</b>	
Prepared in food services	10	prepared from cereals and pseudo-cereals (Bread, Cookies and Cakes)
Prepared at home	10	prepared from cereals and pseudo-cereals(Bread, Cookies and Cakes)
<b>Overall</b>	<b>62</b>	



## **2.2. Preparation of food samples**

The preparation of foods consisted of diluting 25 g of the sample in 225 ml of previously sterilised buffered peptone water solution ( $10^{-1}$  dilution) in steril bag. The bags were then shaken in a stomacher to ensure the dispersal of the germs. After what, decimal dilutions of samples were made from stock solution.

## **2.3. Microbiological analysis**

The microbiological analysis (detection and/or counting) of prepared foods steps was performed according to the recommendations of the Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires (ONSAA) and the Institut Marocain de Normalisation (IMANOR) (Moroccan Standards, 2019), which comply with the standards settled by the International Organization for Standardization (ISO) and the French Association for Standardization (AFNOR).

### **Enumeration of total mesophilic germs (TAM)**

The enumeration of the total aerobic mesophilic flora was carried out according to the Moroccan standard **NM.08.0.121, resulting from ISO 4833-1** (ISO, 2003). One ml of the stock solution and decimal dilutions were inoculated onto the PCA (Plate Count Agar) medium. The inoculum and the agar were mixed in a circular motion. Incubation was done at 30°C for 24 to 48 hours.

### **Enumeration of total coliforms and faecal coliforms**

The enumeration of total coliforms and faecal coliforms was carried out according to **NM 08.0.115** and **ISO 4832** (ISO, 2006). Using a sterile pipette, 1 ml of each decimal dilution was placed twice in two empty petri dishes prepared for this purpose and identified by sample type. Then, 10 to 15 ml of crystal violet and neutral red lactose agar (VRBL) was added to each petri dish, melted and cooled at  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ . The inoculated plates were shaken to allow the inoculum to mix well with the agar. One set of plates was incubated at 30°C for 24 hours and furtherly used

for total coliform counts. The other set of plates was incubated at 44°C for 24 hours and then used to enumerate faecal coliforms.

#### **Search and count of sulphite-reducing anaerobes (*Clostridium*)**

They are performed according to **NM 08.0.125** from **ISO 15213** (ISO 15213, 2003). 1 ml of the stock dilution and dilutions were inoculated into tubes containing 20 ml of molten Sulfite Polymyxin Sulfadiazine (SPS) agar medium and cooled to 45±1°C. The inoculum and the culture medium were mixed, without bubbling so as not to cause oxygenation of the medium, by rotating the wrist. Another layer of SPS was added to ensure a strict anaerobic medium. The tubes were incubated at 44°C for 24 h.

#### ***Staphylococcus aureus* testing and counting**

They were carried out according to **NM 08.0.151** from **ISO 6888** (ISO 6888, 1999), following three steps. Firstly, **isolation** was done by spreading 0.1 ml of the stock solution on the surface of the Baird Parker medium in a homogeneous way, then incubating at 37°C for 24 to 48 hours. This was followed by **enrichment**, during which the black, shiny, convex colonies surrounded by a zone of clearing (suspect colonies) were inoculated into the BHI (Brain Heart Infusion) broth and incubated at 37°C for 24 hours. This was followed by **confirmation**, during which 0.3 ml of the broth culture is added to 0.3 ml of rabbit plasma and the tubes were incubated at 37°C for 24 hours. Coagulation of the plasma indicates the presence of *Staphylococcus aureus*.

#### **Yeast and mould counts**

It was done according to **NM 08.0.123** from **ISO 21527** (ISO 21527-2, 2008). It consists of spreading 0.1 ml of the stock solution and dilutions on the surface of Sabouraud media plates, then incubating at 37°C for 24 hours.

#### **Search for *Salmonella***

It was carried out according to **NM 08.0.116** from **ISO 6579** (ISO 6579, 2017) following four steps. First, **pre-enrichment** by incubating the stock solution for 18 h to 24 h at 36°C. Second, **enrichment** by adding 0.1 ml of the pre-enriched medium to tubes containing 10 ml of

Vassiliadis Rappaport broth, followed by incubation at 42°C for 18-24 hours. **This was** followed by **isolation** by exhaustion on Hektoen medium with incubation at 37° for 24 hours. Salmonella appear as greenish or greenish colonies with a blackish centre. Suspect isolates were plated on nutrient slant agar for identification. Finally, **biochemical identification** through a classical gallery is performed by lactose fermentation, glucose, H<sub>2</sub>S and gas production, ONPG (ortho-Nitrophenyl-β-galactoside) test for β-galactosidase enzyme, oxidase test, and Urea-Indole test. In parallel, the biochemical identification was confirmed by the miniaturised "Api 20E" gallery consisting of 20 microtubes containing dehydrated substrates allowing 20 biochemical tests (enzymatic or sugar fermentations) to be performed. After inoculation of the gallery, incubation was carried out at 37°C and visual reading begins after 24 hours.

#### **Testing for *Listeria monocytogenes***

It was carried out according to **NM 08.0.110** from **ISO 11290** (ISO 11290, 2017). The **pre-enrichment** step was carried out by homogenising 25 g of the feed in 225 ml of Fraser demi by the stomacher and incubating for 24 hours at 37°C. **Enrichment** was achieved by inoculating 0.1 ml of the pre-enriched culture into 10 ml of selective Fraser broth and incubating at 37°C for 48 hours. **Isolation** is performed on Oxford medium and incubated at 37°C for 48 hours. **Biochemical identification** of the classical gallery was carried out using the haemolysis test based on the use of horse blood agar for 24 to 48 hours at 37°C. In parallel, biochemical identification was also carried out using an Api 20E gallery composed of 10 microtubes allowing 10 enzymatic tests to be performed.

In parallel, the suspect bacteria were identified using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight (MALDI-TOF MS). This identification was based on the analysis of their constituent proteins. The identification was carried out from colonies obtained on different agar media. After depositing the colony to be identified in a thin layer, a mixture of water-acetonitrile-matrix allows the bacteria to burst and release the proteins. For bacteria with a wall

that is more difficult to lyse (Gram-positive bacteria), a preliminary extraction with formic acid was done before the addition of the matrix. This technique was used mainly for *Staphylococcus aureus*, sulphite-reducing anaerobes and coliforms.

The reading and interpretation of the results were carried out according to the ministerial decree n°293-19 which sets the standards for the sanitary quality of each food category in Morocco (Decree n°293-19, 2019) fixing the NM.08.0.120 as the standard regulating the expression of the results (Moroccan Standards, 2019). The interpretation of the results was based on the use of three-class or two-class plan depending on the microorganism to be investigated (Hildebrandt et al., 1995). The latter was based on the setting of a limit m value above which the food is considered unacceptable (non-compliant) (m value > 0), and acceptable (compliant) when this m value is equal zero (m value < 0). The purpose was to confirm the presence or absence of serious pathogens (*Salmonella* and *Listeria monocytogenes*). The three-class plan was used to interpret the number of aerobic mesophilic flora (TAM), sulphite-reducing anaerobes (SRA), *staphylococci* (*St*), coliforms total(CT), faecal coliforms(FC), yeasts and moulds(Y&M). When the counted value (X) is between the lower limit (m) and the upper limit (M), foods are considered conform and acceptable but the microbiological quality is unsatisfactory. A value below m ( $X < m$ ) indicates a satisfactory microbiological quality. The product is considered non-compliant (unacceptable) when the enumerated value exceeds M value. **Table 25** summarizes the process of food's microbiological analyzes followed during the present study.

#### **2.4. Statistical analysis**

Data were analyzed using SPSS Statistical Package software (SPSS version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ETATS-UNIS). The prevalence was calculated as a ratio between positive and total samples, and was given as percentage. The Chi-square test was used to assess the dependence between gluten-free food categories, and the difference was considered significant if p value <0.05.

**Table 25: Process of food's microbiological analysis**

Searched Microorganisms	Inoculation technique	Culture media	Incubation conditions	Norms	results
<b>Total germs (TG)</b>	Pour plate technique (1 ml)	Plate Count Agar	30°C/24-48h	MN 08.0.121 (2004)	count all bacteria
<b>Total Coliforms (TC)</b>	Pour plate technique (1 ml)	Desoxycholate Lactose Agar	30°C/24-48h	MN ISO 4832 (2007) IC. MN 08.0.115	count red colonies
<b>Fecal coliform (FC)</b>	Pour plate technique (1 ml)	Desoxycholate Lactose Agar	44°C/24-48h	MN 08.0.124 (2004)	count red colonies
<b>Staphylococcus aureus (S. aureus)</b>	Spread plate technique (0,1 ml)	Selective medium Baird Parker	37°C/ 24-48h	MN ISO 6888 (2002) IC.MN 08.0.104	count black colonies surrounded by a white ring
<b>Anaerobic Sulphitereducers (ASR)</b>	Pour plate technique (1 ml)	Sodium sulfite agar - Sulfite Polymyxin Cystein (20ml).	24-48h / 37°C	MN 08.0.125 (2004)	count black colonies
<b>Yeast and Mold</b>	Spread plate technique (0,1 ml)	Sabouraud agar medium Chloramphenicol Agar medium (1ml)	25°C/ 24-72h	MN 08.0.123 (2004)	count white colonies
<b>Salmonella sp (Salm)</b>	1) Pre-enrichment (25g of food). 2) Enrichment (0.1 ml of the mother solution MS) 3) Isolation : by streaking 4) Identification	1) Peptone Water (225 ml) 2) Visilliadis Rappaport Broth (10ml). 3) Hektoen. 4) Api 20E Gallery	1) 37°C/24h 2) 44°C/24h 3) 24h/ 37°C 4) 24-48h/ 37°C	MN 08.0.116 (2004)	on Hektoen: the grayish colonies with a black center
<b>Listeria monocytogenes (L.m)</b>	1) Pre-enrichment (25 g of food) 2) Enrichment: (1 ml of solution) 3) Isolation: by streaking technique 4) Identification	1) Frazer half Broth (225ml) 2) Frazer Broth 3) PALCAM * Trypton Soya 4) Api 10E Gallery	1) 30°C/ 24h 2) 37°C/ 48h 3) 37°C/ 24h 4) 37°C/ 24h	MN 08.0.110 (2006)	on Palcam and Oxyford: the greyish colonies with a black center

### 3. Results

Among the 62 gluten-free foods analysed, 372 analyzes were performed targeting the detection and the counting of six micro-organisms (total aerobic mesophilic flora, total coliforms, fecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, Sulphite-Reducing Anaerobic and yeasts and molds) in each sample. The results showed 19 cases (5.1%) of microbiological contamination (**Figure 17**).

**Total aerobic mesophilic flora:** Regarding the number of TAM flora, none of gluten-free foods were considered microbiologically unacceptable, 77.4% were acceptable, and 22.6% of them were satisfactory.

**Total coliforms & coliforms Faecal:** Only 3.2 % and 6.4 % of gluten-free foods had a higher content of total coliforms and coliforms faecal respectively. The satisfactory quality in gluten-free foods was more noticeable regarding the number of faecal coliforms than total coliforms.

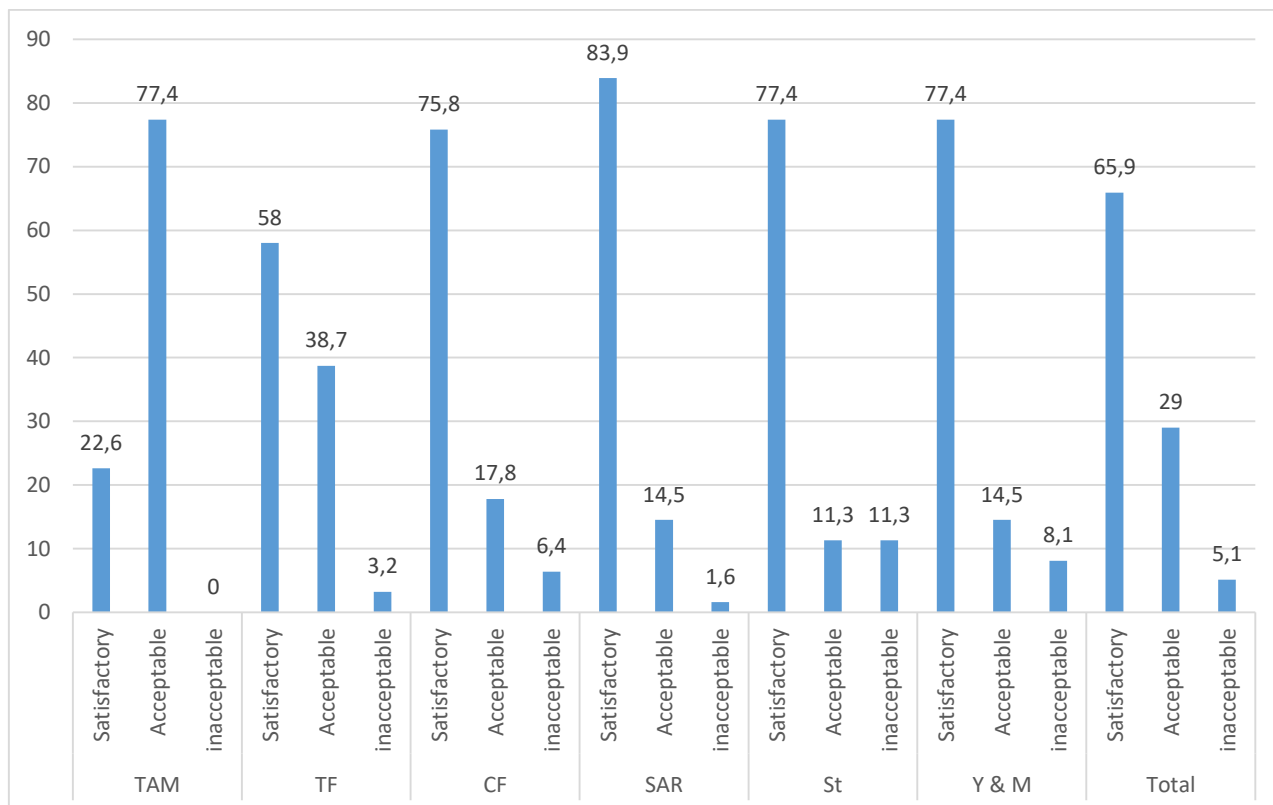
**Sulphite-reducing anaerobes:** The number of feeds with unacceptable quality did not exceed 1.6% for sulphite-reducing anaerobes. The majority of products were acceptable (83.9%), while the prevalence of satisfactory microbiological quality in investigated samples was 14.6%.

***Staphylococcus aureus*:** The number of *Staphylococcus aureus* over the threshold was found in seven samples, causing 11.3% of unacceptable foods. Satisfactory quality was observed in 77.4% of samples, while 11.3% of them had an acceptable microbiological quality.

**Yeasts and moulds:** Regarding the number of yeasts and moulds, satisfactory, acceptable and unacceptable quality were noted in 77.4%, 14.5% and 8.1% respectively.

Furthermore, among the unacceptable microbiological quality foods analysed, none of them exceeded the toxic threshold (S=1000m).

***Salmonella and Listeria monocytogenes detection:*** In all gluten-free foods analysed, *neither Listeria monocytogenes nor Salmonella* were detected.



**Figure 17: Unacceptable, Acceptable and satisfactory microbiological quality percentages of microflora counted in gluten-free foods**

#### **Difference between L-GFP, N-GFF and meals-GF categories**

Foods labelled gluten-free were the least contaminated compared to the other categories. A Contamination by yeasts and moulds (Unacceptable quality) was noticed in 5% of **L-GFP** and in 18.2% of **N-GFF**. The latter category of foods was also contaminated by *Staphylococcus aureus*, faecal and total coliform in 13.6%, 13.6% and 5.4% of cases respectively. The gluten-free meals prepared at home were contaminated in prevalence of 11.7% mainly with *Staphylococcus aureus*. This food category was also contaminated by faecal coliforms, total coliforms and sulphite-reducing anaerobes. While, no contamination was observed in meals prepared in food services (**Table 26**).

**Table 26 Percentage (%) of microbiological quality by category of gluten-free foods and microorganism types**

micro-organismes	Quality	L-GFP	N-GFF	Meals		
				Prepared at home	Prepared in food service	Both-Meals
<b>TAM</b>	Satisfactory	35	9.1	10	40	25
	Acceptable	65	90.1	90	60	75
	Unacceptable	0	0	0	0	0
<b>TF</b>	Satisfactory	80	50	40	50	45
	Acceptable	20	54.5	50	50	50
	Unacceptable	0	4.5	10	0	5
<b>CF</b>	Satisfactory	90	77.3	40	80	60
	Acceptable	10	9.1	50	20	35
	Unacceptable	0	13.6	10	0	5
<b>SAR</b>	Satisfactory	95	72.7	80	90	85
	Acceptable	5	27.3	10	10	10
	Unacceptable	0	0	10	0	5
<b>St</b>	Satisfactory	100	86.4	30	60	45
	Acceptable	0	0	30	40	35
	Unacceptable	0	13.6	30	0	20
<b>Y &amp; M</b>	Satisfactory	85	50	100	100	100
	Acceptable	10	31.8	0	0	0
	Unacceptable	5	18.2	0	0	0
<b>Total</b>	Satisfactory	80.8	57.6	50.0	70.0	60.0
	Acceptable	18.4	34.1	38.3	30.0	34.2
	Unacceptable	0.8	8.3	11.7	0.0	5.8

**TAB:** Total Aerobic Bacteria; **TC:** Total coliforms; **FC:** Faecal coliforms; **St:** *Staphylococci Aureus*; **SAR:** Sulphite-Reducing Anaerobic; **Y & M:** Yeasts and Molds;  
**L-GFP:** Labelled gluten-free products; **N-GFF:** Naturally gluten-free foods; **M-GF :** Meals gluten-free.

Satisfactory quality:  $X \leq m$ ; Acceptable quality:  $m \leq X \leq M$ ; Unacceptable quality (contaminated):  $X \geq M$  **With:** **m:** desired minimum threshold of contamination, **M:** maximum threshold of tolerable contamination; **X=**number of CFU/g in log



#### 4. Discussion

There are many aspects related to the safety of gluten-free foods such as exact gluten content and contamination by physical or chemical substances (Kulushtayeva et al., 2019; Saturni et al., 2010). Microbiological contamination of foods may be responsible for intestinal food poisoning in celiac patients whose intestinal villi are already damaged by atrophy (Sarno et al., 2015). In overall, among the sample analysed in our study, the majority of gluten-free foods displayed a satisfactory microbiological quality. These results are in accordance with those reported by similar studies conducted in Italy and Brazil (Losio et al., 2017; Godoy et al., 2015). Contamination of gluten-free meals was particularly pronounced in home-prepared meals. It was mainly caused by *Staphylococcus aureus* and coliforms, which is probably due to poor hygienic conditions. Indeed, celiac patients give great importance to the gluten content in gluten-free foods and often neglect the microbiological aspects. No contamination of gluten-free meals prepared in food services was observed in the foods analysed. This may reflect the importance that restaurants and bakeries place on microbiological safety during the preparation process of these foods. This good compliance was also reported by a study conducted in a school catering facility in Italy (Petruzzelli et al., 2014). Indeed, the absence of serious microbiological risks in gluten-free and lactose-free foods prepared by the services of this school confirms compliance with good hygienic practices after implantation of HACCP (Petruzzelli et al., 2014).

Contamination of products labelled as “gluten-free” was almost absent and was noticed in less than 1% of the samples. This shows that hygienic practices have been followed during all the formulation processes of gluten-free products, in accordance to HACCP system (Petruzzelli et al., 2014; Westrell et al., 2004).

It was remarkable that naturally gluten-free foods were frequently contaminated with yeast and mould, which could be due to poor storage conditions. This can also be explained by the fact that these foods, dedicated mainly to patients on a gluten-free diet, are generally stored for a

long time before being sold. Definitely, the longer the storage period of gluten-free foods, the more the number of yeasts and molds increases (Varsava et al., 2018). In contrast, as a naturally gluten-free food, quinoa is generally free of microorganisms (Godoy et al., 2015). In the N-GFF of our study, coliform contamination was observed in 13.6%, which is probably related to improper handling of these foods during the processes of harvest, storage and sale.

As a serious health hazard, the presence of *Salmonella* and *Listeria Monocytogenes* in gluten-free foods is alarming. In fact, *Salmonella* and *Listeria Monocytogenes* are among the major causes of food-borne disease outbreaks (Belomaria et al., 2007). Fortunately, no gluten-free foods has been contaminated with these dangerous bacteria. Similar findings were reported by studies conducted on L-GFP (Losio et al., 2017; Godoy et al., 2015). Similarly, such contamination was absent in gluten-free meals prepared in food services as reported by Petruzzelli et al.(2014).

## **5. Strengths and limitations**

At the limit of our knowledge, this study represents the first one carried out in Morocco or even in African countries, which highlighted the importance of the microbiological safety of GFF, by including three food categories at once (N-GF, L-GFP and gluten-free meals). Nevertheless, as limitations, the sample size of foods analysed remains relatively small to draw too many conclusions, especially about some more virulent food poisoning microorganisms (*Salmonella* and *Listeria Monocytogenes*). On the other hand, as recommended by food regulations, the study did not investigate for *Bacillus cereus* whose analysis requires the use of a specific agar medium, not available in the context of the study.

## **6. Conclusion**

The results of our study showed a high prevalence of contamination in naturally gluten-free foods (8.3%) and gluten-free meals prepared at home (11.7%), predominantly with yeasts and molds for the first category, and with *Staphylococcus aureus* and coliforms for the second

category of foods. While no contamination was observed in gluten-free meals prepared in food services. We also noticed the absence of contamination with some pathogens like *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*, known for their extreme virulence. Therefore, rigorous hygienic practices and adequate corrective measures should be considered by celiac patients, especially regarding the N-GFF and meals prepared at home.

## **B/ Teneur en gliadine dans les aliments sans gluten**

## **Détection de la teneur en gluten dans les aliments naturellement sans gluten et les produits étiquetés sans gluten**

Les patients cœliaques sont constamment préoccupés par la sécurité des aliments sans gluten (ASG), qui sont fréquemment exposés au risque de contamination par le gluten. D'où l'importance d'évaluer le niveau de gluten dans ces aliments. L'objectif de cette étude était d'évaluer la teneur en gluten dans les ASG disponibles au Maroc. Cette étude a été réalisée sur 84 échantillons alimentaires, dont 52 produits sans gluten étiquetés (L-GFP) et 32 aliments naturellement sans gluten (N-GFF), appartenant à six catégories (pâtes, biscuits et gâteaux, levure de boulangerie, légumes secs, fruits secs, céréales). Pour quantifier leur teneur en gluten, les échantillons ont été analysés à l'aide d'un test d'immuno-absorption enzymatique en sandwich (R5 ELISA Ridascreen® gliadine Mendez), en considérant 20 mg/kg comme seuil de contamination. Le taux de contamination global était de 23.8%, celui de la L-GFP était de 25% contre 21% pour la N-GFF. Parmi les six catégories analysées, trois d'entre elles (pâtes, biscuits et levure de boulangerie) n'ont montré aucune contamination. Celle-ci a été observée dans 5.3% des légumes secs et dans 25% des fruits secs. Le taux de contamination a été estimé à 42,1% dans les céréales, ce qui a affecté tous les échantillons d'avoine. Les L-GFP fabriqués localement étaient modérément plus nombreux que ceux importés (28.6% vs 16.7%). Nos données montrent une forte prévalence de la contamination par le gluten du ASG, affectant à la fois le N-GFF et le L-GFP, et l'avoine a été considérée comme la plus contaminée parmi les aliments analysés. Par conséquent, des contrôles réguliers des ASG par les autorités compétentes sont nécessaires afin d'éviter la vente des ASG non conformes et dangereux pour les patients cœliaques. De même, les fabricants devraient être encouragés à adopter des systèmes de gestion de la qualité adéquats.

## **Original Research**

### **Detection of Gluten Content in Naturally Gluten-Free Foods and Labeled Gluten-Free Products**

#### **Abstract:**

**Background/Objectives:** Celiac patients are constantly preoccupied about the safety of gluten-free foods (GFF), which are frequently exposed to the risk of contamination by gluten. Hence, the importance of evaluating the level of gluten in these foods. The aim of this study was to assess the gluten content in GFF available in Morocco.

**Methods:** This study was carried out on 84 food samples including 52 labeled gluten-free products (L-GFP) and 32 naturally gluten-free foods (N-GFF), belonging to six categories (Pasta, Cookies and cakes, Baker's yeast, Dried vegetables, dried fruits Cereals). To quantify their gluten content, samples were analyzed using a sandwich enzyme immuno-absorption assay (R5 ELISA Ridascreen® gliadin Mendez), considering 20 mg/kg as a contamination threshold.

**Results:** The overall contamination rate was 23.8%, that of L-GFP was 25% versus 21.88% for N-GFF. Among the six categories analysed, three of them (Pasta, Cookies, and Baker's yeast) did not show any contamination. This was observed in 5.3% of dried vegetables and in 25% of dried fruits. The contamination rate was estimated at 42.1% in cereals, which affected all samples of oats. L-GFP locally manufactured were moderately more than those imported (28.6% vs. 16.7%).

**Conclusion:** Our data show a high prevalence of gluten contamination of GFF, affecting both N-GFF and L-GFP, and the oat was considered as the most contaminated among the foods analysed. Therefore, regular checks of GFP by the relevant authorities are necessary in order to avoid the selling of non-compliant and unsafe GFF for celiac patients. Likewise, manufacturers should be encouraged to adopt adequate quality management systems.

**Keywords:** Gluten-Free Foods; Gluten content analysis; ELIZA, Contamination; Morocco.

## **1. Introduction**

Gluten represents the major protein components of cereals and consists of glutelin and prolamins (Wieser, 2007; Alaedini and Green, 2005). The prolamins part of wheat (gliadin), barley (ordeine) and rye (secaline) may trigger immune reactions in predisposed individuals. This leads to the development of linked pathologies mainly celiac disease (CD), non-celiac gluten sensitivity and wheat allergy (Zuidmeer et al., 2008). CD corresponds to an immune mediated disease characterized by a destruction of the small intestine villi, crypt hyperplasia and increased intraepithelial lymphocytes, with classic, asymptomatic or oligosymptomatic, and extra-intestinal clinical forms (McAllister et al., 2019). It affects between 0.7% and 1.4% of general population (Singh et al., 2018). Management of CD relies on lifelong monitoring of a gluten-free diet (GFD) (Xhakollari et al., 2019). This is based on the consumption of naturally gluten-free foods (N-GFF) and labelled gluten-free products developed by industrials (L-GFP) (Sansotta et al., 2018). The market of gluten-free foods (GFF) has growing colossally in recent years (Cureton & Fasano, 2009). For instance, in the USA, the annual growth of GFF is estimated to reach 9.3% between 2017 and 2025 (Grand View Research, 2017). Several factors impede the adherence to the GFD, such as availability, cost, nutritional quality and product labelling (Frcpc, 2014). In addition, the safety of GFF is a major preoccupation of celiac patients, which is related to their exact gluten content. Indeed, GFP must not exceed a threshold of 20 mg/kg of gluten content during the manufacturing process of L-GFP. However, an unintentional contamination may occur especially in the absence of adequate hazard analysis critical control points (HACCP). It can also occur to N-GFF whose ingredients do not contain wheat, rye and barley during harvesting, transportation, distribution and preparation.

The detection of gluten in foods has experienced a considerable development over recent years thanks to the advancement of related immunological and non-immunological techniques (Mena & Sousa, 2015). Immunological methods are widely used to quantify the gluten content in foods consumed by celiac patients. They aim to detect prolamins epitopes, targeted by specific

antibodies namely R5, G12, A1,  $\omega$  gliadin, PN3 and CD5 (Bustamante et al., 2017). For this purpose, among various Enzyme-linked immune-sorbent assay (ELISA) methods, Codex Alimentarius recommends the use of ELISA R5 sandwich for non-hydrolysed foods and ELISA R5 competitive for hydrolysed foods (Codex Alimentarius Commission, 2006). Other methods may be useful as alternative or complementary assays to qualitatively and/or quantitatively measure the presence of gluten in different categories of foods, likely Western blot, high performance liquid chromatography mass spectrometry, polymerised chain reaction and potentiometric electronic tongue (Panda & Garber, 2017). In this context, the objective of this study was to quantify the gluten content in L-GFP and N-GFF available in Morocco.

## **2. Material & Methods**

### **2.1. Food samples**

We collected 84 food samples which were subdivided into two groups. The first group included 52 L-GFP that has mentioned on their labelling the following terms: “gluten-free”, “without gluten”, “no gluten” and “zero gluten”. Were considered as L-GFP «Cereals, Flour and Bake mix GF», « Pasta GF», « Cookie and Cakes GF», and «Dried vegetables GF» (**Table 27**). The second group included 32 N-GFF, corresponding to foods that should not contain wheat, rye and barley on their ingredients. Were considered as N-GFF « Dry Fruits-with shell», «Dry Fruits-without shell», «Cereals/Pseudocereals-grains» and «Cereals/Pseudocereals-Flour» (**Table 27**). Was excluded from the study any food with labels bearing terms such as ‘made in a wheat processing plant’, ‘may contain wheat traces’, ‘wheat starch’, ‘hydrolyzed wheat proteins’, ‘malt extract’, or ‘malt extract aroma’. Food samples were randomly collected between December 2020 and January 2021 from three Moroccan supermarkets for L-GFP and from three points of sale for N-GFF.



**Table 27 Categories of labeled gluten-free and naturally gluten-free food analyzed**

<b>Labelled gluten-free products</b>	<b>Number sample</b>	<b>Select examples</b>
Cereals/ Baker's yeast	<b>13</b>	Rice, Corn, Oat, Baker's yeast
Cookie and Cakes	<b>8</b>	Cookies, Cakes, Chips, Kelia
Pasta	<b>5</b>	Fusilli, Penne, Spaghetti
Dried vegetables/ Qattani	<b>6</b>	Chickpeas, Lentils, Beans
<b>Naturally gluten-free foods</b>	<b>Number sample</b>	<b>Select examples</b>
Dry Fruits(with shell without shell)	<b>12</b>	Cashew, Almond, Pistachio nuts, Peanuts, Sunflower fry, Nut
Dried vegetables/ Qattani	<b>13</b>	Peas, Beans, Lentils, Haricot faba, Chickpeas, Soy
Cereals/Pseudocereals-Grains	<b>20</b>	Quinoa, Chia, Sesame, Rice, Flax seed, Corn, Oat
Cereals/Pseudocereals-Flour	<b>7</b>	Rice, Corn, Ryegrass

## **2.2. Analysis and Gluten measurement by ELISA**

As recommended by Codex Alimentarius, the sandwich R5 ELISA RIDASCREEN® gliadin Mendez method was used to analyze the samples. Beforehand, the gluten was extracted using an extraction kit composed by a solution patented (Art. No. R7006-R7016-official Mendez method), which contains mercaptoethanol and guanidine hydrochloride. The R5-RIDASCREEN® gliadin Mendez method (R7001; R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany) is a quantitative sandwich ELISA technic using monoclonal antibody (R5) that specifically targets gliadins. These antibodies bind two epitopes of prolamins from wheat (gliadin), barley (hordein), and rye (secalin). They react with the pentapeptides QQFPF, QLFPF, LQFPF, and QQQFP sequences, considered toxic to coeliac patients. The substrate and chromogen reveals the complex "Enzyme-conjugated antibody linked to the Antigen- Capture Ab". The absorbance of the reaction was measured at wavelength of 450 nm using spectrophotometry system, thus

making it possible to determine the concentration of gliadin in the sample. The detection limit of this method was set at 2.5 mg/kg of gliadin, which corresponds to 5 mg/kg of gluten.

### 2.3. Statistical analysis

The data obtained were analyzed using SPSS-Statistical Package (SPSS version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The comparison between the qualitative variables was made by either Exact Fischer or Khi-Square test. The difference was considered significant if the p-value is less than 0.05.

### 3. Results

In 84 samples analysed, the gluten content was above the threshold in 20 of them (23.81%); among which 10 foods showed more than 80 ppm of gluten and 10 foods had content of gluten ranging between 20 and 80 ppm. Among those below the threshold, the gluten content was between 10 and 20 ppm, between 5 and 10 ppm and lower than 5 ppm in 3 ( 3.6%), 3 (3.6%) and 56 (66.7%) foods respectively (**Table 28**) .

**Table 28 Results of gluten analysis of gluten-free foods**

	gluten content					Total n(%)
	<5 mg/kg n(%)	]5 mg/kg- 10 mg/kg] n(%)	]10 mg/kg-20 mg/kg] n(%)	]20 mg/kg- 80 mg/kg] n(%)	>80 mg/kg n(%)	
<b>Labelled gluten-free products</b>	23(71.9)	2(6.25)	0(0)	3(9.38)	4(12.5)	32
<b>Naturally gluten-free foods</b>	33(63.46)	3(5.77)	3(5.77)	7(13.46)	6(11.54)	52
<b>Overall gluten-free foods</b>	56(66.7)	5(5.95)	3(3.57)	10(11.9)	10(11.9%)	84

### **3.1. Gluten-free labelled products (L-GFP)**

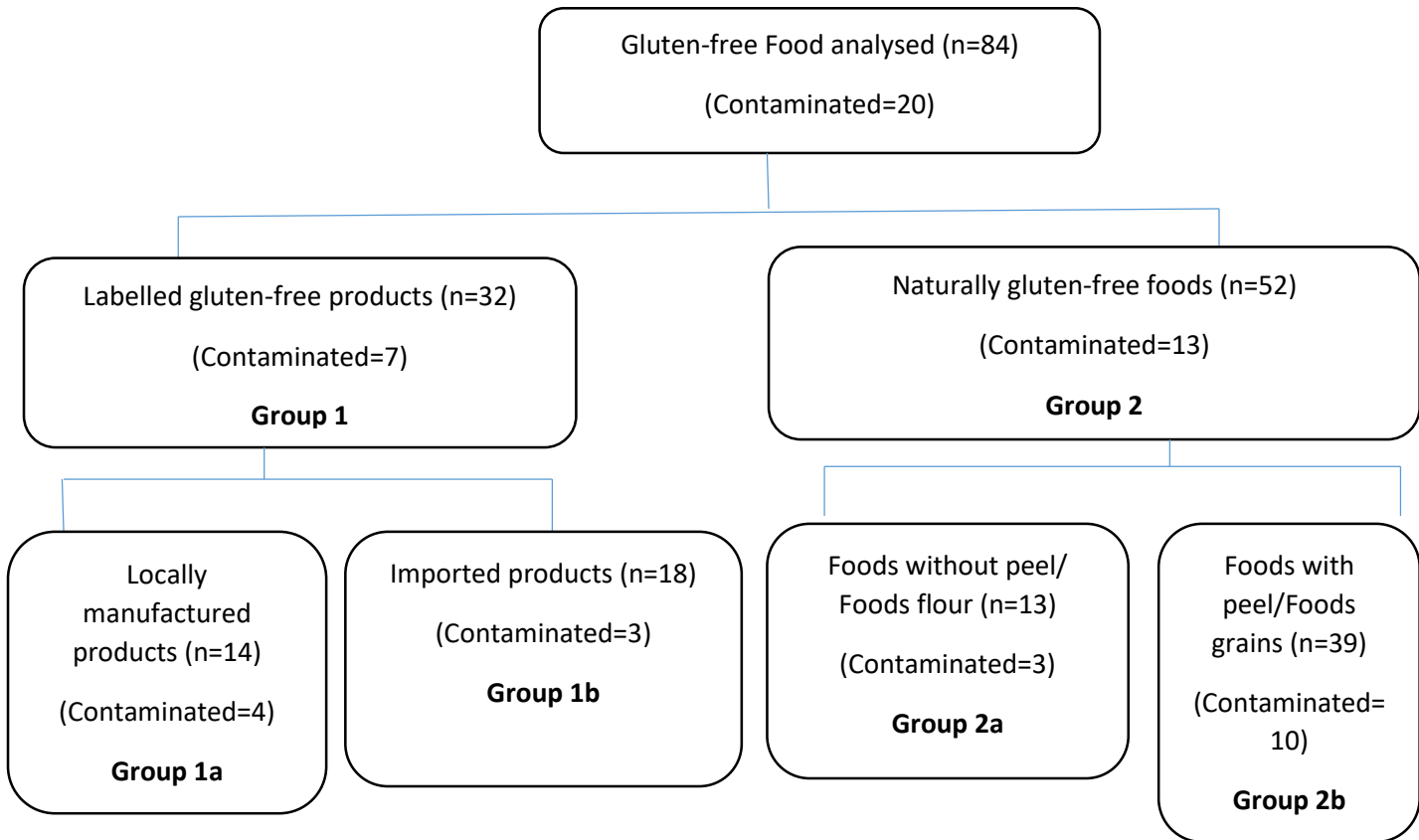
In the category of L-GFP analyzed, seven of them (21.88%) had a gluten content higher than 20 ppm. Three of them had more than 80 ppm and four showed between 20 and 80 ppm of gluten (**Table 28**). In the sample of locally manufactured foods (44% of L-GFP analysed), the contamination rate was estimated at 28.6%, versus 16.7% in imported L-GFP (**Figure 18 & Figure 19**).

### **3.2. Foods naturally gluten-free (no wheat/rye/barley on the ingredient)**

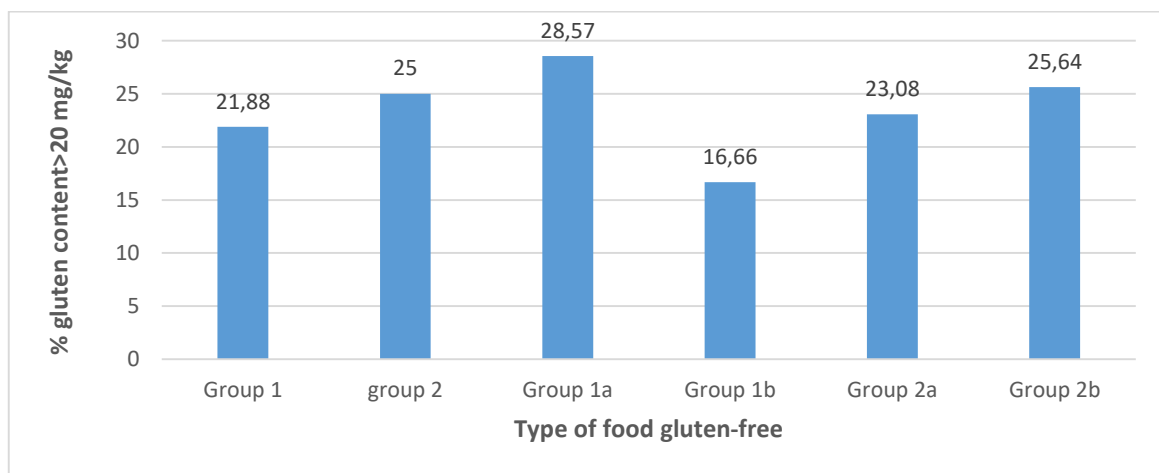
N-GFF represent 61.9% of the total foods analyzed, of which 13 (25%) contained gluten levels above threshold. These corresponded either to “Food with grains and with peel” category (25.64%) or to “ Food without peel or without grains” category (23.08 (**Figure 18 & Figure 19**). Of the 13 N-GFF, six were foods with a gluten content more than 80 ppm (**Table 28**).

### **3.3. Non-compliance according to food categories and staple ingredients**

Among the six food categories analyzed, three categories did not contain any non-compliant food (Pasta, Cookies and cakes and Baker's yeast). Contamination was observed in 5.3% of dried vegetables and in 25% of dried fruits. The contamination rate was high and estimated at 42.1% in cereals (**Table 29**). The contamination by staple ingredients is detailed in **Table 30**. Oats remained the most staple non-compliant among the foods analysed. The contamination concerned all oat foods (n=10), seven of which contained a gluten content exceeding 80 ppm. It was observed in seven of N-GFF and in three of imported L-GFP (**Table 30**).



**Figure 18. Number of gluten-free food analysed and contaminated in labelled gluten-free and naturally gluten-free foods groups.**



**Figure 19. Percentage of contaminated products in each food group**

**Group 1:** Gluten-free labelled products; **Group 2:** Naturally gluten-free; **Group 1a:** Locally manufactured products; **Group 1b:** Imported products; **Group 2a:** Foods without peel/Foods flour; **Group 2a:** Foods with peel/ Foods grains

**Table 29. Proportion of items containing >20 ppm of gluten by food category (contaminated/ tested products)**

Food Category	Overall	Group 1		Group 2	
		Labelled gluten-free products		Naturally gluten-free foods	
		Group 1a	Group 1b	Group 2a	Group 2b
<b>Cereals/Pseudocereals</b>	16/38	4/8	3/3	0/7	9/20
<b>Dried vegetables/ Qattani</b>	1/19	0/6	-	-	1/13
<b>Dried Fruits</b>	3/12	-	-	0/6	3/6
<b>Pasta</b>	0/5	-	0/5	-	-
<b>Cookie and Cakes</b>	0/8	-	0/8	-	-
<b>Baker's yeast</b>	0/2	0/2	-	-	-
<b>Total</b>	20/84	4/14	3/16	0/13	13/39
<b>Total</b>	20/84	7/32		13/52	

**Table 30. Proportion of items containing >20 ppm of gluten by staple ingredient (contaminated/tested products)**

Food Category	Overall	Labelled gluten-free products		Naturally gluten-free foods	
		Group 1a (Locally manufactured)	Group 1b (Imported products)	Group 2a (Foods without peel/Foods flour)	Group 2b (Foods with peel/ Foods grains)
Cashew	1/2	-	-	1/1	0/1
Almond	0/2	-	-	0/1	0/1
Pistachio nuts	1/2	-	-	1/1	0/1
Peanuts	1/2	-	-	1/1	0/1
Sunflower Fry	0/2	-	-	0/1	0/1
Nut	0/2	-	-	0/1	0/1
Peas	0/2	-	-	-	0/2
Beans	0/5	0/2	-	-	0/3
Haricot faba	1/2	-	-	-	1/2
Lentils	0/4	0/2	-	-	0/2
Chickpeas	0/4	0/2	-	-	0/2
Soya	0/2	-	-	-	0/2
Quinoa	0/3	-	-	-	0/3
Chia	0/2	-	-	-	0/2
Sesame	0/2	-	-	-	0/2
Flax seed	0/2	-	-	-	0/2
Ryegrass	0/2	-	-	0/2	-
Rice	2/7	1/4	-	0/1	1/2
Corn	4/10	3/4	-	1/4	0/2
Oat	10/10	-	3/3	-	7/7
Baker's yeast	0/2	-	0/2	-	-
Cakes and Cookies	0/8	-	0/8	-	-
Pasta	0/5	-	0/5	-	-
<b>Total</b>	<b>20/84</b>	<b>4/14</b>	<b>3/18</b>	<b>4/13</b>	<b>9/39</b>
<b>Total</b>	<b>20/84</b>	<b>07/32</b>		<b>13/52</b>	

#### **4. Discussion**

During our study, we noticed that even the products were labelled “gluten-free”, 21.8% of them were contaminated according to Codex Alimentarius. A high prevalence of L-GFP contamination was also reported by a Brazilian, American, Turkish and Lebanese studies with 21.5%, 20.5%, 17.5% and 6% respectively (Farage et al., 2017; Lee et al., 2014; Atasoy et al., 2020; Hassan et al., 2017). Conversely, the contamination rate was shown to be low in an Italian, Australian and Spanish studies with 0.8%, 0.66% and 0.5% respectively (Losio et al., 2017; Halmos et al., 2018; Gibert et al., 2013). By comparing locally manufactured and imported L-GFP, it was remarkable that L-GFP locally manufactured were moderately more contaminated than those imported (28.6% vs. 16.7%;  $p=0.426$ ). This shows that compliant GFPs have been made available in our country which will increase their safety, hence allowing a better adherence of celiac patients to GFD. The percentage of gluten contamination in N-GFF was moderately higher than that of L-GFP (25% vs 21.9%). These results are in accordance with those reported by similar studies conducted in India, Spain, Italy, Brazil, USA, Canada, Greece and Finland (Raju et al., 2020; Bustamante et al., 2017; Verma et al., 2017; Mattioni et al., 2016; Sharma et al., 2015; Koerner et al., 2013; Agakidis et al., 2011; Collin et al., 2004). At the opposite, few studies like those carried out in South Africa, Poland and Sweden noted that L-GFP were more contaminated than N-GFF (Cawthorn et al., 2010; Daniewski et al., 2010; Störsrud et al., 2003). Furthermore, the overwhelming majority of studies had been carried out in upper-middle-income and high-income countries, and only one study have been recently registered in India as a lower-middle-income country (Raju et al., 2020).

Our data showed that all oat samples were contaminated. A remarkable high rate of contamination has previously been reported in the Czech Republic, the United States and Canada, with 57.5%, 75% and 88% respectively (Rysová et al., 2019; Thompson, 2004; Koerner et al., 2011). This goes on line with other studies in which oat represents the main contaminated food, as reported by an Indian, Italian, South African and Sweden authors (Raju

et al., 2020; Verma et al., 2017; Cawthorn et al., 2010; Stôrsrud et al., 2003). According to Rysová et al, the contamination of oat affects mainly the natural gluten-free category (Rysová et al., 2019). Usually, the harvesting, manufacturing, transporting and distributing the oat are carried out in the same chain as wheat, rye or barley, causing cross contamination by gluten. This emphasizes the debate around the consumption of oats by celiac patients and confirms the need for strict double-blind, systematic, randomized and placebo-controlled trials using oats that are commonly available in different regions (Pinto-Sánchez et al., 2017).

Hence, accidental contamination of GFF may occur, making these foods non-compliant. Therefore, it is necessary to consistently respect good hygiene and good manufacturing practices during the whole process of harvesting, manufacturing, transporting, distribution, handling, and consumption of GFF. Furthermore, the implementation of a robust HACCP system remains an obligation by manufacturers. Currently, some researchers are calling for changes in the labeling regulations of products, regarding their gluten content. According to these regulations, foods can be distinguished in "gluten free" and "very low gluten" categories. Indeed, it will be more obvious to add some statements such as "suitable for people intolerant to gluten", "suitable for coeliac", "specifically formulated for people intolerant to gluten" or "specifically formulated for coeliacs"(Grabowicz and Czaja-Bulsa, 2019). This will allow celiac patients to better identify GFF when following GFD (EUR-Lex , 2018). In this context, European countries have required manufacturers to indicate the presence of any sensitizing foods including gluten (European Regulation, 2011). Australia and New Zealand have also complied to strict standards for "gluten-free" foods (Federal Register of Legislation, 2020). In Morocco, a specific law (78-10) (National Office for Food Safety, 2013) requests manufacturers to indicate the presence of gluten as well as allergens in food products. However, no GFP related regulations have been implemented. Thus, the absence of these regulations and



the consumption of contaminated gluten-free foods can lead to exceeding the tolerated safety threshold (100 ppm) per day causing non-compliance to GFD (Collin et al., 2004).

### **5. Study limitations**

To the limit of our knowledge, our study is the first to be conducted in this field in Morocco, or even in North African countries as lower-middle-income countries. Nevertheless, as limitations, this research was based on a fairly limited number of samples, due to the low availability of GFF in Morocco. On the other hand, this study did not include foods that contain tannin and polyphenol (e.g. chocolate, coffee, cocoa, buckwheat, millet and spices), whose analysis requires the addition of gluten-free skim milk powder, which was currently not available in Moroccan markets.

### **6. Conclusion**

The results of our study concluded that both N-GFF and L-GFP were highly contaminated by gluten, affecting more L-GFP locally manufactured. In this regard, the oat was the most non-compliant food among all the samples analysed. Therefore, regular checks of GFF by the relevant authorities is of utmost importance in order to avoid the commercialization of non-compliant and unsafe GFFs for celiac patients. Likewise, manufacturers must be encouraged to integrate quality management systems during the production process of gluten-free foods, and to respect good hygiene and manufacturing practices.

**CHAPITRE 5 :**

**La Pratique de la Réglementation de  
L'étiquetage des  
Allergènes (Gluten et d'autres) dans  
les Produits Agro-Alimentaires**

## **L'étiquetage des allergènes dans les produits alimentaires : Pratiques réglementaires du gluten au Maroc**

Les substances allergènes provoquent des allergies alimentaires, qui représentent un problème de santé majeur dans la plupart des pays. Ceci souligne l'importance de considérer l'étiquetage des produits ainsi que d'appliquer les pratiques réglementaires y afférentes. L'objectif de cette étude était d'évaluer les pratiques d'étiquetage des allergènes dans les produits alimentaires au Maroc. Cette enquête transversale a été menée sur 206 produits alimentaires collectés dans quatre supermarchés d'une mégapole marocaine. Les données relatives aux substances allergènes (allergènes déclarés, caractères d'accentuation, étiquetage de précaution des allergènes) ont été recueillies à partir des étiquettes des produits alimentaires. Parmi les quatorze substances allergènes requises par la réglementation alimentaire marocaine, huit d'entre elles étaient indiquées sur les étiquettes : blé (gluten), lait, arachides, soja, œufs, noix, moutarde, sulfites  $\geq 10$  mg/kg. Le lait était l'allergène le plus déclaré (55.34%), suivi du gluten (37.86%) et du soja (38.35%). La majorité (72.34%) des produits alimentaires ont indiqué un à cinq allergènes dans leur liste d'ingrédients. L'accentuation du caractère de l'étiquetage n'a été observée que dans 34,9% des produits, et seulement 10.2% ont mentionné " contient X allergène " comme une déclaration spécifique immédiatement après ou à côté de la liste des ingrédients pour déclarer la présence d'allergènes. L'utilisation d'une mention préventive sur l'étiquetage des allergènes a été observée dans 30.1% des produits alimentaires. Comparée aux réglementations des comités internationaux, la réglementation marocaine sur les allergènes alimentaires est aussi exigeante que celle des pays européens et plus exigeante que celle de la plupart des pays africains. Cependant, l'application de cette réglementation reste insatisfaisante. Par conséquent, les fabricants marocains devraient se conformer strictement à toutes les considérations de cette réglementation afin d'éviter que les consommateurs prédisposés ne soient exposés à des substances allergènes potentiellement dangereuses.

## **Research paper**

### **Allergen's labelling of food products: Regulatory practices of gluten in Morocco**

#### **Abstract:**

**Background:** Allergenic substances cause food allergy, which represents a major health issue in most countries. This underlines the importance of considering the products' labelling as well as applying related regulatory practices. The objective of this study was to assess the labelling practices of allergens in food products in Morocco.

**Design/methodology:** This cross-sectional survey was conducted on 206 food products collected from four supermarkets in a Moroccan megacity. The data related to the allergen substances (allergen declared, emphasis characters, precautionary allergen labeling) were collected from labels of food products.

**Results:** Among the fourteen allergenic substances required by Moroccan food regulations, eight of them were indicated on the labels: wheat (gluten), milk, peanuts, soy, eggs, nuts, mustard, sulfites  $\geq 10$  mg/kg. The milk was the most declared allergen (55.34%), followed by gluten (37.86%) and soy (38.35%). The majority (72.34%) of food products have indicated one to five allergen on their ingredient list. Emphasis character labelling was observed only in 34.9% of products, and only 10.2% mentioned "contains X allergen" as a specific statement immediately after or adjacent to list of ingredients to declare the presence of allergens. The use of a precautionary allergen labelling statement was noticed in 30.1% of food products.

**Conclusion:** Compared to international committees regulations, the Moroccan food allergen regulation is as demanding as Europe countries and more requiring than most of African countries. However, the application of this regulation remains insatisfactory. Therefore, Moroccan manufacturers should strictly comply with all these regulation considerations to prevent predisposed consumers from being exposed to potentially threatening allergenic substances.

**Keywords:** Food allergy; labelling; Regulation practices; Allergenic substances; Morocco.

## **1. Introduction**

Food allergy is a type of hypersensitivity characterized by either IgE-mediated or non IgE-mediated mechanisms (Labrosse et al., 2020). Recently, it has becoming a major health problem in most countries and its prevalence is estimated from 0.1 to 6% (Nwaru et al., 2014). It can cause serious or even fatal complications such as anaphylaxis, and its severity depends on the type of allergic substances, which require an urgent medical intervention (Gupta et al., 2019). Different food allergens are known, among which fourteen are predominant including milk, eggs, fish, molluscs, nuts, peanuts, celery, gluten, crustaceans, soya, lupin, mustard, sesame and sulphites( $\geq 10$  mg/kg) (Remington et al., 2020). Until now, there is no definite cure for food allergy. therefore, to avoid it, it is mandatory to consume only foods free of these allergic substances (Sampson, 2004). In order to identify these allergens by consumers, the Codex Alimentarius commission committee recommends that manufacturers declare allergenic substances and derived ingredients on the labeling of foodstuffs (Codex alimentruis, 2001). In this context, European Commission (European Unin EC), Food And Drugs Act (Canada), Food and Drug Administration (United States) and other committes have applied these recomandations (European Commision, 2011; (Food And Drugs Act, 2011; FDA, 2004). There are some differences between countries regarding the number of allergenic substances and the regulatory practices adopted (Gendel, 2012). However, the pratice of this regulation remains unsatisfactory in developed countries (Battisti et al., 2017).

In Africa, the prevalence of food allergy has been increasing considerably during the last decades, especially in high-income countries like Morocco (Hossny et al., 2019; Kung et al., 2014). In this country, the food allergy accounts for about 45% among all types of allergic diseases in children (Ghadi et al., 2007). It is estimated at 11.5% in general population(Azdad et al., 2018) and 28% in schoolchildren(Azdad et al., 2016). allergy to substances of animal origin is more common than that of plant (Azdad et al., 2019). To avoid the consumption of allergic substances, the Moroccan national food safety office (ONSSA) recommends that food

manufacturers indicate the possible presence of allergy substances in the labels (ONSSA, 2018). These requirements are applied to imported food products before they are marketed. However, many foods do not strictly comply with this law and no study has assessed the adequacy of products to the Moroccan food allergenic regulations. The objective of this study was to assess the regulatory practices for the labelling of allergic substances in food products in Morocco and to compare these regulations with those applied in other countries.

## **2. Materials & Methods**

A cross-sectional survey was carried out between December 2020 and March 2021 in three supermarkets in Marrakesh city (Morocco) with a comparison between the Moroccan regulations according to ONSSA requirements (ONSSA, 2018) and the following regulations:

- Codex General Standard for the Labeling of Prepackaged Food (Codex alimentarius, 2001);
- E.U regulation No. 1169/2011 (European Commission, 2011);
- U.S Food Labeling and Consumer Protection Act (FALCPA) (U.S-Code, 2004);
- Canadian Food And Drugs Act (Food And Drugs Act, 2011);
- Tunisian standard 15.23 (revised on 2008)on the labelling and presentation of prepackaged foodstuffs(Tunisian standard, 2008);
- Algerian executive decree No. 05-484 of December 22, 2005 relating to the labeling and presentation of foodstuffs (Executive Decree, 2005);
- South African's Regulation Relating to the Labeling and Advertising of Foods (RSA, 2014);
- Malawi General Standard for Labeling of Prepacked Foods (Malawi General Standard, 2001).

### **2.1 Data collection**

The data of this survey were collected from the labels of food products including country of manufacturing, food category, list of ingredients (allergens), allergens indicated, the emphasis type of allergenic substances, precautionary allergen labeling information (PLA) and the emphasis used during the indication of PLA.

## 2.2 Food categories

The study was focused on six categories of food products mostly represented by "biscuits" and "dairy products and derivatives" categories, with 84 and 46 food products respectively. The other categories were "soft drinks", "boiled", "baby foods" and "ice products", represented by 30, 20, 18 and 9 food products respectively. The grouping of products was done according to the Codex Alimentarius GSFA's food category (FAO Codex Alimentarius Commission, 2019).

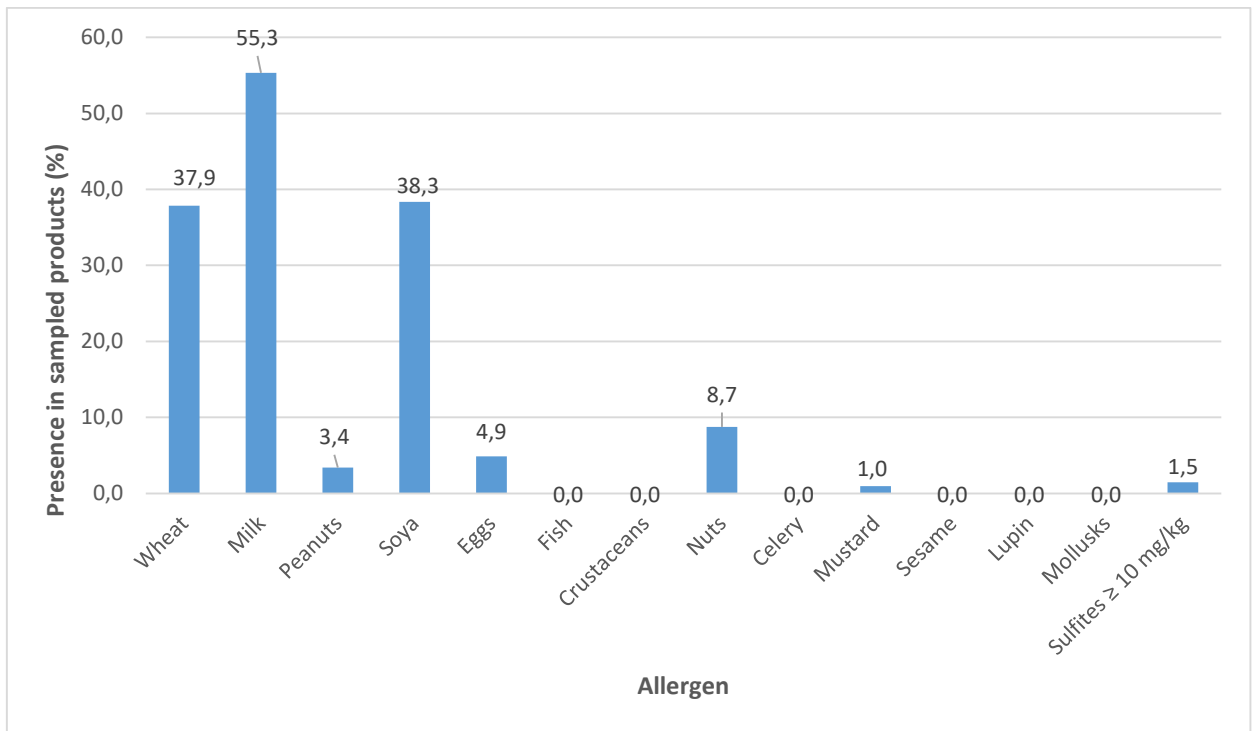
## 2.3 Statistical analysis

The analysis of data were performed using SPSS- Statistical Package for Social Sciences Software for Windows (SPSS version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ETATS-UNIS)-. The difference was considered significant if  $p < 0.05$ .

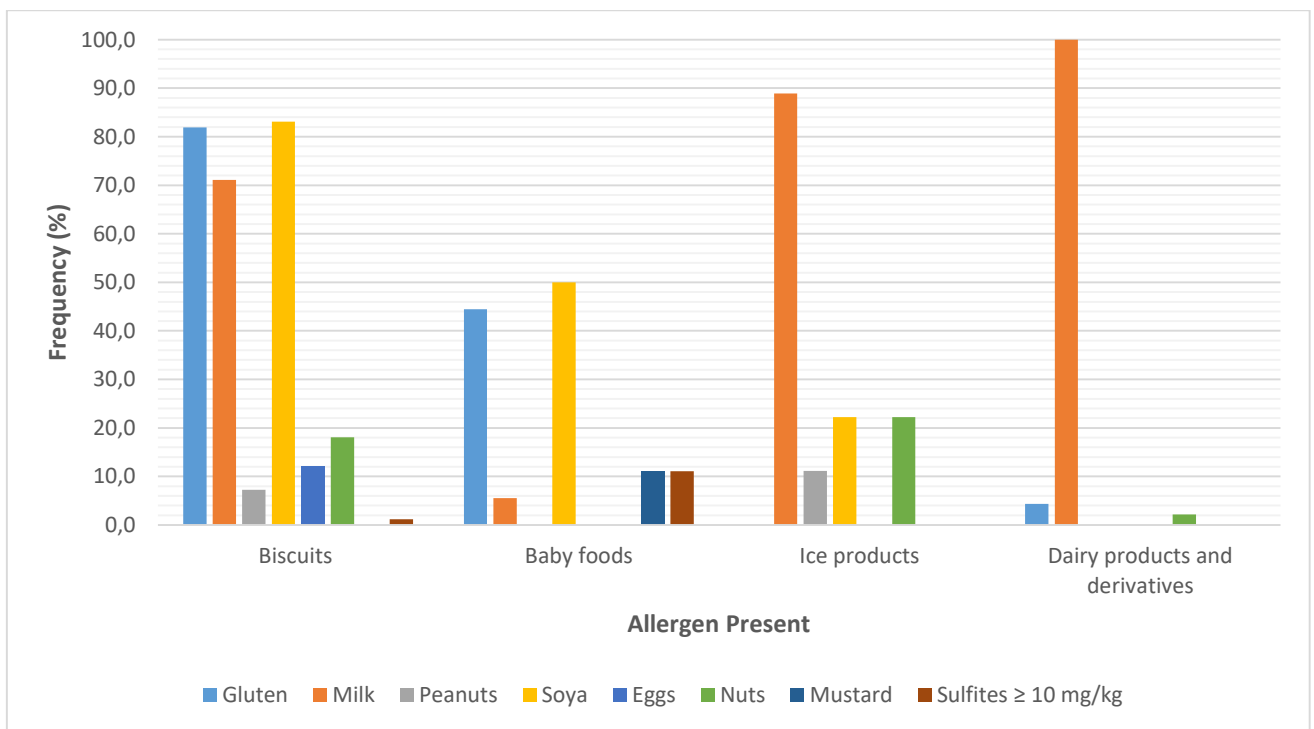
## 3. Results

### 3.1 Declared Allergens

Among the fourteen allergenic substances mentioned above, eight were indicated on the labels of the food products included in this research: wheat (gluten), milk, peanuts, soy, eggs, nuts, mustard, sulfites  $\geq 10$  mg/kg. The milk was the most frequently declared allergen (55,34%), followed by wheat (37,86%) and soy (38,35%) (**Figure 20**). Fish, sesame, lupine, fish, celery and crustaceans were not listed on the label ingredients list. Wheat and soy were the most declared substances in the biscuit and baby food categories, while milk was the most reported in the dairy category (**Figure 21**). Among dairy products, only milk was declared as an allergic substance and only one of them indicated the presence of nuts. The number of declared allergens in a product ranged from one to five, and the higher number was observed in the biscuit category followed by baby products. However, no allergen was indicated in soft drinks and boiled categories. The declaration of allergic substances was most common in imported than locally manufactured products.



**Figure 20.** Declared allergens on labels of the sampled product



**Figure 21.** Type of allergens present in the sampled biscuits and baby foods



## **3.2 Allergen Labeling Practices**

### **3.2.1 Emphasis of Allergens declared on List of Ingredients**

Among the food products included in this survey, 149 (72.34%) have indicated at least an allergen on their ingredient list. Emphasis (bold or italics) was observed in 52 (32.9%) products and bold font was the most frequently used style. Other emphasis style such as contrasting colors or enlarged font were not observed in the ingredient list (**Table 31**). All products indicated the presence of allergens in the Arabic language as well as in other languages.

### **3.2.2 Special Declaration of Allergens**

The declaration of the presence of allergens through a clear sentence immediately after or adjacent to the list of ingredients was noticed in only 21 (10.2%) products. The statement used to confirm the presence of allergen was “*Contains*”.

### **3.2.3 Precautionary Allergen Labelling (PAL)**

In the labelling of products, 63 (30.1%) of them indicated a PAL statement. Among the used statements, the mention “*May contains*” or “*May contains traces of*” were used in 59 of the food products, and “manufactured in line which can contain” statement was used in only four products. The other precautionary statements like “Manufactured on shared equipment with” or “Manufactured in a shared facility with” were not observed in any of the products of this investigation.

**Table 31. Type of emphasis used when declaring allergens on the list of ingredients or in PLA in different food categories**

Product	Type of Emphasis	Number (%)	
		Ingredients/specific declarations	PLA
<b>Biscuits</b> (n= 83)	Contrasting color/ Enlarged Font	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>21(25.3)</b>
	<b>Bold</b>	<b>39(47.0)</b>	<b>26(31.3)</b>
	no emphasis	<b>44(53.0)</b>	<b>36(43.4)</b>
<b>Dairy products</b> (n=46)	Contrasting color/ Enlarged Font	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>1(2.2)</b>
	<b>Bold</b>	<b>6(13.0)</b>	<b>8(17.4)</b>
	no emphasis	<b>40(87.0)</b>	<b>37(80.4)</b>
<b>Baby foods</b> (n=18)	Contrasting color/ Enlarged Font	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>1(5.6)</b>
	<b>Bold</b>	<b>4(2.2)</b>	<b>4(2.2)</b>
	no emphasis	<b>14(7.8)</b>	<b>13(7.2)</b>
<b>Ice products</b> (n=9)	Contrasting color/ Enlarged Font	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>2(22.2)</b>
	<b>Bold</b>	<b>3(33.3)</b>	<b>0(0)</b>
	no emphasis	<b>6(66.7)</b>	<b>7(77.8)</b>
<b>Soft drinks</b> (n=30)	Contrasting color/ Enlarged Font	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<b>Bold</b>	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	non	<b>30(100)</b>	<b>30(100)</b>
<b>Boiled</b> (n=20)	Contrasting color	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<b>Bold</b>	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	no emphasis	<b>20(100)</b>	<b>20(100)</b>
<b>Overall</b> (n=206)	Contrasting color	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	<i>Italics</i>	<b>0(0)</b>	<b>25(12.1)</b>
	<b>Bold</b>	<b>52(25.2)</b>	<b>38(18.5)</b>
	Enlarged Font	<b>0(0)</b>	<b>0(0)</b>
	no emphasis	<b>154(74.8)</b>	<b>143(96.4)</b>

### **3.3 Comparison between Moroccan Food Allergen Labelling Regulation and other regulations**

By comparing the requirements of the Moroccan regulations to Codex alimentarius, EU, American, Canadian and African regulations (**Table 32**), it was noticed that the Moroccan regulation is as demanding as EU regulation. It requires the indication of 14 allergens, while USA and Canadian regulations require only eight allergens. However, this regulation does not require the use of a separate allergen statement immediately after or adjacent to list of ingredients in comparison to USA regulation where this statement is mandatory. In addition, the Moroccan regulation is more demanding than those applied in African countries such as in Tunisia, Algeria, Malawi and South Africa.

### **4. Discussion**

The only way to manage food allergy is to avoid the consumption of foods that contain allergic substances. However, accidental exposures of predisposed individuals to food allergies are common in daily life (Sheth et al., 2010). That is why these people should only consume food products indicating the presence of allergens in their packaging. In this context, several countries have established laws regulating the declaration of allergens in food. It is remarkable that the Moroccan regulation is very demanding about the necessity of declaring fourteen allergic substances (celery, cereals containing gluten, crustaceans, soya, eggs, fish, lupin, milk, molluscs, mustard, nuts, peanuts, sesame, sulfur dioxide and sulphites). However, during this survey, the number of allergenic substances declared is limited compared to study conducted in Malawi (Mfueni et al., 2018). Furthermore, in some categories such as boiled and soft drinks, this declaration was absent. Indeed, the Moroccan food allergen's regulation allows to indicate the presence of allergic substances through the list of ingredients. Such practice requires the use of at least one of emphasis types (contrasting color, enlarged font, italics, bold). However, only 52 products (25.2%) adopted an emphasizing strategy such as a study conducted in Malawi (Mfueni et al., 2018). In contrast, USA regulation recommends the use of a separate

**Table 32 comparisons between Moroccan regulations on the labeling of allergens in foods compared to other committees**

<b>Guideline</b>	<b>Morocco</b>	<b>Codex</b>	<b>E U</b>	<b>USA</b>	<b>Algeria</b>	<b>Tunisia</b>	<b>South Africa</b>	<b>Malawi</b>
<b>Mandatory Allergens for Declaration</b>								
<b>Milk</b>	x	X	X	x	x	X	X	x
<b>Egg</b>	x	X	X	x	x	X	X	x
<b>Fish</b>	x	X	X	x	x	X	X	x
<b>Crustaceans</b>	x	X	X	x	x	X	X	x
<b>Tree nuts</b>	x	X	X	x	x	x	X	x
<b>Peanuts</b>	x	X	X	x	x	x	X	x
<b>Soy</b>	x	X	X	x	x	x	X	x
<b>Gluten</b>	x	X	X	x	x	x	X	x
<b>Celery</b>	x		X	x			X	
<b>Mustard</b>	x		X					
<b>Sesame</b>	x		X					
<b>Lupin</b>	x		X					
<b>Mollusks</b>	x		X				X	
<b>Sulfites ≥ 10 mg/kg</b>	x	x	X		x	x	X	x
<b>Instructions on allergen declaration</b>								
Included on the list of ingredients	x	x	X	x	x	x	X	x
Identified parenthetically on list of ingredient	x		X	x			X	
A separate allergen statement immediately after or adjacent to list of ingredients				x			X	
All allergens on list of ingredients listed again if a separate allergen statement is used				x				
Same font size as that used on list of ingredients if a separate allergen statement is used				x				
<b>Special emphasis of allergens on list of ingredients</b>								
Contrasting color	x		X					
Contrasting font type or size	x		X					
Contrasting style (e.g. Bold, Italics)	x		X				X	
Use of parenthesis for further qualification of less common food ingredient names	x		X	x			X	
Use of icons or symbols accompanied with words and numbers	x		X					
<b>Use of precautionary allergen labeling regulated</b>	x		X				X	

allergen statement immediately after or adjacent to list of ingredients. In our survey only 10.2% of products displayed this statement, and the majority of them were imported. In fact, any allergen related information on packaging must be clear, readable and easy to find by consumers. In fact, the Moroccan allergen labelling regulation seems going on line with EU regulation, but its application may suffer from some insufficiencies, especially in regard the use of emphasising character. Despite that, we remarkably noticed that 72.34% of food products of our survey have indicated the presence of allergens on the ingredient list, which is similar to a French survey which reported 73% of allergic substances' indication (Battisti et al., 2017).

Several manufacturers use certain terms such as “may contains” or “manufactured in line which can contain” in order to give a precautionary labelling to foods. In fact, Moroccan allergen labelling regulation encourage the use of PLA in order to provide information about a potential contamination by an allergen during manufacturing. However, this PLA statement was reported only in 30.1% of products. PLA statement was observed in 39% and 65% of investigated food products in a French and Australian study respectively (Zurzolo et al., 2013a; Battisti et al., 2017). In fact, the use of these PAL statement is voluntary, unregulated and remains unsatisfactory in some countries (Mfueni et al., 2018). This reflects the different ways adopted by manufacturers to indicate the presence of allergic substances, with a plethora of label formats which make consumers and healthcare professionals confused about the ingredients (Turner & Gowland, 2016). According to Marchisotto et al. (2016) consumers were more confident when buying labeled products with “*may contain traces of...*” statement, compared to those labelled “*may contain allergen ...*” In our study, the first mentioned statement was observed only in 15 products, while, the second one was noticed in 44 products. Thus, consumers believe that less explicit and vague PAL exposes to a high risk of allergen consumption (Noimark et al., 2009; Zurzolo et al., 2013b).

It is important to point out that food claims without allergens are rarely available in Moroccan markets. Only lactose-free and gluten-free food claims were identified during our survey versus five in a French study (Battisti et al., 2017). This confirms the data of a previous study conducted in Morocco showing the low availability of gluten-free and lactose-free products in Moroccan supermarkets (Guennouni et al., 2020 a).

On the other hand, the cross-contamination of foodstuffs by allergens is frequent. Hence, manufacturers should avoid the accidental occurrence of this contamination, especially during the process of harvesting, manufacturing, transport, handling and distribution (Nerín et al., 2016). Therefore, it is necessary to handle food in accordance with good hygienic and manufacturing practices during the entire process of purchasing, storage and consumption. The implementation of an HACCP system by manufacturers remains an obligation in order to avoid the contamination by allergens (Petruzzelli et al., 2014). Indeed, developing countries must make colossal efforts to market products declaring the possible presence of allergens on their lists of ingredients by promulgating strict laws (Fierro et al., 2017). Furthermore, the authorities should monitor the application of the law by the manufacturers, including the use of emphasising characters on ingredients list (Marchisotto et al., 2017; Remington et al., 2015). The role of health professionals (doctors, dieticians) also remains essential when prescribing an allergen-free diet by advising their patients to take precautions when consuming food products and to ask themselves the question ‘*have you read the labels*’ (Taylor and Hefle, 2006) (Vandenplas et al., 2017).

## **5. Study limitations**

This study is among the few studies that have discussed the problem of allergen substance food regulation and related law application in developing countries. Nevertheless, as limitations, this study included a limited number of food products and the discussion of our results confronted the rarity of similar studies.

## **6. Conclusion**

Compared to international food allergen regulations, the Moroccan regulation is as demanding as EU one. Actually, the majority of investigated foodstuffs indicated the presence of allergens through the ingredients list. The application of this regulation is however not satisfactory, as evidenced by the relatively limited number of allergens declared, the uncommon use of emphasising characters, the rare use of a separate allergen statement immediately after or adjacent to list of ingredients and the unsatisfactory declaration of PLA. Therefore, manufacturers should strictly comply with all these food allergen regulation considerations, in order to preserve the consumer's rights and prevent them from an unintentional intake of allergenic substances that may expose to potential dramatic allergic reactions.

## **CHAPITRE 6 :**

# **Evaluation des Connaissances Et des Pratiques En matière de Sécurité Sanitaire des Aliments chez les Personnels Liés à la Nutrition et à la Restauration dans les Hôpitaux Marocains**



## **Connaissance et pratique de la sécurité alimentaire chez les professionnels de santé et le personnel de restauration dans les hôpitaux au Maroc.**

La sécurité alimentaire joue un rôle clé dans la prévention des maladies d'origine alimentaire, y compris celles d'origine allergénique. La maîtrise de la manière correcte de manipuler les aliments est nécessaire, notamment dans les hôpitaux où des repas sont préparés pour des patients à faible immunité. En outre, les médecins et les diététiciens sont toujours en contact avec des patients atteints de maladies d'origine alimentaire. L'objectif de cette étude était d'évaluer les connaissances et les pratiques en matière de sécurité alimentaire chez les professionnels de santé et chez les manipulateurs d'aliments travaillant dans la cuisine de l'hôpital marocain. Il s'agit d'une étude transversale dans laquelle 72 médecins, diététiciens, responsables de l'hygiène et travailleurs du secteur alimentaire ont rempli un questionnaire permettant d'évaluer leurs connaissances sur l'HACCP, les intoxications alimentaires, la contamination croisée, le stockage des aliments et leur pratique en matière de sécurité alimentaire. Parmi les 72 membres du personnel interrogés, 55.6 % ont déclaré avoir reçu une formation en matière de sécurité alimentaire et 73.6 % ont compris la définition correcte du système HACCP. Le score moyen global des connaissances en matière de sécurité alimentaire était de  $0.54 \pm 0.15$ , ce qui correspond à 54% de réponses correctes aux questions. Les connaissances en matière de sécurité alimentaire ayant obtenu le score moyen le plus élevé étaient les "connaissances en matière de contamination croisée" et les "connaissances en matière de stockage des aliments" avec  $0.58 \pm 0.20$  (58%) et  $0.55 \pm 0.20$  (55%) respectivement. En outre, la moyenne des connaissances en matière de sécurité alimentaire chez les diététiciens et les responsables de l'hygiène était plus élevée que celle des employés de la cuisine de l'hôpital. Chez les médecins, cette moyenne était la plus faible. L'association significative a été remarquée surtout dans les sous-sections de la connaissance du stockage des aliments. Elle concerne le sexe, les groupes d'âge, la profession et le niveau d'éducation ( $p < 0.05$ ). La majorité des pratiques alimentaires des employés de la cuisine de l'hôpital étaient bonnes, dépassant 93% et atteignant 100% dans certaines pratiques. En revanche, la moitié des pratiques alimentaires étaient mauvaises chez les professionnels de santé. Ces résultats montrent la nécessité de mettre en place des actions préventives et correctives afin d'améliorer les niveaux de connaissances et les pratiques de sécurité alimentaire chez les personnes qui travaillent dans les hôpitaux, notamment les médecins. Ainsi, la formation reste essentielle. Du coup, ces professionnels de santé pourront expliquer à leurs patients les bonnes pratiques de suivi de chaque régime, y compris le régime sans gluten, dont la contamination croisée est un des facteurs d'échec.

## **Original Research**

### **Knowledge and practice of food safety among health professionals and food service personnel in hospitals in Morocco**

**Background/Objectives:** Food safety plays a key role in the prevention of foodborne illnesses including those of allergenic origin. Mastery of the correct way of handling food should be necessary especially in hospitals where meals are prepared for patients with low immunity. In addition, doctors and dieticians are always in contact with patients with foodborne illness. The objective of this study was to assess food safety knowledge and practices among healthcare professionals to foodborne illnesses and among food handlers working in the kitchen of the Moroccan hospital.

**Methods:** This was a cross-sectional study in which 72 doctors, dieticians, hygiene managers and food workers completed a questionnaire allowing the evaluation of their knowledge on HACCP, food poisoning, cross contamination, food storage and their practice in terms of food safety.

**Results:** Among the 72 staff surveyed, 55.6% of them declared that they received food safety training and 73.6% of them understood the correct definition of HACCP. The overall food safety knowledge mean score was  $0.54 \pm 0.15$  corresponding to 54% of the questions were answered correctly. The food safety knowledge with the highest mean score were “cross contamination knowledge” and “food storage knowledge” with  $0.58 \pm 0.20$  (58%) and  $0.55 \pm 0.20$  (55%) respectively. Furthermore, the means of food safety knowledge among dieticians and hygiene managers was high than employed in the hospital kitchen. This means among doctors was the weakest. The significant association was noticed especially in food storage knowledge subsections. It regarding gender, age groups, occupation and education level ( $p < 0.05$ ). The majority of food practices of employees in the hospital kitchen were good exceeding 93% and researching 100% in some practices. While, the half of food practices were bad among healthcare professionals.

**Conclusion:** These results show the need to put in place preventive and corrective actions in order to improve the levels of knowledge and food safety practices among people who work in hospitals, especially doctors. Thus, training remain essential. Therefore, these healthcare professionals will be able to explain and re-explain to their patients the good monitoring practices of each diet, including the gluten-free diet, of which cross-contamination is one of the factors of failure.

**Keywords:** Food safety knowledge; Practices; Foodservice Staff; Hospital; HACCP; Morocco.

## **1. Introduction**

Food safety is defined as the degree of confidence that food will not cause harm or illness to consumers (WHO, 2003). It includes all measures designed to make food as safe as possible, i.e. without risk to human health. The importance of food safety lies in the prevention of food contamination which is responsible for the occurrence of food-borne diseases. These are a growing public health concern worldwide (Morris, 2011). They affect the economy and health of developing countries (WHO, 2015). According to Scharff et al (2012), the annual health-related costs have been estimated at \$51 billion; \$77.7 billion if costs related to loss of quality of life and pain and suffering are included. The food-borne diseases were considered one of the world's major public health problems, causing significant morbidity and mortality (Linscott, 2011). According to the WHO (2017), each year, nearly 600 million people, or almost 1 in 10 worldwide, become ill after eating contaminated food. Of these, 420,000 die, including 125,000 children under the age of five (WHO, 2015). These disease are caused by pathogens such as bacteria, viruses, parasites, toxins, physical products and chemicals. Recently, allergenic agents including gluten remain one of the main causes of these diseases. Therefore, the treatment of these diseases and the management of food safety risks will have a huge economic and social impact on the country. Contamination may occur during food manufacturing process including raw material harvesting, transport, processing and storage steps. Therefore, several countries have implemented food control systems such as farm-to-fork in Europe and farm-to-table in the USA in order to prevent food contamination during these processes (EFSA, 2011; Sewell & Farber, 2001).

However, contamination can occur through "weak links". These are contaminations in the handling of food by the handlers or consumers themselves. In the US, 58% of foodborne illnesses are attributed to food consumed outside the home, in food service establishments such as hospitals, nursing homes, restaurants or institutional settings (Dewey-Mattia et al., 2017; Centers for Disease Control and Prevention, 2017). Hence, the importance of assessing their

levels of food safety knowledge and practices. This assessment will allow preventive and corrective actions to be taken to avoid further contamination. Thus, several studies have assessed it in university students, in household handlers, in consumers, in restaurants and in institutional food services (Her et al., 2019; Hassan & Dimassi, 2014; Ruby et al., 2019; Liu & Niyongira, 2017; Yu et al., 2017; Rebouças et al., 2017; Al-Kandari et al., 2019; Rossi et al., 2017). As well as, contamination in the hospital kitchens is more sensitive and dangerous. The meals of these are intended for patients with generally low immunity. Furthermore, some patients (e.g. food allergy, celiac disease, lacosis intolerance) need advice from their doctors and dieticians to have a safe diet and avoid cross-contamination. Thus, these health professionals must have a good level of knowledge in terms of food safety. In this context, some studies have evaluated it in people working in hospital food services as well as in health care workers (Al Kaabi et al., 2010; Mohammad Abd Elmoneim Elmadbouly, 2018; Alqurashi et al., 2019; Osaili et al., 2017; Angelillo et al., 2001; Elmadbouly et al., 2017; Bas et al., 2005; Lestantyo et al., 2017).

In Morocco, the prevalence of foodborne disease is unknown. However, food poisoning is the 3rd most common cause of call to the Moroccan Poison and Pharmacovigilance Centre with about 15% (Rhalem & Soulaymani, 2002). Approximately, 67% of poisonings occurred at home with the most observed clinical signs were mainly gastrointestinal symptoms (76%) (Bouhali et al., 2014). Thus, the objective of this study was to evaluate the knowledge and practices about food safety among health personnel and those working in the kitchens of Moroccan hospitals after the implementation of Hazard Analysis and Critical Control Point system (HACCP).

## **2. Subjects & Methods**

### **2.1. Subjects**

A cross-sectional study recruiting people working in Moroccan hospitals located in Marrakesh was conducted between January and March 2017. These people surveyed were health

professionals related to nutrition and food service (paediatricians, gastroenterologists, dieticians, hygiene managers) and food handlers working in the kitchen of the hospital. Each service was informed of the objectives of the survey. The questionnaire was distributed to 80 people, 72 of whom responded. Some of them answered with self-administered method while some others answered the questionnaire by face-to-face method.

## **2.2. Questionnaire**

Persons related to food and nutrition services in hospital (doctors, dieticians, hygiene managers, food workers) were asked to complete a questionnaire divided into four parts preceded by a general introduction. The first part concerned socio-economic data including gender, age, occupation, education, marital status and work experience. The second one included questions about food training and HACCP. The third and four parts were derived from questionnaires used in previous studies (Angelillo et al., 2001; Buccheri et al., 2007 ; Gong et al., 2016 ; Moreb et al., 2017; Chen et al., 2020). These questionnaires were translated into Arabic in several studies (Alqurashi et al., 2019; Bou-Mitri et al., 2018; Osaili et al., 2017). The part three was subdivided into 3 axes; i) Knowledge of food poisoning (7 questions), ii) Knowledge of Knowledge cross contamination (6 questions), iii) Knowledge of food storage (7 questions) and the part four concerned food practices (10 questions for health professionals and 8 for workers in hospital kitchens) (**Annex 10**).

## **2.3 Ethic, authorisation and approval**

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving research study participants were approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca (**Annex 11**).

## **2.4. Comprehensibility and reliability**

The comprehensibility of questionnaire was tested on a small number of respondents. Then, the reproducibility and internal consistency were tested using intra-class correlation coefficient

(ICC) and Cronbach  $\alpha$  value respectively. The values obtained showed a good acceptance of the items of the questionnaire allowing its application in Morocco.

### **2.5. Statistical analysis:**

- Data were analyzed using SPSS software (SPSS version 25.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA);
- All statistical tests were considered significant when the p-value was less than 0.05;
- The use of the Chi-square or Fisher test to verify the independence between the qualitative variables;
- Normality and homogeneity were verified by Kolmogorov-Smirnov and Levene tests respectively;
- The variables following the normal distribution with a homogeneity of variance were analyzed by parametric tests (t-test, ANOVA);
- The variables that do not comply with the normal distribution were analyzed by non-parametric tests (Mann–Whitney U, Kruskal–Wallis one-way);
- For each question, participants received a point when they answered correctly and a zero for incorrect answers and their percentages calculated;
- Mean score and standard deviation for each of the section/sub-section were also calculated and analyzed.
- The success rate corresponding to the correct answers obtained in each section and sub-section.

## **3. Results**

### **3.1. General characteristics of the sample**

The results of the demographic characteristics of respondents showed that 72.2% were female and most were 20 to 40 years old (95.8%). Regarding the marital status, 47.2% were single or divorced, 36% were married with children and 16.7% were married without children. Physician represent 44.4% of respondents, followed by employees in the hospital kitchen (41.7%) and dieticians and hygiene manager (13.9%). The highest educational level was that of doctoral degree, with 44.4%, followed by university degree and secondary degree with 37.1% and 12.2% respectively. Regarding their work experience, the majority had less than 10 years of experience (79.2%) (**Table 33**).

**Table 33. The socio-demographic characteristics of sample**

Demographic Characteristics	N (Total Number of Respondents)	Category	Respondents (N)	Percentage (%)
<b>Gender</b>	72	Male	20	27.8
		Female	52	72.2
<b>Age group</b>	72	18-25	24	33.3
		26-40	45	62.5
		41-50	3	4.2
<b>Marital status</b>	72	Single/divorced	34	47.2
		Married with children	26	36.1
		Married without children	12	16.7
<b>Occupation</b>	72	Physician	32	44.4
		Dietician / Hygiene manager	10	13.9
		Employee in the hospital kitchen	30	41.7
<b>Education level</b>	72	Primary school	1	1.4
		High school	21	29.2
		University degree	18	25
		Doctorate degree	32	44.4
<b>Work experience (years)</b>	72	1-5	28	38.9
		6-10	29	40.3
		11-20	14	19.4
		Over 20	1	1.4

### 3.2. Food safety training

Among the 72 staff surveyed, 40 (55.6%) of them declared that they having received food safety training and 53 (73.6%) of them understood the correct definition of HACCP as system to ensure safe food by identifying and controlling specific hazards (**Table 34**).

**Table 34. Answers to food safety training questions**

Questions	N	Categories	Respondents (N)	Percentage (%)
Have you received any food hygiene/safety practices training course?		<b>Yes</b>	<b>40</b>	<b>55.6</b>
		No	32	44.4
What do you understand by “Hazard Analysis critical control Points” (HACCP)?		Food safety system by using computer	6	8.3
		Process and temperature control	7	9.7
		<b>System to ensure safe food by identifying and controlling specific hazards</b>	<b>53</b>	<b>73.6</b>
		Identification of critical points with the application of hygiene rules	6	8.3

### **3.3. Food safety knowledge**

The overall food safety knowledge mean score was  $0.54 \pm 0.15$  corresponding to 54% of the questions were answered correctly. The food safety knowledge with the highest mean score were “cross contamination knowledge” and “food storage knowledge” with  $0.58 \pm 0.20$  (58%) and  $0.55 \pm 0.20$  (55%) respectively, while the knowledge with the lowest mean score was “food poisoning knowledge” with  $0.51 \pm 0.19$  (51%) (**Table 35 & Figure 22**).

#### *3.3.1. Knowledge of food poisoning*

The knowledge of health care staff and hospital kitchen workers about food poisoning has shown that the majority have well defined food poisoning (88.9%). However, the correct response rate of less than 50% was found in 4/7 questions. Only 25% and 26.4% of answers were correct regarding the most common bacteria that can cause foodborne illness and how food contaminated with food poisoning bacteria can be recognized, respectively (**Annex 12**).

#### *3.3.2. Knowledge of cross-contamination*

The assessment of knowledge on cross-contamination showed that half of questions (3/6) had a percentage of correct answer lower than 50%. A high percentage (90.3%) of respondents knew the important to separate preparation and refrigeration food in order to avoid cross-contamination (**Annex 12**).

#### *3.3.3. Knowledge of food storage*

The knowledge of health care staff and hospital kitchen workers about food storage has shown that the majority knew the temperature recommended for a refrigerator or a freezer with 87.5% and 76.4% respectively. The correct response rate of less than 50% was found in half (3/6) questions. Only 11.1% of answers were correct regarding how often do you check the temperature of the refrigerator and the freezer, respectively. Furthermore, 11.1% and 37.5% of answers were correct regarding if can bacteria in food be killed by freezing at  $-18^{\circ}\text{C}$  and where should raw meat be stored respectively (**Annex 12**).

### **3.4. Food practices**

#### *3.4.1. Employees in the hospital kitchen answers for practices questions*



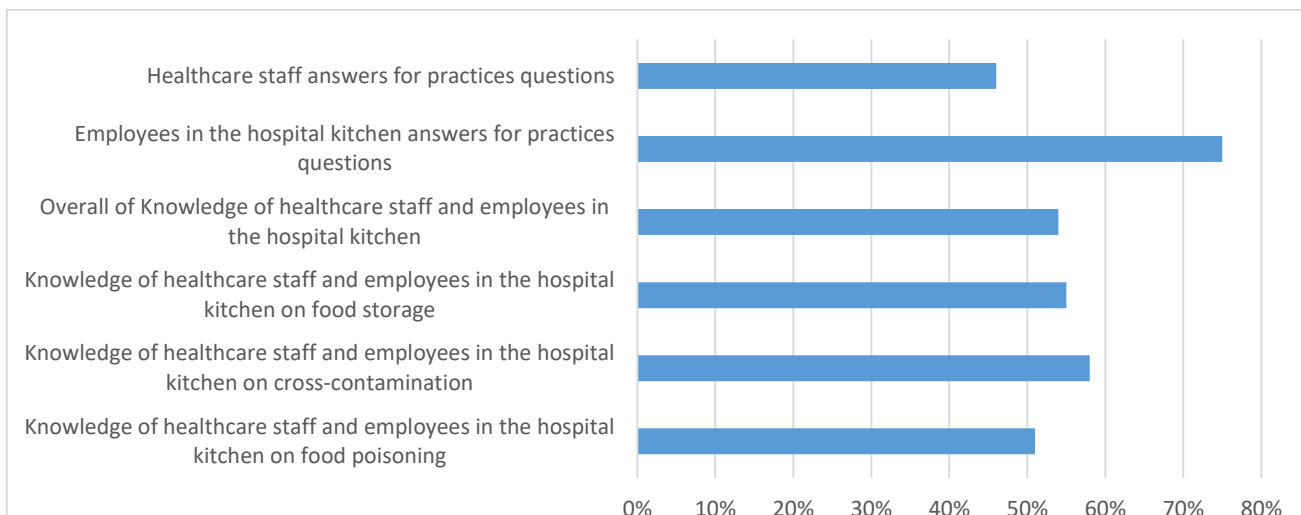
The majority of food practices of employees in the hospital kitchen were good exceeding 93% in 5/8 practices researching 100% in washing hands with water and soap before food preparation and in wearing head covering when you prepare or distribute foods. However, 10% and 13.3% of good practices that were carried out by employees if they had an infected wound on their hand and if they had symptoms that prevents to cook for others respectively (**Annex 12**).

#### 3.4.2. Healthcare staff answers for practices questions

In this category, the percentage of good food practices was good only in 5/10 practices and the highest of them reach only 73.8%. The majority of food practices were bad such as the time of buying meat during the grocery store (11.9%) and the method to defrost frozen meat or chicken at home (31.0%) (**Annex 12**).

**Table 35. Knowledge and practice of healthcare staff and employees in the hospital kitchen on food safety**

Questions	Mean score ±standard deviation
Knowledge of healthcare staff and employees in the hospital kitchen on food poisoning	0.51±0.19
Knowledge of healthcare staff and employees in the hospital kitchen on cross-contamination	0.58±0.20
Knowledge of healthcare staff and employees in the hospital kitchen on food storage	0.55±0.20
Overall of Knowledge of healthcare staff and employees in the hospital kitchen	0.54±0.15
Employees in the hospital kitchen answers for practices questions	0.75±0.57
Healthcare staff answers for practices questions	0.46±0.16



**Figure 22. Pass rate for food safety knowledge and practices among healthcare staff and employees in the hospital kitchen**

### 3.5. Relations between demographic characteristics and knowledge of food safety

**Table 36** summaries the association between the demographic characteristics of participants and food safety knowledge. In overall, results showed that there was a significant association between food safety knowledge and occupation ( $p=0.041$ ). The means of food safety knowledge among dieticians and hygiene managers was high than employed in the hospital kitchen. This means among doctors was the weakest. The significant association was noticed especially in food storage knowledge subsections. It regarding gender, age groups, occupation and education level ( $p<0.05$ ). However, no significant difference was noticed between the demographic characteristics and food poisoning knowledge and cross-contamination knowledge subsections.

### 3.6. Relations between demographic characteristics and practice of food safety

The association between the socio-demographic characteristics and food safety practice was done for health care. However, no significant difference was noticed between food safety practices and any demographic characteristics. Furthermore, this no significant difference between food safety practice among physician and dietician/hygiene manager (**Table 37**).

**Table 36. Association between the socio-demographic characteristics of participants and food safety knowledge**

Variables	Food poisoning Knowledge		Cross-contamination Knowledge		food storage Knowledge		Overall Knowledge	
	Mean ±SD	p-Value	Mean ±SD	p-Value	Mean ±SD	p-Value	Mean ±SD	p-Value
<b>Gender</b>								
Male	0.55±0.20	0.274	0.61±0.19	0.617	0.67±0.08	<b>0.001</b>	0.61±0.14	0.078
Female	0.49±0.18		0.57±0.21		0.50±0.21		0.50±0.14	
<b>Age groups</b>								
18-25	0.50±0.13	0.134	0.53±0.13	0.134	0.61±0.15	<b>0.021</b>	0.55±0.10	0.989
26-40	0.52±0.21		0.60±0.23		0.50±0.21		0.54±0.17	
41-50	0.42±0.01		0.50±0.01		0.66±0.01		0.53±0.01	
<b>Marital status</b>								
Single/divorced	0.51±0.19	0.948	0.61±0.22	0.224	0.52±0.22	0.680	0.55±0.16	0.414
Married with children	0.47±0.17		0.53±0.18		0.58±0.11		0.53±0.12	
Married without children	0.57±0.20		0.56±0.19		0.52±0.26		0.55±0.15	
<b>Occupation</b>								
Physician	0.50±0.19	0.070	0.58±0.21	0.315	0.42±0.20	<b>0.001</b>	0.50±0.13	<b>0.041</b>
Dietician/Hygiene manager	0.62±0.23		0.61±0.32		0.56±0.21		0.60±0.23	
Employee in the kitchen	0.47±0.15		0.56±0.14		0.67±0.06		0.56±0.11	
<b>Education level</b>								
Primary school	0.42±0.01	0.590	0.50±0.01	0.688	0.66±0.01	<b>0.001</b>	0.53±0.01	0.342
High school	0.47±0.16		0.56±0.16		0.68±0.07		0.57±0.12	
University degree	0.55±0.21		0.59±0.25		0.60±0.16		0.58±0.18	
Doctorate	0.50±0.19		0.58±0.21		0.42±0.20		0.50±0.13	
<b>Work experience (years)</b>								
1-5	0.56±0.18	0.122	0.58±0.21	0.827	0.56±0.18	0.899	0.57±0.16	0.286
6-10	0.49±0.20		0.59±0.22		0.53±0.22		0.54±0.15	
11-20	0.42±0.13		0.52±0.12		0.53±0.17		0.49±0.10	
Over 20	0.42±0.01		0.5±0.01		0.66±0.01		0.53±0.01	
<b>Food safety training</b>								
Yes	0.52±0.17	0.174	0.57±0.20	0.850	0.64±0.12	<b>0.001</b>	0.57±0.15	<b>0.045</b>
No	0.49±0.20		0.58±0.21		0.42±0.20		0.50±0.14	

### 3.7. Correlation between food safety knowledge and food safety practices

Among health care, there was no significant correlation between their food safety knowledge and their food safety practices ( $p=0.391$ ). In addition, the same observation was noticed among employees in hospital kitchen regarding the correlation between their food safety knowledge and their food safety practices ( $p=0.296$ ) (Table 38).

**Table 37. Association between the socio-demographic characteristics of healthcare professionals and food safety practice**

Variables	Food safety practice	
	Mean $\pm$ SD	p-Value
<b>Gender</b>		
Male	0.48 $\pm$ 0.25	0.821
Female	0.45 $\pm$ 0.14	
<b>Age groups</b>		
18-25	0.50 $\pm$ 0.12	0.406
26-40	0.45 $\pm$ 0.16	
<b>Marital status</b>		
Single/divorced	0.46 $\pm$ 0.15	0.163
Married with children	0.42 $\pm$ 0.18	
Married without children	0.53 $\pm$ 0.11	
<b>Occupation</b>		
Physician	0.45 $\pm$ 0.14	0.364
Dietician/Hygiene manager	0.51 $\pm$ 0.19	
<b>Education level</b>		
University degree	0.51 $\pm$ 0.19	0.364
Doctorate	0.45 $\pm$ 0.14	
<b>Work experience (years)</b>		
1-5	0.48 $\pm$ 0.16	0.447
6-10	0.44 $\pm$ 0.16	
11-20	0.45 $\pm$ 0.13	
<b>Food safety training</b>		
Yes	0.51 $\pm$ 0.19	0.364
No	0.45 $\pm$ 0.14	

**Table 38. Bivariate correlation between food safety knowledge and food safety practices**

		Food safety knowledge (health care)	Food safety knowledge (employees in hospital kitchen)
Food safety practice (health care)	Correlation Coefficient	0.081	-
	Sig. (2-tailed)	0.610	
	N	42	
Food safety practice (employees in hospital kitchen)	Correlation Coefficient	-	0.072
	Sig. (2-tailed)		0.706
	N		30

#### **4. Discussion**

Patients suffering from food-borne and nutrition-related diseases, including celiac patients, need to handle food strictly according to good hygiene practices. This implies that these patients need to have a good level of knowledge about food safety. These information are received through their physicians and dieticians. Thus, coeliac patients may themselves be a source of contamination. During the handling of gluten-free foods, cross-contamination may occur. Hence, the interest in explaining and re-explaining good gluten-free diet practices by their physicians and dieticians. In this context, the evaluation of the food safety knowledge among healthcare professionals related to dietetics and nutrition remains a necessity. In this study, it was remarkable that doctors did not receive any training on food safety. Indeed, food safety training can improve food safety knowledge and practices among food handlers whether in hospitals, universities, homes or catering facilities (Acikel et al., 2008; Young et al., 2020). Thus, the lack of such training for physicians reduces their ability and competence to advise their patients during diet monitoring. This implies that they have to do self-training in this sense. Thus, 59.4% of the doctors were able to give a correct definition of HACCP. In addition, the level of knowledge about food safety was limited in this search. The food safety knowledge was lower among doctors than among dieticians and kitchen staff. This level of knowledge includes knowledge about food poisoning, storage conditions and cross-contamination. This aspect has been studied in previous studies which highlighted the limited level of food safety knowledge among several categories of food handlers including university students, household handlers, consumers, in restaurants and in institutional food services (Hassan & Dimassi, 2014 ; Gong et al., 2016 ; Agüeria et al., 2018). The food safety evaluation included hospital staff who are in contact with patients suffering from nutrition-related illnesses or food-borne diseases as well as those who prepare meals for hospitalized patients with low immunity or on diets. The results obtained in this study were in concordance with those obtained in several studies, which showed limited levels of knowledge about food safety in Saudi Arabia, China, Peru and the

United States, Italy, Jordan, Lebanon and in Egypt. (Alqurashi et al., 2019 ; Chen et al., 2020; Buccheri et al., 2007; Osaili et al., 2017; Bou-Mitri et al., 2018; Elmadbouly et al., 2017). While, studies that showed the opposite were rare such as the one conducted in Qatar and in Indonesia (Al Kaabi et al., 2010; Lestantyo et al., 2017).

The level of food safety practice was good among the employees in the hospital kitchens in this study. This was mainly due to the continuous training on food safety and the implementation of the HACCP system. The importance of the implementation of HACCP in order to improve food safety in hospitals has been proven (Angelillo et al., 2001). This has led to an improvement in good hygiene practices and the preparation of meals for patients (Petruzzelli et al., 2014). Our result about high good practice in the hospital kitchen after the implementation of HACCP were in line with those obtained in Saudi Arabia (Alqurashi et al., 2019).

To improve the level of knowledge and practice of food safety among health workers, several studies have examined the factors that lead to this improvement. These studies showed the importance of adapting food safety and hygiene training and education programs in the significant improvement of the level of food safety knowledge and practices among employees in hospital kitchens, nurses, dieticians and doctors (Elmadbouly et al., 2017; Chen et al., 2020; Thaivalappil et al., 2018). These trainings should be regular and continuous, providing them with the necessary material and avoiding any factor that hinders the failure of a good practice. Furthermore, the use of social media (TV, Newspapers, Radio) and social networks for food safety risk communication is recommended (Overbey et al., 2017).

## **5. Conclusions**

The implementation of the HACCP system has made it possible to improve the level of health safety practice among employees in the kitchens of Moroccan hospitals. However, the level of knowledge and practice of food safety among healthcare professionals (physicians, dieticians and hygiene manager) was limited. This implies the need to adopt food security education and

training programs by Moroccan hospitals for this category. These trainings will help improve their levels and master the tools necessary to avoid any contamination from food sources. Therefore, these healthcare professionals will be able to explain and re-explain to their patients the good monitoring practices of each diet, including the gluten-free diet, of which cross-contamination is one of the factors of failure.

# DISCUSSION GENERALE



L'évaluation de l'état nutritionnel des enfants et adolescents cœliaques au cours de la présente étude a montré une prédominance de la prévalence d'insuffisance pondérale, de l'insuffisance staturale et de maigreur. Cela montre que la MC au Maroc est accompagnée par une dénutrition. Plusieurs facteurs entre en jeu y compris le diagnostic tardif de la maladie et la consommation excessive des produits contenant le gluten. Le Maroc est un pays méditerranéen dont les traditions sont basées sur la consommation des aliments à base de céréales (blé, orge, seigle). Cela affecte négativement l'état nutritionnel des enfants cœliaques dans notre pays en limitant leur croissance. Une fois que la maladie est confirmée, il est essentiel de suivre un régime alimentaire sans gluten. Celui-ci a permis de corriger la malabsorption intestinale avec une récupération progressive de la taille et du poids permettant une évolution significative de l'indice de masse corporelle accompagnée d'une amélioration de l'état de santé des patients dénutris. Ainsi, les changements dans la prévalence de l'insuffisance pondérale, de l'insuffisance staturale et de la maigreur ont tous été significatifs. Cela confirme que le RSG a eu un effet visible sur cette cohorte et que l'état nutritionnel des enfants et des adolescents cœliaques s'est amélioré de manière significative. Cependant, il était remarquable que la prévalence de l'obésité ait augmenté considérablement. Ce qui a confirmé les études qui ont signalées que le RSG soit accompagné avec une prise de poids. Les principaux facteurs qui interviennent dans le développement de l'obésité dans le cadre du RSG restent inconnus. Cependant, outre la guérison de la muqueuse intestinale après l'interdiction des aliments contenant du gluten, plusieurs auteurs ont discuté la qualité énergétique du RSG lui-même.

Dans ce cadre, il est intéressant de considérer les résultats obtenus au cours de cette étude par les diététiciens et les industriels. Ces résultats ont montré que la MC est accompagnée généralement par une dénutrition sévère et une carence en certains éléments tels que le fer et les vitamines. Il est remarqué qu'au Maroc, le diagnostic de cette maladie est réalisé surtout dans les centres hospitaliers universitaires et dans le secteur privé. D'où vient la nécessité de

mettre en place les moyens nécessaires pour un diagnostic précoce de la maladie au niveau des centres hospitaliers régionaux ou provinciaux. Ce diagnostic précoce va permettre de récompenser toute insuffisance nutritionnelle par la prise des compléments alimentaires et de commencer le suivi de régime sans gluten par l'exclusion de tout aliment susceptible de contenir de gluten. Ainsi, lors de chaque rendez-vous, le diététicien souhaite que son patient cœliaque ne consomme que des aliments sans gluten afin d'avoir une bonne adhérence au RSG. Cependant, cette bonne adhérence s'accompagne souvent d'une prise de poids excessive chez de nombreux patients atteints de la MC comme obtenue aussi au cours de notre étude. Il est donc nécessaire d'évaluer la teneur en énergie, en macronutriments et en micronutriments au cours du suivi de ce régime ce qui montre que ces patients doivent bénéficier d'un accompagnement rigoureux en ce qui concerne les aliments à consommer. Cela ne peut être établie que par l'estimation des teneurs en macronutriments et en micronutriments consommées pour calculer la différence entre l'apport journalier recommandé (AJR) et celui consommée (ANR) afin d'éviter tout excès en macronutriments ou carences en micronutriments. Cette évaluation permettra de corriger les excès ou les déficits constatés à chaque consultation par les diététiciens. Elle peut être réalisée par un rappel alimentaire de 24 heures et/ou un bilan alimentaire de 3 jours, 5 jours ou 7 jours, comme elle peut l'être par un questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ) (Zuccotti et al., 2013). Cette dernière méthode doit être validée et adoptée dans chaque pays, en tenant compte de sa table de composition nutritionnelle appropriée (Mazzeo et al., 2015). Dans plusieurs pays, les produits sans gluten n'indiquent pas la composition nutritionnelle sur leur étiquetage. Dans ce contexte, un groupe de chercheurs a développé un logiciel qui permet d'évaluer l'état nutritionnel des patients suivant un régime sans gluten (Lasa et al., 2019). Il s'agit du logiciel *GlutenFreeDiet* avec application pour les téléphones portables et les ordinateurs a également été conçue. Ainsi, l'évaluation de l'état nutritionnel par les diététiciens lors de chaque rendez-vous permet d'avoir un équilibre

nutritionnel et d'éviter l'apparition de l'obésité, qui peut provoquer d'autres maladies associées. L'implication des industriels est très importante en ce sens par la fabrication des aliments sans gluten nutritionnellement équilibrés. Cependant, certains facteurs entravent cet aspect surtout que le processus de fabrication implique l'exclusion des protéines de gluten et leur remplacement par d'autres constituants (Gallagher, 2008). Au Maroc, certains chercheurs ont validés et adaptés un questionnaire de fréquence alimentaire pour évaluer l'apport alimentaire chez les adultes marocains (El Kinany et al., 2018). Certains d'autres ont validés et adaptés un questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ) pour évaluer l'apport alimentaire en cas de maladie chronique (diabète) (Belahsen, 2014; Benjelloun, 2002). Cependant, aucune études n'a été développée ou adaptée un FFQ pour évaluer l'apport nutritionnel chez les patients cœliaques. Ce manque est corrélé avec l'absence d'une table de composition nutritionnelle des aliments sans gluten au Maroc tels que ceux développés dans d'autres pays (Mazzeo et al., 2015).

L'atteinte par la MC et le suivi de RSG influencent ainsi sur l'état nutritionnel de ces patients. En outre, plusieurs aspects sont impactés par cette maladie citant essentiellement la qualité de vie (QV) perçue chez les enfants et leurs proxys (tuteurs) ainsi que chez les adultes. C'est dans ce cadre, et dans l'objectif d'évaluer cette QV, nous avons validés deux questionnaires spécifiques à la MC. Il s'agit d'une part, d'un instrument spécifique composé de deux versions, une destinées aux enfants/adolescents (8-18 ans) et l'autre destinée à leurs proxys, et, d'autre part d'un instrument spécifique composé d'une seule version destinée aux adultes (plus de 18 ans).

Il était remarquable qu'au cours de l'adaptation de l'instrument spécifique aux enfants/adolescents et leurs proxys au Maroc au cours de la présente étude, les propriétés psychométriques étaient acceptables. **Le tableau 39** résume la comparaison de ces propriétés par rapport aux études qui ont développés ou adaptés un instrument spécifique pour évaluer la QV chez les enfants cœliaques. Commençons d'abord par l'absence de l'effet de plafond et

celui de plancher au cours de l'adaptation de cette présente étude alors que ce volet n'a pas été étudié dans les autres études réalisées auparavant (Guennouni et al., 2020). Ensuite, toutes les études originales et adaptées y compris notre étude ont des valeurs  $\alpha$  de Cronbach très élevées confirmant une bonne cohérence interne. Elles dépassaient 0.7, voire même dans certaines études étaient proches à 1. A l'exception, de celle originale **CDQL** qui vise toutes les catégories cœliaques dont la valeur  $\alpha$  était de 0.62 à 0.93 (Skjerning et al., 2017). La reproductibilité était acceptable dans toutes les recherches identifiées en utilisant la valeur de ICC ( $>0,40$ ). Puis, l'application de l'analyse factorielle de confirmation a permis de valider la structure de la version adaptée en gardant les 12 items subdivisées en trois subscales. Même remarque a été constatée lors de l'élaboration de méthodes spécifiques à la MC par les chercheurs pour spécifier le nombre des items à garder ainsi que de les classer en dimensions. Les résultats obtenus par l'application de l'indice d'ajustement normalisé (NFI), de l'indice d'ajustement comparatif (CFI) et du Chi-Deux permettent aux chercheurs de versions adaptées de conserver ou pas tous les items des versions originales développées. Le nombre de dimensions était compris entre 3 et 8, et le nombre d'éléments entre 12 et 30. Enfin, Au cours de la validation du présent instrument, il y était remarquable l'impact négative de l'absence de la couverture sociale sur la QV des enfants cœliaques. Cependant, le sexe et l'éducation n'ont aucune influence généralement sur la qualité de vie des patients cœliaques comme ceux obtenue dans les autres études (Pico et al., 2012; Marchese et al., 2013; Pouchot et al., 2014; Aksan et al., 2015). Barrio et al. (2016) ont été les seuls qui ont constaté que le sexe, l'âge et l'éducation ont un impact sur la QV des enfants et adolescents atteints de la MC.

**Tableau 39 Propriétés psychométriques des études évaluant la QVLS chez les enfants et les adolescents à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque (versions originales et développées)(Guenouni et al., 2020 a)**

Etude (Année)	<sup>(a)</sup> Cohérence interne by $\alpha$ <sup>(b)</sup> Reproductibilité <sup>(b1)</sup> ICC <sup>(b2)</sup> r de corrélation	<sup>(c)</sup> Validité construite (Analyse factorielle de confirmation) <sup>(d)</sup> Validité convergente <sup>(e)</sup> Validité discriminatoire
Pays-Bas ( <b>CD-DUX</b> ) (van Doorn et al., 2008)	<sup>(a)</sup> 0.71 < $\alpha$ < 0.88 (Enfant & proxy)	<sup>(c)</sup> 12 items en 3 dimensions (Régime alimentaire, Communication et Avoir une MC). <sup>(d)</sup> Corrélation élevée avec <b>DUX-25</b> .
USA ( <b>CD-PQOL</b> ) (Jordan et al., 2013)	----	<sup>(c)</sup> * Deux versions avec 13 à 17 questions : *8 à 12 ans avec trois dimensions (Emotions négatives, Social et Plaisir), *13 to 18 ans avec quatre dimensions (Social, Incertitude, Isolement et Limites). <sup>(d)</sup> Accord modéré avec <b>Peds QL</b> .
Denmark ( <b>CDQL</b> ) (Skjerning et al., 2017)	<sup>(a)</sup> 0.62 < $\alpha$ < 0.93	<sup>(c)</sup> 30 items subdivides en 8 dimensions (Avoir une MC et suivre un RSG, Communiquer sur les MC et les ASG, Évaluer le fait d'avoir une MC en général, Façon dont les autres gèrent ma MC, Faire face aux aliments contenant du gluten, Connaître la MC et les ASG, L'offre de ASG, Contacter les soins de santé). <sup>(d)</sup> Corrélation élevée avec <b>IBS-QL</b> .
Brésil ( <b>CDDUX</b> ) (Lins et al., 2015)	<sup>(a)</sup> $\alpha=0.81$ <sup>(b)</sup> non évalué : nombre limité	<sup>(c)</sup> Items et dimensions ont été retenus. <sup>(e)</sup> DNS pour le genre et l'âge.

<p>Espagne (<b>CDDUX</b>) (Barrio et al., 2016)</p>	<p><sup>(a)</sup> <math>0.75 &lt; \alpha &lt; 0.94</math>  <sup>(b1)</sup> <math>0.52 &lt; ICC &lt; 0.72</math> (Enfants)  <sup>(b1)</sup> <math>0.64 &lt; ICC &lt; 0.79</math> (Parents)</p>	<p><sup>(c)</sup> Conservez les trois dimensions.  <sup>(e)*</sup> <b>Différence significative : l'adhérence au RSG améliore la QV (p&lt;0.01).</b>  * <b>Différence significative</b> pour l'âge de la MC au moment du diagnostic, les années de MC et la présentation au début</p>
<p>Argentine (<b>CDDUX</b>) (Pico et al., 2012)</p>	<p><sup>(a)</sup> <math>\alpha = 0.84</math> (Enfants)  <math>\alpha = 0.88</math> (parents)</p>	<p><sup>(e)*</sup> <b>Différence significative : l'adhérence au RSG améliore la QV (p&lt;0.02).</b>  * <b>Différence non significative</b> pour le genre et présentation de MC au moment de diagnostic.</p>
<p>Maroc (Guennouni et al., 2021 a) : This study</p>	<p><sup>(a)</sup> 0.87  <sup>(b1)</sup> <b>0.87</b>  <sup>(b2)</sup> <b>0.88</b></p>	<p><sup>(c)</sup> Items et dimensions ont été retenus.  <sup>(e)</sup> DNS pour la tranche d'âge et la couverture sociale médicale.</p>
<p><b>ASG</b> : Aliments Sans Gluten ; <b>RSG</b> : Régime Sans Gluten ; <b>MC</b> : Maladie Cœliaque ; <b>QV</b> : Qualité de Vie</p>		

**Le tableau 40** montre qu'en général, la MC diminue la QV des enfants cœliaques par rapport aux personnes de bonne santé (Skjerning et al., 2017). Les scores moyens de la QV calculés par les méthodes adaptées étaient plus élevés que les scores moyens calculés par les versions originales dans le cas du CD-DUX (Pico et al., 2012; Lins et al., 2015; Barrio et al., 2016). Le score obtenu au Maroc montre que la QV est plus médiocre que celle observée dans les autres études (Guennouni et al., 2020). L'étude de la concordance de la perception de la qualité de vie entre les enfants et leurs proxys est montrée dans le **tableau 41**. Les résultats de la présente étude confirme que les scores de QV perçus par les parents ou les tuteurs étaient significativement inférieurs aux scores perçus par les enfants eux-mêmes ( $p=0.012$ ). Dans la version originale CD-DUX, les parents constatent que la qualité de vie de leurs enfants est faible par rapport à ce que leurs enfants croient ( $p<0,005$ ) (van Doorn et al., 2008). La même remarque a été faite lors de la validation de cette version en Argentine (Pico et al., 2012) et au Brésil ( $p<0,01$ ) (Lins et al., 2015). La différence était non significative ( $p<0,499$ ) entre les scores totaux des parents à ceux de leurs enfants dans l'étude menée en Espagne par Barrio et al. (2016). Récemment Paiva et al. (2019) ont développé un questionnaire spécifique -CDPC-QOL- permettant de mesurer la qualité de vie chez les parents et les aidants des enfants et adolescents atteints de la maladie cœliaque.

L'influence de RSG sur la QV des enfants et adolescents Cœliaques a été étudiée dans plusieurs études. En effet, les patients atteints de la MC ont montré une QV réduite chez les enfants et les adolescents. Le suivi de RGS améliore significativement leurs QV (Lins et al., 2015; Barrio et al., 2018). Au Maroc, il était remarquable que le suivi de ce régime n'ait pas permis d'améliorer leur QV. Celle-ci était plus médiocre au niveau de dimension « Diet » dont les items évaluent la QV en rapport avec le régime et les produits sans gluten.

**Tableau 40 Études évaluant la QVLS chez les enfants et les adolescents à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque(Guennouni et al., 2020 a)**

<b>Pays (questionnaire) ( Auteurs. année)</b>	<b>Taille de l'échantillon (Age)</b>	<b>Résultats de scores</b>	<b>Type de version</b>
Pays-Bas ( <b>CD-DUX</b> ) (van Doorn et al., 2008)	510 (8-18 ans)	Le résultat de la QV a été médiocre.	Développée
USA ( <b>CD-PQOL</b> ) (Jordan et al., 2013)	181 (enfants et adolescents ; 8-12 ans ; 13-18 ans)	Deux versions ont été développées avec un score moyen supérieur à 71.	Développée
Danemark ( <b>CDQL</b> ) (Skjerning et al., 2017)	422 (enfants, adolescents, et adultes ou par proxy)	Le questionnaire peut s'avérer utile pour suivre la QVLS sur CD dans toutes les tranches d'âge.	Développée
Brésil( <b>CDDUX</b> ) (Lins et al., 2015)	33 (8-18 an)	Une QV neutre a été trouvée parmi les scores finaux des enfants et de leurs proxys.	Adaptée
Espagne ( <b>CDDUX</b> ) (Barrio et al., 2016)	214 (parents et leurs enfants)	QV neutre avec une différence non significative détectée entre les enfants et leurs proxys.	Adaptée
Argentine ( <b>CDDUX</b> ) (Pico et al., 2012)	193 (parents leurs enfants)	Une QV neutre a été trouvée parmi les scores finaux des enfants et des personnes qui s'occupent d'eux.	Adaptée
Maroc ( Guennouni et al., 2021)	52 (parents leurs enfants)	Le résultat de la QV a été médiocre.	Adaptée

**Tableau 41 Comparaison entre les scores totaux de la QVLS chez les enfants et les adolescents/Parent ou tuteur selon le questionnaire CD-DUX (Guennouni et al., 2020 a)**

<b>Pays (Référence)</b>	<b>Scores totaux</b>		<b>p</b>
	<b>Enfants et Adolescents</b>	<b>Parents ou tuteurs</b>	
	Moyenne (SD)	Moyenne (SD)	
Pays-Bas (van Doorn et al., 2008)	44 (15)	39(15)	<0.05
Argentine (Pico et al., 2012)	53.33(17.18)	51.46(14.45)	<0.05
Brésil (Lins et al., 2015)	57.6 (12.3)	45.4 (10.4)	<0.01
Espagne (Barrio et al. 2016)	54.82 (12.30)	55.48 (12.72)	0.499
Maroc (Guennouni et al. 2021)	36.48 (14.98)	29.09 (14.57)	0.012



Même procédure a été suivie lors de l'adaptation de l'instrument spécifique aux adultes marocains dont les propriétés psychométriques étaient acceptables au cours de notre étude. **Le tableau 42** montre la comparaison entre ces propriétés par rapport aux autres études. Il est important de noter que le pourcentage des données non manquantes était 100% pour presque toutes les études qui ont adapté les versions originales. L'effet plafond et l'effet plancher étaient très faibles dans la majorité des études, et tend voire même vers 0 % pour le scores totaux. L'étude de la cohérence interne lors de la validation de notre questionnaire chez les adultes était bonne. Même conclusion a été obtenue lors de développement des instruments originales dont les valeurs  $\alpha$  de Cronbach étaient très élevées en dépassant 0.7, voire même dans certains études étaient proches à 1. A l'exception, de celle originale **CDQL** qui vise toutes les catégories cœliaques dont la valeur  $\alpha$  était de 0.62 à 0.93 (Skjerning et al., 2017). La reproductibilité était acceptable dans notre étude ainsi que dans toutes les recherches identifiées soit en utilisant la valeur de ICC (<0,40) ou le coefficient de corrélation. Elle est vérifiée par le K Cohen par Zingone et al. (2013).

Lors de l'élaboration de méthodes spécifiques aux MC, l'application de l'analyse factorielle de confirmation permet aux chercheurs de spécifier le nombre des items à garder ainsi que de les classer en dimensions. Les résultats obtenus par l'application de l'indice d'ajustement normalisé (NFI), de l'indice d'ajustement comparatif (CFI) et d test de Chi-Deux permettent aux chercheurs de versions adaptées de conserver ou pas tous les items des versions originales développées. Le nombre de dimensions était compris entre 4 et 8, et le nombre d'éléments entre 20 et 32 (Guennouni et al., 2020 a). Au cours de la présente étude, cette validité structurelle était bonne et permettait de garder la structure de la version originale. La validité des convergents a été réalisé à travers l'utilisation SF-36. Pour les adultes, la plupart des études ont testé la validité par rapport au SF-36v2 et au MOS SF-36(Kurppa et al., 2011). Récemment, une corrélation a été constatée entre le CDAQ et le SF-36v2 ( $p < 0,01$ ) (Crocker et al., 2018).

De même, une corrélation a été constatée entre le CD-Q et le SF-36 de 0,48 à 0,80 (Häuser et al., 2007). Cette corrélation a également été constatée entre la CD-QoL et d'autres versions génériques (IBS-QOL-, SIP, BSI) (Dorn et al., 2010). Pour les versions adaptées, une corrélation significative a été constatée en Espagne pour la CD-QoL par rapport au SF-36, à l'EuroQoL et au D-FIS(Casellas et al., 2013). Lors de la traduction et de l'adaptation transculturelle, une forte corrélation ( $p < 0,001$ ) a été observée lors de la validation du CD-Q par rapport au SF-36 à l'Italie, en France et en Turquie respectivement (Marchese et al. 2013; Pouchot et al. 2014; Aksan et al., 2015).

Au Maroc, les facteurs qui influencent la QV chez les adultes sont essentiellement l'assurance médicale. Le sexe, l'âge et l'éducation n'ont aucune influence générale sur la QV des adultes cœliaques dans la présente étude ainsi que dans les autres. Cependant, dans certains cas, la qualité de vie était faible chez les hommes cœliaques par rapport aux femmes cœliaques (Häuser et al., 2007; Crocker et al., 2018). L'étude réalisée par de Pratesi et al. (2018) a été la seule qui a conclu que l'influence de ces critères sur la QV a été significative.

**Tableau 42 Propriétés psychométriques des études évaluant la QVLS chez les adultes à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque**  
(versions originales et développées) (Guennouni et al., 2020 a)

<b>Etude (Année)</b>	<b>(a) Cohérence interne by <math>\alpha</math> de Crobach (b) Reproductibilité (b1) ICC (b2) r de corrélation</b>	<b>(c) Validité construite</b> (Analyse factorielle de confirmation) <b>(d) Validité convergente</b> <b>(e) Validité discriminatoire</b>	<b>(f) Acceptation</b> <b>(g) Effet de sol</b> <b>(h) Effet de plafond</b>
Allemagne ( <b>CD-Q</b> ) ( Häuser et al., 2007)	(a) $0.80 < \alpha < 0.91$ (b2) $0.50 < r < 0.80$	(c) Quatre dimensions (Emotion, Social, Soucis et Gastro-intestinal) avec 7 items (d) Coefficients de corrélations avec <b>SF-36</b> était de 0.48 à 0.80. (e) *Patients avec maladie associée à la MC ont montré une réduction significative de QVLS par rapport au patients sans maladie associée à la MC ( $p < 0.001$ ). * DS pour le genre (scores totaux des femmes étaient inférieur que les hommes avec $p < 0.0001$ ).	(f) 98.1% (g) 0% (totale) (h) 0% (totale)
UK ( <b>CDAQ</b> ) (Crocker et al., 2018)	(a) $0.82 < \alpha < 0.88$ (b1) $0.79 < ICC < 0.89$	(c) 32 items représentant 5 dimensions (Stigmatisation, Charge alimentaire, Symptômes, Isolement social et Inquiétudes et préoccupations). (d) Corrélations élevée avec <b>SF-36 v2</b> ( $p < 0.01$ ). (e) DS pour le genre (scores totaux des femmes étaient inférieur que les hommes avec $p < 0.0001$ ).	---
USA ( <b>CD-QoL</b> ) (Dorn et al., 2010)	(a) élevé (b) élevé	(c) 20 items représentant 4 dimensions (Limitations, Dysphorie, Problèmes de santé, Traitement inadéquat). (d) Corrélations élevée et modérée avec <b>IBS-QoL</b> .	---
France ( <b>CD-Q</b> ) (Pouchot et al., 2014)	(a) $0.79 < \alpha < 0.94$ (b1) $0.88 < ICC < 0.94$	(c) Quatre dimensions ont été retenus. (d) Tous les coefficients de corrélation étaient significatifs ( $p < 0.001$ ) avec <b>SF-36</b> . (e) DNS pour le genre.	(f) manqué : très faible (g) 0% (total)

			<sup>(h)</sup> 0% (total)
Italie ( <b>CD-Q</b> ) (Marchese et al., 2013)	<sup>(a)</sup> $0.75 < \alpha < 0.92$ <sup>(b1)</sup> $0.72 < ICC < 0.86$ <sup>(b2)</sup> $0.72 < r < 0.94$	<sup>(c)</sup> Quatre dimensions ont été retenus. <sup>(d)</sup> Coefficients de corrélation étaient significatives avec <b>SF-36</b> . <sup>(e)</sup> *DNS pour les patients sous RSG. * DNS pour le sexe, l'âge et les conditions de vie, mais DS pour les symptômes et la durée de la maladie.	<sup>(f)</sup> 100% <sup>(g)</sup> 0% (total) <sup>(h)</sup> 0% (total)
Brésil ( <b>CD-Q</b> ) (Pratesi et al., 2018)	<sup>(a)</sup> $0.703 < \alpha < 0.927$ <sup>(b1)</sup> $0.64 < ICC < 0.947$	<sup>(c)</sup> Conservez les quatre dimensions de <b>CD-Q</b> . <sup>(e)</sup> *DS pour l'adhérence au RSG *DS pour l'âge, genre, moment de diagnostic, niveau d'éducation et médicaments antidépresseurs, mais, DNS pour l'état matrimonial.	<sup>(f)</sup> 100% <sup>(g)</sup> 0% (total) <sup>(h)</sup> 0% (total)
Pologne ( <b>CD-Q</b> ) (Zysk et al., 2018)	<sup>(a)</sup> $0.74 < \alpha < 88$ <sup>(b1)</sup> $0.64 < ICC < 0.947$	<sup>(e)</sup> * DS pour le respect des DGE et le statut économique. * DNS pour la durée du CD, la catégorie d'IMC et le lieu de résidence mais DNS pour le statut économique.	<sup>(f)</sup> négligeable <sup>(g)</sup> plus élevé pour la sous-échelle sociale
Turquie ( <b>CD-Q</b> ) (Aksan et al., 2015)	<sup>(a)</sup> $0.73 < \alpha < 0.93$ <sup>(b)</sup> 0.99	<sup>(c)</sup> Conservez les quatre dimensions de DQ. <sup>(d)</sup> $0.61 < r < 0.93$ (avec <b>SF-36</b> ). <sup>(e)</sup> *RSG améliore QoL ( $p < 0.001$ ). * DNS pour le sexe, l'âge et le niveau d'éducation.	<sup>(f)</sup> 100% <sup>(g)</sup> 0% (total) <sup>(h)</sup> 0% (total)
Irane ( <b>CD-Q</b> ) (Barzegar et al., 2018)	<sup>(a)</sup> $0.73 < \alpha < 0.92$ <sup>(b)</sup> 0.99	<sup>(c)</sup> Conservez les quatre dimensions. <sup>(e)</sup> RSG améliore la QV dans trois dimensions.	----
Italie ( <b>CDQOL</b> ) (Zingone et al., 2013)	<sup>(a)</sup> $\alpha = 0.88$ <sup>(b)</sup> $k = 0.63$ (K de Cohen)	<sup>(c)</sup> Conservez les quatre dimensions. <sup>(d)</sup> Corrélation significative avec <b>SF-36</b> . ( $p < 0.05$ ).	<sup>(f)</sup> absent <sup>(g)</sup> élevé <sup>(h)</sup> 0% (total)

Espagne ( <b>CDQOL</b> ) (Casellas et al., 2013)	(a) $0.895 < \alpha < 0.905$	(c) Conservez les quatre dimensions. (d) Corrélation significative avec <b>EuroQoL</b> . (e) <b>RSG</b> améliore la QV dans deux dimensions (Dysphorie et Traitement inadéquat).	(f) 99.3% (g) élevé (h) 0% (total)
Inde ( <b>CDQOL</b> ) (Deepak et al., 2018)	---	(c) Conservez les quatre dimensions. (d) Corrélation significative avec <b>SF-36</b> . (e) *DNS pour la QV au moment du diagnostic (p=0.689). *RSG améliore la QV.	---
Maroc ( <b>CD-Q</b> ) (Guennouni et al., 2021 b)	(a) $0.62 < \alpha < 0.86$ (b1) $0.74 < ICC < 0.95$ (b2) $0.60 < r < 0.96$	(c) Quatre dimensions ont été retenus. (d) Coefficients de corrélation étaient significatives avec <b>SF-36</b> . (e)*DNS pour les patients sous RSG. * DNS pour le sexe, l'âge et les conditions de vie, mais DS pour les l'assurance médicale et milieu de résidence	
<b>DS</b> : Différence significative ; <b>DNS</b> : Différence non significative ; <b>QV</b> : Qualité de vie ; <b>QVLS</b> : Qualité de vie liée à la santé			

En général, la MC diminue la QV des adultes par rapport aux personnes de bonne santé (van Doorn et al., 2008; Häuser et al., 2007; Marchese et al., 2013). Les scores moyens calculés par les méthodes adaptées étaient plus élevés que les scores moyens calculés par les versions originales pour la méthode CD-Q (Aksan et al., 2015; Pratesi et al., 2018; Barzegar et al., 2018; Pouchot et al., 2014). Cependant, les scores obtenues au cours de la présente étude était neutre. Cela montre que les adultes cœliaques marocains souffrent de cette maladie (**Tableau 43**). Mais ce qui était remarquable que même si patients suivaient le RSG, leurs QV n'a pas été améliorée et reste toujours médiocre. Alors que dans les autres études même si que la QV était réduite (Häuser et al., 2007), le suivi de RGS a amélioré significativement cette QV des adultes cœliaques (Aksan et al. 2015; Zysk et al . 2018; Zingone et al. 2013). En revanche, les études qui ont trouvé les mêmes résultats que les miens étaient rares (Marchese et al., 2013).

**Tableau 43 Études évaluant la QV chez les adultes à l'aide de questionnaires spécifiques à la maladie cœliaque (Guennouni et al., 2020 a)**

<b>Pays (questionnaire) ( Auteurs. année)</b>	<b>Taille de l'échantillon (Age)</b>	<b>Résultats de scores</b>	<b>Type de version</b>
Allemagne ( <b>CD-Q</b> ) (Häuser et al., 2007)	522 (adultes)	Le score de la QV a été réduit	développée
UK ( <b>CDAQ</b> ) (Crocker et al., 2018)	64 (adultes)	Le résultat de la QV a été médiocre	Développée
USA ( <b>CD-QOL</b> ) (Dorn et al., 2010)	387 (adultes)	Le résultat de la QV a été neutre	Développée
France ( <b>CD-Q</b> ) (Pouchot et al., 2014)	211 (adultes)	Le résultat de la QV a été bien	Adaptée
Italie ( <b>CD-Q</b> ) (Marchese et al., 2013)	171 (adults)	Le score de la QV a été réduit	Adaptée
Brésil ( <b>CD-Q</b> ) (Pratesi et al., 2018)	450 (adultes)	Le résultat de la QV a été médiocre	Adaptée
Pologne ( <b>CD-Q</b> ) (Zysk et al., 2018)	251 (adultes: sexe F)	Le résultat de la QV a été médiocre	Adaptée
Turquie ( <b>CD-Q</b> ) (Aksan et al., 2015)	205 (adultes)	Le résultat de la QV a été médiocre	Adaptée
Irane ( <b>CD-Q</b> ) (Barzegar et al., 2018)	81 (adultes)	Le résultat de la QV a été médiocre	Adaptée
Italie ( <b>CDQOL</b> ) (Zingone et al., 2013)	130 (adultes)	Le score de la QV a été réduit.	Adaptée
Espagne( <b>CDQOL</b> ) (Casellas et al., 2013)	298 (adultes)	Généralement, le résultat de la QV a été bien	Adaptée
Inde ( <b>CDQOL</b> ) (Deepak et al., 2018)	60 (adultes)	Le score de la QV a été réduit.	Adaptée
Maroc ( <b>CD-Q</b> ) ( Guennouni et al., 2021)	112 (adultes)	Le résultat de la QV a été médiocre	développée

Ainsi, une fois le l'enfant, l'adolescent et l'adultes cœliaques sont atteints de la MC se sentent isolé de la société et impacte leur QV. La sensibilisation du public à la MC par les médias et les réseaux sociaux reste une priorité pour une meilleure compréhension de cette maladie permettant ainsi une intégration facile des patients cœliaques dans la société. En outre, les patients cœliaques trouvent des difficultés liées au diagnostic de la maladie caractérisée par la rareté de centre de diagnostic. Au Maroc, la majorité des patients sont diagnostiquée et suivi en niveau des centres hospitaliers universitaires et la confirmation de la maladie nécessite des moyennes et des personnels qualifiés en biopsie intestinale. Cela provoque un diagnostic tardif de la maladie impactant leur QV.

Il était remarquable que la QV soit chez les enfants ou chez les adultes fût médiocre dans les dimensions qui sont liées au suivi de régime sans gluten surtout les items qui évaluent la QV liée aux aliments sans gluten. En outre, le suivi de RSG chez les enfants et même chez les adultes cœliaques marocains n'a pas permis une amélioration significative dans leurs QV. Cela montre que les patients cœliaques marocains ont une grande difficulté an rapport avec le régime sans gluten et surtout en ce qui concerne les aliments sans gluten. Cette difficulté a été prouvée par une enquêtes réalisée par notre équipe concernant la disponibilité et le prix des aliments sans gluten au Maroc (Guennouni et al., 2020). Cette étude a montré que les aliments étiquetés sans gluten sont rare au Maroc et leurs prix sont exorbitants. Cela influence sur la capacité d'achat de ces aliments par les patients cœliaques en impactant ainsi leur QV. Même conclusion a été obtenue dans plusieurs pays. C'est pour cela et face à ce coût économique dominé par des prix exorbitants des PSG, plusieurs pays ont déployés multiples efforts pour faciliter l'accès à ces produits. Dans ce cadre les patients cœliaques dans plusieurs pays bénéficient de la réduction des taxes sur les PSG, la prescription des PSG, des subventions ou des allocations par l'État. Malheureusement, même si que la situation est alarmante au Maroc caractérisée par des prix exorbitants de ces aliments, les patients cœliaques marocains ne

bénéficient d'aucune réduction d'impôt, d'aucun transfert d'argent ou d'une quelconque subvention de l'État. Cela confirme nos résultats obtenus montrant que le suivi de RSG ne permet pas d'améliorer la QV des patients cœliaques. Ces patients trouvent ainsi des difficultés énormes liées à la charge des aliments sans gluten au cours de suivi de RSG. Ainsi, même si qu'un patient est bénéficiant d'une couverture sociale, il n'a pas la possibilité d'avoir un remboursement de l'achat de ces produits alimentaires considérés comme le seul traitement comme faite dans les autres pays. Le remboursement est limité dans les tests sérologiques et la biopsie. Cela impact négativement sur l'adhérence au RSG. En conséquence, la QV chez ces patients est médiocre surtout pour les patients dont le statut socio-économique est faible. En outre, Le marché marocain est prédominé par la présence des produits importés à l'étranger qui sont soumis à des taxes qu'il faut les éviter. D'où l'importance d'encourager la fabrication des produits agro-alimentaires sans gluten par les entreprises locales. Cela va permet de mettre sur le marché plus de PSG avec un prix convenable. C'est pour cela, il est primordial de considérer ces aliments sans gluten en tant que des médicaments. En outre, des subventions directes aux patients cœliaques est souhaitable. Il est important de signaler que la mise en disponibilité des repas sans gluten dans les services alimentaires est primordiale pour faciliter l'insertion de ces patients dans la vie quotidienne et permettant ainsi d'améliorer leurs QV. Cela peut être aboutit par l'encouragement de l'ouverture des restaurations qui prépare des repas sans gluten destinées aux patients cœliaques.

La qualité nutritionnelle des aliments sans gluten disponibles au Maroc est déséquilibrée et caractérisée essentiellement par des teneurs élevées en lipides et une énergie totale par rapport à leurs équivalents contenant de gluten(Guennouni *et al.*, 2020 c). Une consommation de ces aliments sans gluten riches en énergie augmente le risque de l'obésité. Ces résultats expliquent l'augmentation de nombre des patients cœliaque obèses au cours de suivi de régime sans gluten dans notre cohorte composé de 127 enfants et adolescents cœliaques. Donc, ces patients doivent



avoir un suivi rigoureux par les diététiciens. En parallèle, il est conseillé d'avoir un apport équilibré de fibres par ce qu'il permet de réduire le développement de l'obésité pendant le suivi de RSG selon la FAO/OMS (Nishida et al., 2004). En outre, la MC est caractérisée par une atrophie des villosités intestinales ce qui provoque des carences en micronutriments. Les patients cœliaques souffrent généralement de carences en micronutriments, en particulier d'anémie (Freeman, 2015). Il est donc important de fortifier les produits sans gluten avec des micronutriments tels que le fer. Toutefois, le nombre de produits sans gluten enrichis disponibles sur les marchés marocains est limité d'après notre étude (Guennouni *et al.*, 2020). L'enrichissement est un moyen efficace pour lutter contre les carences en micronutriments diagnostiquées chez les patients atteints de cœliaque. Dans ce contexte, certains pays comme le Royaume-Uni enrichissent le pain avec des éléments tels que le fer, la niacine et la thiamine (Allen & Orfila, 2018). Au Maroc, récemment, la législation marocaine a commencé à exiger des fabricants d'enrichir les aliments tels que la farine de blé tendre en fer et en vitamines (Décret du ministère marocain de l'agriculture et des pêches maritimes, 2019). Toutefois, aucune exigence n'a été formulée pour l'enrichissement des produits sans gluten.

Comme indiqué précédemment, la disponibilité des aliments étiquetés sans gluten (L-GFP) est indispensable dans une bonne adhérence au RSG. D'où, l'étiquetage est très important pour l'identification de ces produits dits "sans gluten". La teneur exacte en gluten de ces produits étiquetés "sans gluten" est une préoccupation majeure pour les patients cœliaques. Le Codex Alimentarius (CODEX STAN, 2008), la Commission européenne (European Commission, 2009) et la Food and Drug Administration (FDA)(US Food and Drug Administration, 2013) exigent une teneur maximale en gluten de 20 mg/kg pour les produits devant être étiquetés sans gluten. Néanmoins, le "gluten caché" peut exister dans les aliments naturellement sans gluten et/ou dans les produits industriels étiquetés comme "sans gluten". Une contamination accidentelle peut se produire à n'importe quelle étape, du champ à l'étagère, en raison de la présence de ces protéines pendant la récolte, le transport, la transformation et le stockage(Zeltner et al., 2009; Thompson et al., 2018). Cela peut notamment se produire en l'absence d'un système de contrôle et d'un plan de gestion des allergènes adéquat intégré dans l'analyse des risques et la maîtrise des points critiques (HACCP). C'est pourquoi il est nécessaire d'effectuer des contrôles réguliers des aliments sans gluten dans les points de vente. Dans ce sens, les chercheurs ont développé plusieurs méthodes dont l'objectif était de détecter qualitativement et/ou quantitativement la teneur en gluten. Les principales techniques utilisées pour cette détection se subdivisent en deux. D'abord, les techniques immunologiques qui comprennent l'essai immuno-absorbant à liaison enzymatique (ELISA), le Western blot, les dispositifs à flux latéral et les biocapteurs. Ensuite, les techniques non immunologiques où la quantification du gluten est basée sur des méthodes protéomiques telles que les techniques de spectrométrie de masse (MS) et l'amplification de l'ADN par réaction en chaîne de la polymérase (PCR) (Rosell et al., 2014; Scherf & Poms, 2016, Malvano et al., 2017). Il est important de noter que le Codex Alimentarius recommande l'utilisation de techniques immunologiques, avec un niveau de quantification inférieur à 10 mg/kg. En fait, le Codex

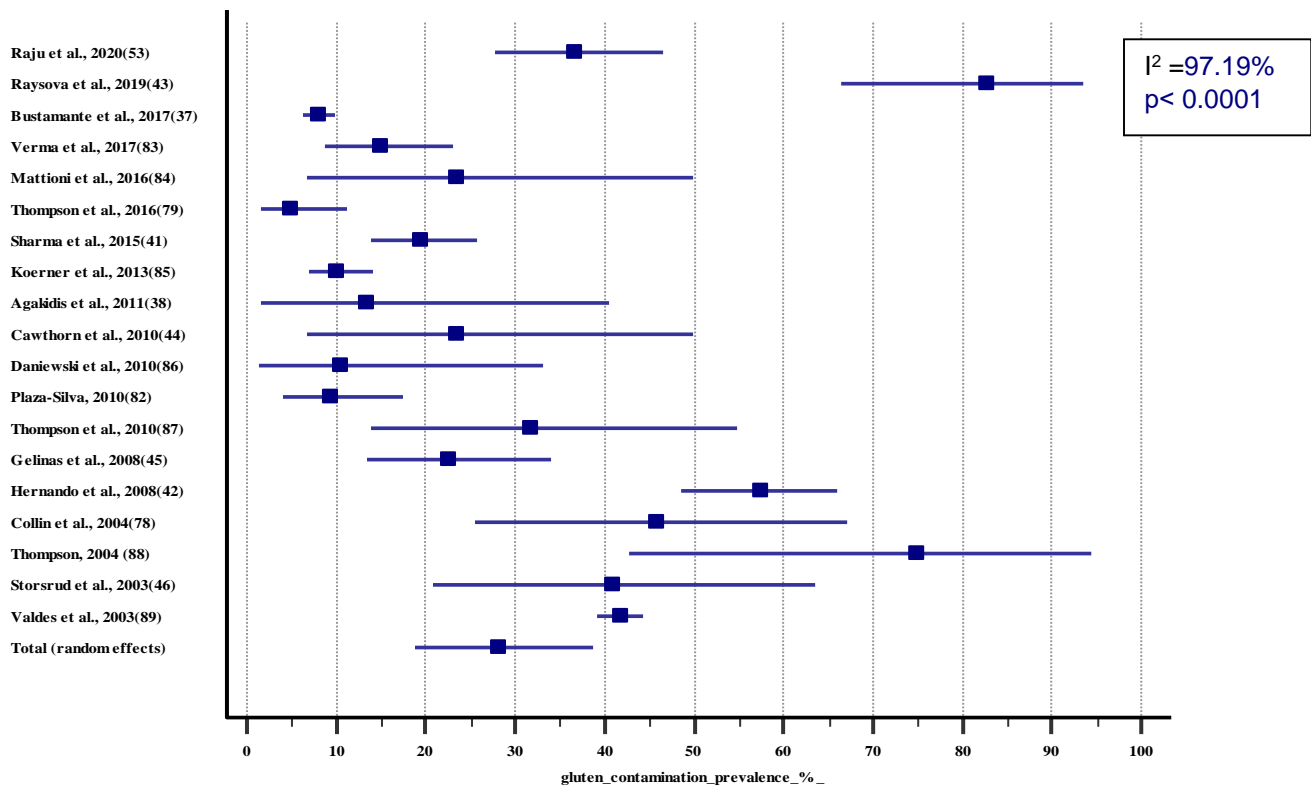
Alimentarius recommande l'utilisation de l'ELISA R5, alors que la FDA recommande plutôt l'ELISA ou la PCR. Plusieurs autres méthodes ont été utilisées, mais elles doivent être validées et approuvées par certaines organisations telles que l'Association de collaboration analytique officielle (AOCA) et l'Association américaine des chimistes céréaliers internationaux (AACC).

Dans ce cadre plusieurs études ont été réalisées dans plusieurs pays pour déterminer la prévalence de la contamination des aliments sans gluten. Dans l'objectif de comparer nos résultats concernant la teneur en gluten par rapport à la prévalence mondiale, nous avons réalisé une revue de la littérature et méta-analyse incluant les études qui répondent aux méthodes adoptées par le Codex Alimentarius ou la FDA et/ou d'autres méthodes validées par l'AOCA. Il était remarquable que les études couvrent trois catégories d'aliments sans gluten. La première concernait les aliments naturellement sans gluten (N-GFF), la deuxième concernait les aliments industriels étiquetés comme "sans gluten" par les fabricants (L-GFF) et la troisième concernait certains repas sans gluten présentés dans les services de restauration. La majorité des études ont porté sur les L-GFF et les N-GFF, et seulement quelques études d'entre elles ont étudié les repas dans les services de restauration.

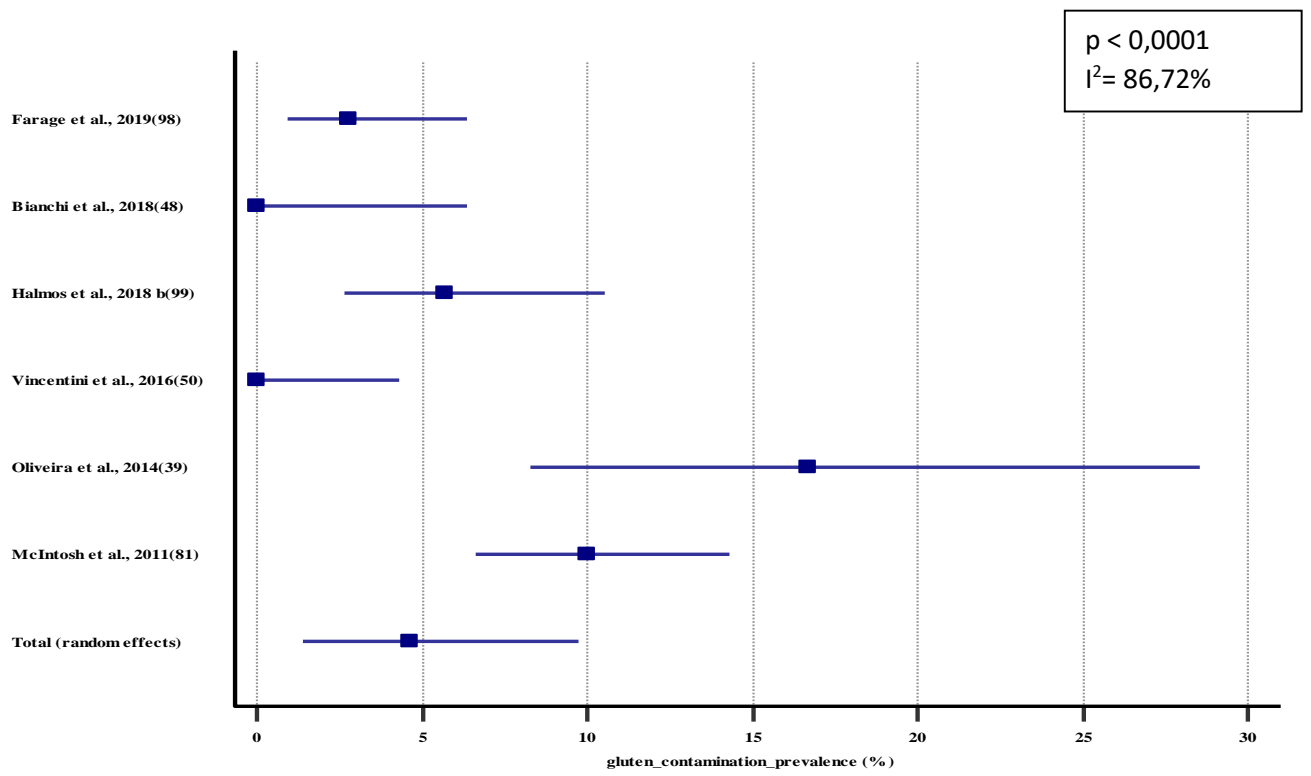
Le nombre d'aliments sans gluten analysés au cours des deux dernières décennies a atteint 25689. Aucune contamination supérieure à 20 mg/kg n'a été observée dans certaines études (Bianchi et al., 2018; Forbes & Dods, 2016; Vincentini et al., 2016), alors que cette contamination a atteint 88 % dans la recherche menée par Koerner et al.(2011). Cette méta-analyse a révélé une prévalence globale de la contamination par le gluten estimée à 14,95 % (IC à 95 % : 9,43 %-21,47 %). Le pourcentage de variabilité des résultats entre les études montre que l' $I^2$  était de 99,28% (IC 95% : 99,20%- 99,35%). Cela suggère l'existence d'une hétérogénéité dans les résultats. Le nombre de L-GF, de N-GF et de repas analysés dans les services de restauration était respectivement de 20938, 3603 et 798. Une comparaison statistique a montré que les N-GFF étaient significativement plus contaminés que les L-GFF et

les repas dans les services de restauration respectivement [28,16% (95% CI : 18,17%-38,70%) ; 9,52% (95% CI : 4,76%-15,72%) ; 4,66% (95% CI : 1,39%-9,72%) ;  $p < 0.001$ ]. **Les figures 23, 24 et 25** montrent la prévalence de la contamination par le gluten dans chaque étude, respectivement dans les aliments N-GFF, les repas sans gluten dans les services de restauration et les produits L-GFP. Au cours de notre étude, la prévalence globale de la contamination des aliments sans gluten était supérieure à celle trouvée au cours de cette revue de littérature (23.8% vs 14,95 %). La prévalence élevée a été observée essentiellement dans les aliments étiquetés sans gluten surtout ceux fabriqués au Maroc (21.88% vs. 9,52%). Cependant, la contamination des aliments sans gluten dans notre échantillonnage était inférieure à celle observée à l'échelle internationale (25% vs 28%).

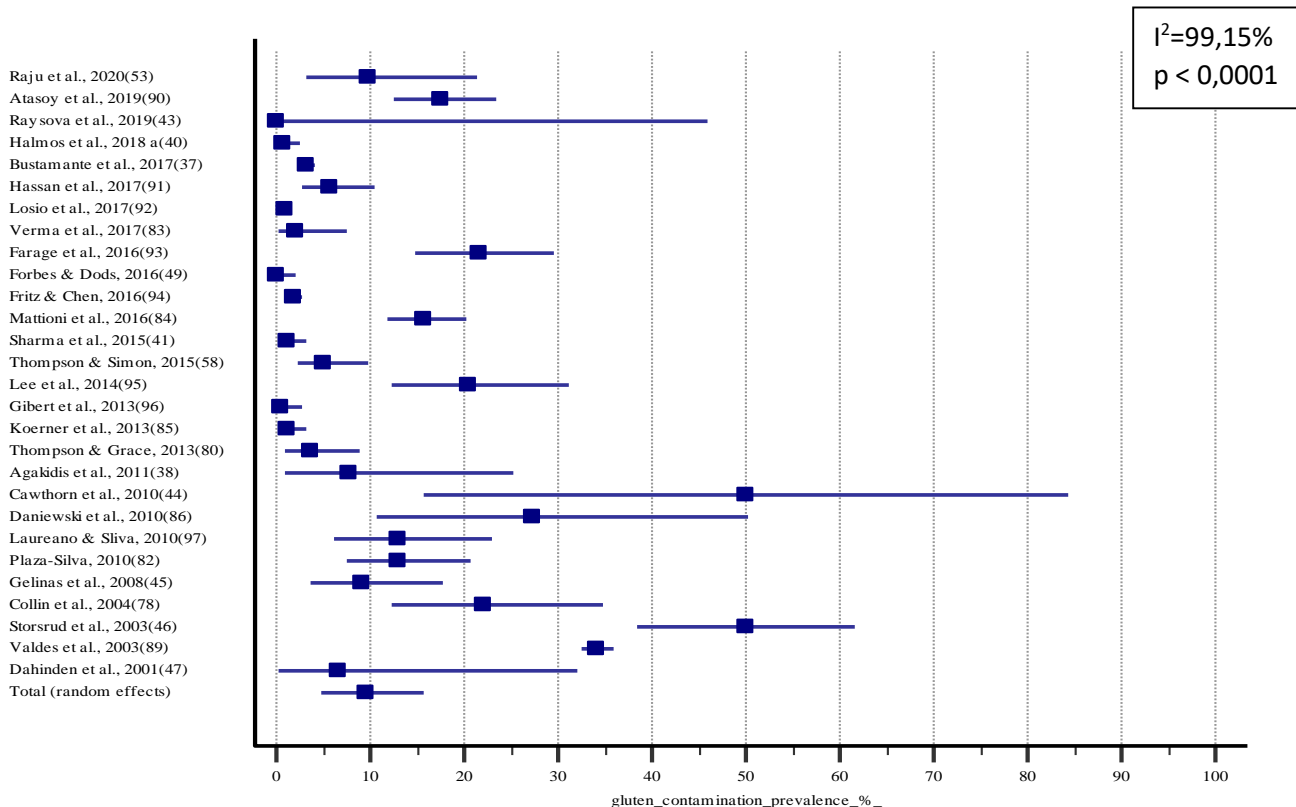
Les chercheurs ont analysé une grande variété et groupe des denrées alimentaires d'aliments sans gluten. L'analyse de fréquence de ces denrées alimentaires contaminées, réalisée à l'aide du logiciel NVIVO, montre que l'avoine est l'aliment le plus contaminé, suivie du sarrasin, des pâtes, du riz et du maïs (**Figure 26**). Notre résultats confirment cette conclusion voire même tous les échantillons de l'avoine de notre étude étaient contaminés.



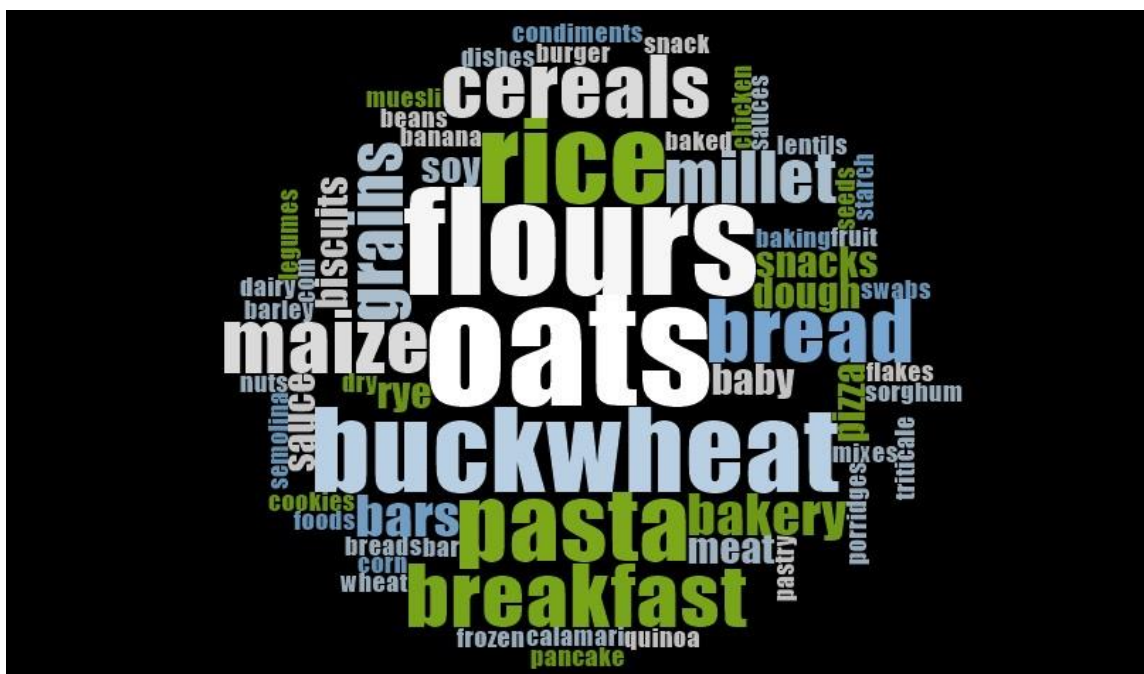
**Figure 23: Forest plot of gluten contamination prevalence observed in naturally gluten-free foods.**



**Figure 24: Forest plot of gluten contamination prevalence observed in meals gluten-free in food services.**



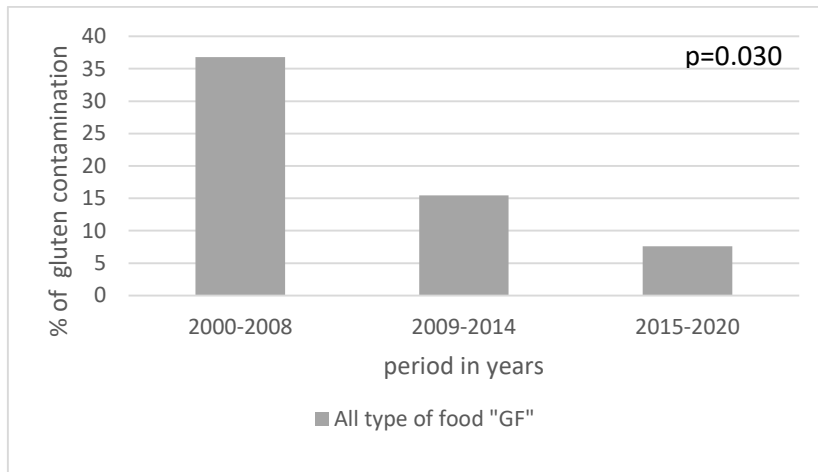
**Figure 25: Forest plot of gluten contamination prevalence observed in labelled gluten-free.**



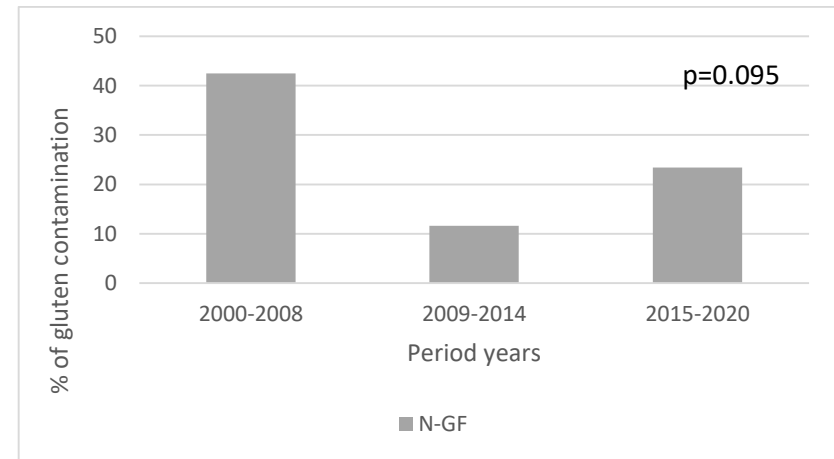
**Figure 26: Aliments les plus contaminés lors de la détection du gluten dans les aliments sans gluten**

Le nombre d'études a considérablement augmenté au fil du temps ; il était limité à 8 entre 2000 et 2008, et a atteint 13 et 17 au cours des périodes 2009-2014 et 2015-2020 respectivement. La prévalence globale de la contamination par le gluten a considérablement diminué au cours de ces trois périodes [36,79 % (IC 95 % : 35,12 %-38,58 %) ; 15,47 % (IC 95 % : 13,7 %-17,35 %) ; 7,60 % (IC 95 % : 6,76 %-8,50 %) ; p=0,030] (**Figure 27.a**). Au cours de ces périodes, la diminution de la prévalence de la contamination par le gluten a été significative pour les aliments L-GF [33,55 % (IC 95 % : 31,61 %-35,59 %) ; 6,64 % (IC 95 % : 5,06 %-8,54 %) ; 5,60 % (IC 95 % : 4,47 %-6,53 %) ; p=0,045] (**Figure 27.b**), alors qu'il était non significatif pour les aliments N-GF [42,48% (95% CI : 39,37%-1945,77%) ; 11,60% (95% CI : 8,70%-15,17%) ; 23,42% (95% CI : 19,57%-27,81%) ; p=0,950] (**Figure 27.c**). Avant 2009, le processus d'analyse n'incluait pas les repas dans les services de restauration, alors qu'entre les périodes 2009-2014 et 2015-2020, 320 et 478 repas ont été analysés respectivement. Au cours de ces deux périodes, la prévalence de la contamination au gluten de ces repas a considérablement diminué [11,25 % (IC 95 % : 7,88 %-15,57 %) ; 2,93 % (IC 95 % : 1,60 %-4,91 %) ; p=0,049] (**Figure 27.d**).

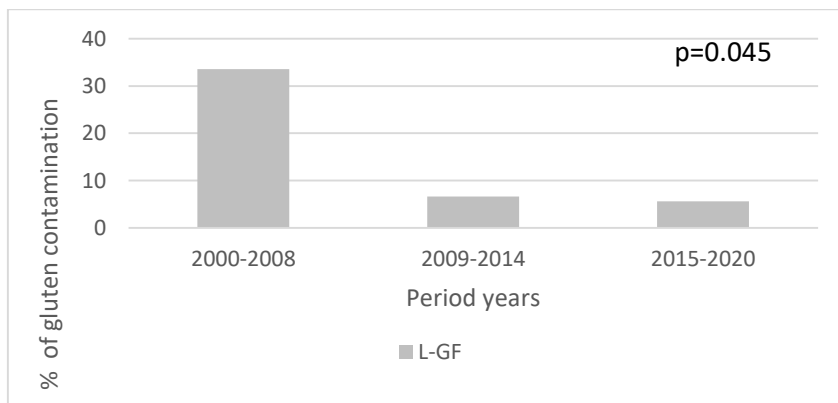
La plupart des études ont été réalisées dans 17 pays seulement. La plupart de ces études ont été réalisées en Europe et en Amérique du Sud et du Nord, tandis que l'Australie, l'Asie et l'Afrique n'étaient représentées que par quelques études. La majorité des études ont été réalisées dans des pays à revenu élevé (HIC) et des pays à revenu intermédiaire supérieur (UMIC), et une seule étude a été réalisée dans des pays à revenu intermédiaire inférieur (LMIC)(Raju et al., 2020), alors qu'aucune étude n'a été réalisée dans des pays à faible revenu (LIC). Le nombre d'aliments analysés dans les HIC était important (23985) par rapport aux UMIC et aux LMIC (1544 et 160 respectivement). La différence dans la prévalence de la contamination par le gluten entre les UMIC et les HIC n'était pas significative (20,39 % contre 13,11 %, p=0,37). La comparaison entre la prévalence de la contamination alimentaire dans les pays appartenant à



**a. Evolution of gluten contamination prevalence in overall gluten free foods over the years**



**c. Evolution of gluten contamination prevalence in naturally gluten-free foods (N-GF) over the years**



**b. Evolution of gluten contamination prevalence in labelled-gluten-free foods (L-GF) over the years**



**d. Evolution of gluten contamination prevalence in meals gluten-free in food services over the years**

**Figure 27. Evolution of gluten contamination prevalence in all type of gluten-free foods, labelled-gluten-free (L-GF), naturally gluten-free (N-GF), and meals gluten-free over the years**



l'UMIC sur deux continents différents (Amérique du Nord et Europe) n'a pas montré de différence significative [10,16 % (IC 95 % : 9,76 %-10,57 %) ; 11,66 % (IC 95 % : 10,02 %-13,49 %) ; p=0,374].

Ainsi, la détection quantitative du gluten dans les aliments peut être effectuée par plusieurs méthodes telles que MALDI-TOF-MS, Aptamers, PCR, QC-PCR, RP-HPLC, LC-MS, électrophorèse sur gel et capillaire, et techniques immunologiques. Chaque technique a ses avantages et ses limites (Osorio & Rustgi, 2019). La fiabilité des résultats est influencée par plusieurs facteurs tels que la complexité de la matrice alimentaire, le type d'anticorps appliqués, les procédures d'extraction du gluten et le manque de matériel de référence (Melini & Melini, 2018). Toutefois, la FDA et le Codex Alimentarius considèrent ELISA comme une technique de référence (Codex Alimentarius, 2008; FDA, 2013). Ainsi, toutes les études incluses dans cet examen ont utilisé les méthodes recommandées par ces comités. En utilisant ces techniques, la prévalence globale de la contamination par le gluten était de 14,95% (IC 95% : 9,43%-21,47%). Cela montre que les aliments dits "sans gluten" destinés aux patients suivant un RSG sont exposés soit à une contamination accidentelle par le gluten, soit à un seuil de teneur en gluten non conforme. En fait, même si l'aliment est naturellement sans gluten ou étiqueté, une contamination accidentelle peut se produire. La contamination est secondaire à un contact direct avec une source qui contient du gluten présent dans le blé, le seigle ou l'orge. Cette contamination peut se produire au cours du processus de récolte, de la fabrication, du transport et du stockage (Nerin et al., 2016). Les aliments étiquetés sans gluten sont moins contaminés que les aliments naturellement sans gluten. Cela peut s'expliquer par le fait qu'une teneur maximale de 20 mg/kg est requise au cours du processus de fabrication des aliments "sans gluten" étiquetés comme tels (Codex Alimentarius, 2008; FDA, 2013). Cependant, des contaminations involontaires peuvent y arriver, cela souligne la nécessité de mettre en œuvre de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication par les industriels au cours de la chaîne de

production. Ce système est renforcé par la mise en œuvre d'un plan HACCP performant(Petruzzelli et al., 2014). Ces étapes permettent de produire des aliments étiquetés sans gluten conformes aux normes et exigences du Codex Alimentarius et de la FDA. Toutefois, la non-conformité peut se produire surtout pendant le processus de production et le stockage de ces aliments. D'où la nécessité d'effectuer des contrôles réguliers même sur les aliments étiquetés sans gluten. Dans ce contexte, certaines associations liées aux maladies du gluten ont introduit le concept de certification des aliments étiquetés sans gluten. Selon Thompson et Simpson(Thompson & Simpson, 2015), les aliments certifiés sans gluten sont moins contaminés que les aliments étiquetés non certifiés et sont plus conformes aux exigences des comités internationaux. En outre, il sera plus intéressant d'ajouter certaines mentions telles que "convient aux personnes sensibles au blé non cœliaque", "convient aux personnes cœliaques", "spécifiquement formulé pour les personnes sensibles au blé non cœliaque" ou "spécifiquement formulé pour la maladie cœliaque"(Grabowicz & Czaja-Bulsa, 2019). Cela permettra d'harmoniser les règles concernant les informations sur les aliments sans gluten que les patients cœliaques peuvent consommer lorsqu'ils suivent leur régime sans gluten (EUR-Lex. 2018).

Les repas servis dans les services de restauration sont les moins contaminés dans les études incluses dans cette revue. Toutefois, le nombre de denrées alimentaires analysées est limité par rapport au nombre de denrées alimentaires naturellement sans gluten et étiquetées. Une contamination involontaire peut se produire lors de la manipulation de ces repas dans les services de restauration. En fait, le manipulateur peut être considéré comme une source de contamination plus que le consommateur. D'autres précautions doivent être prises en considération lors de la préparation d'aliments sans gluten afin d'éviter la contamination croisée. Il est également conseillé d'appliquer rigoureusement les méthodes de nettoyage du matériel et des ustensiles de cuisine(Weisbrod et al., 2020). En outre, des études devraient être menées afin d'évaluer les connaissances et les pratiques relatives à la sécurité des aliments sans gluten dans

les services alimentaires chez les manipulateurs et les consommateurs (Hassan & Dimassi, (2014; Hessel et al., 2019; Chen et al., 2020). Cela permettra de sensibiliser les consommateurs et d'améliorer le niveau de sécurité des pratiques (Soon, 2019; Young et al., 2020). Cela peut se faire par le biais des médias (journaux, télévision et radio), des réseaux sociaux et de la formation sur place.

Les études réalisées ont montré que l'avoine était l'aliment le plus contaminé. En fait, les patients atteints de la MC consomment de l'avoine en raison de ses effets bénéfiques sur la santé (Martinez, 2013). Dans ce contexte, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et la FDA (Mathews, 2011; Clemens & Van Klinken, 2014) ont approuvé plusieurs allégations concernant l'avoine. En outre, la toxicité de l'avénine (prolamine de l'avoine) n'a pas été prouvée pour les patients atteints de la MC (Malamut & Cellier, 2010) et l'avoine est considérée comme un aliment sûr pour ces patients (Smulders et al., 2018; Størsrud et al., 2003). Selon une méta-analyse, aucune preuve n'a été apportée quant à l'effet de l'avoine sur les symptômes des patients cœliaques. Cependant, il est nécessaire de procéder à des essais stricts en double aveugle, systématiques, randomisés et contrôlés par placebo, en utilisant de l'avoine qui est couramment disponible dans différentes régions (Pinto-Sánchez et al., 2017). Dans l'UE (depuis 2009), aux États-Unis (depuis 2013) et au Canada (depuis 2015), les produits à base d'avoine peuvent être vendus comme étant sans gluten à condition que le niveau de contamination par le gluten soit inférieur à 20 mg/kg (Pinto-Sánchez et al., 2017). Cependant, la contamination de l'avoine par le blé, l'orge et le seigle est courante. Dans la production d'avoine conventionnelle, la contamination de l'avoine est traitée par des méthodes conventionnelles. Cet examen montre que l'avoine a été fréquemment contaminée, en particulier lorsqu'il s'agit d'avoine sans gluten non étiquetée. Selon Koerner et al. (2011), 88% de l'avoine ou des produits à base d'avoine étaient contaminés par plus de 20 mg/kg de gluten. Aux États-Unis, il a été démontré que la présence d'avoine dans les aliments naturellement sans gluten est corrélée à un niveau élevé de

contamination par le gluten(Sharma et al., 2015). Cela peut se produire au cours de la récolte, du transport et de la chaîne de production, parallèlement à celle d'autres céréales (blé, seigle et seigle). Par conséquent, la non-contamination de l'avoine nécessite un système distinct et un contrôle régulier de son efficacité. Plusieurs chercheurs recommandent de ne consommer que de l'avoine étiquetée sans gluten, tandis que d'autres recommandent d'arrêter la consommation d'avoine lorsque les symptômes se développent (Pinto-Sánchez et al., 2017). En outre, certains pays (par exemple, les États-Unis) ont fait des efforts pour résoudre le problème de la contamination de l'avoine par le gluten en développant des chaînes de production d'avoine sans gluten, comme la méthode progressive du "test tout positif", qui consiste à détecter la contamination de l'avoine par le gluten à base de grains au niveau de la portion (Chen et al., 2018).

Dans cette revue, nous sommes concentrés sur les études publiées sur la base de données actuelles pendant une période de 20 ans (entre le 01/01/2000 et le 01/06/2020), subdivisée en trois périodes (2000-2008 ; 2009-2014 ; 2015-2020). La subdivision de ces deux décennies dépendait principalement des années au cours desquelles les législateurs ont mis en évidence les lois réglementaires concernant la teneur en gluten des aliments. En 2008, le Codex Alimentarius a mis à jour la loi 118-1978 en fixant à 20 mg /kg la teneur en gluten en dessous de laquelle l'aliment est considéré comme "sans gluten" (Codex Alimentarius , 2008). En 2014, la FDA a également mis à jour la loi concernant les aliments dits "sans gluten" en fixant le même niveau (20 mg/kg) (FDA, 2013). Dans ce contexte, les études couvrant la période entre 2000 et 2008 (année de la mise à jour du Codex Alimentarius), entre 2009 et 2014 (année de mise à jour de la loi adoptée par la FDA, puis entre 2015 et 2020 (après la mise à jour de la loi par la FDA) ont été fixées. La diminution de la prévalence moyenne de la contamination par le gluten au fil du temps peut s'expliquer par le fait qu'avant 2008, les aliments étaient considérés comme des "aliments sans gluten" même s'ils contiennent jusqu'à 100 mg/kg de gluten.

Cependant, depuis 2008, le Codex Alimentarius exige une teneur maximale de 20 mg/kg pour qu'une denrée alimentaire soit "sans gluten". En outre, entre 2009 et 2014, d'autres réglementations similaires ont été mises en place. En 2011, le règlement n° 1169/2011 du Parlement Européen et du Conseil concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires a été publié avec pour principal objectif de garantir un niveau élevé de protection des consommateurs en matière d'information sur les denrées alimentaires (EUR-Lex , 2011). Trois ans après son application, la FDA a établi une norme exigeant des fabricants qu'ils respectent la limite de 20 mg/kg comme seuil de référence aux États-Unis pour les produits dits "sans gluten". Ainsi, cette réglementation a permis de produire et de commercialiser des aliments étiquetés "sans gluten" dans le strict respect des normes requises par ces comités. Cependant, on a constaté une augmentation de la prévalence de la contamination par le gluten dans les aliments naturellement sans gluten au cours de la période 2015-2020. Cela peut s'expliquer par l'absence de normes qui réglementent la récolte et la commercialisation de ces aliments.

Comme mentionné précédemment, aucune étude n'a été réalisée dans les LIC et une seule a été menée récemment dans les LMIC. Notre étude vient d'être la seconde étude qui a été menée dans les pays LMIC. La classification des pays a été faite en fonction du revenu des pays selon la Banque mondiale(The World Bank , 2020). En fait, la recherche limitée dans les LIC et les LMIC s'explique d'une part par le budget limité de la recherche scientifique, et d'autre part par les prix exorbitants des kits d'extraction et de détection du gluten. En outre, les matériels d'extraction et d'analyse sont produits dans les LIC et sont soumis à des taxes imposées par les pays importateurs, ce qui augmente encore plus leurs prix. En outre, même si elles sont effectuées, le nombre de denrées alimentaires analysées est limité et ne dépasse pas 160 échantillons(Raju et al., 2020). Par conséquent, des précautions doivent être prises dans le cadre du contrôle des denrées alimentaires dans les LIC ou les LMIC pour garantir la sécurité de ces

aliments sans gluten. Cela joue un rôle clé dans la mise en œuvre d'un RSG sain et sûr lors du suivi des patients atteints de NCWS et de MC. Cette dernière est en augmentation dans les LIC et les LMIC, principalement dans les pays africains et asiatiques(Singh et al., 2018; Poddighe et al., 2019). Ainsi, outre les difficultés de diagnostic, l'incapacité à prendre en charge les patients atteints de la MC sera très élevée dans un tel contexte.

La disponibilité de produits sans gluten non conformes ( $> 20$  mg / kg) sur les marchés y compris le marché marocain est un facteur de non-respect du régime sans gluten. En consommant ces aliments considérés dans les limites des normes, alors que leur teneur exacte dépasse 20 mg/kg, les patients atteints de la MC s'exposent au risque de contamination en dépassant le seuil, estimé à 100 mg/kg selon Collin et al. (2004). Une fois ce seuil dépassé, le patient entrera dans un cercle vicieux pendant le régime sans gluten. Ainsi, la prévalence élevée de la non-conformité des aliments sans gluten au Maroc que celle dans la littérature implique la mise en place de plusieurs actions préventives afin d'assurer sur le marché des produits sans gluten qui répondent à l'exigence et la réglementation en matière de la teneur de gluten. D'abord, il est important que l'ONSSA fasse des contrôles réguliers sur les produits sans gluten disponible au Maroc pour vérifier leur conformité. En parallèle, le rôle de cet office est primordial dans l'encouragement des entreprises de respecter les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication en veillant à adopter la démarche de de identification des risques et contrôle des points critique (HACCP). Ensuite, cet office doit régler le problème des produits alimentaires de contrebande dans les villes du nord et qui peuvent être non sécurisé en teneur de gliadine et avoir un faux étiquetage. Puis, il est important avoir des lignes séparé au cours de la récolte ou la fabrication des céréales et produits dérivés pour éviter toute contamination croisée. Cela est remarqué dans la contamination de l'avoine qu'est exempté normalement de gluten toxique, toutefois, sa contamination est fréquente et due essentiellement à cause de la contamination croisée au cours de processus de récolte ou production. Enfin, les industriels

doivent veiller à appliquer la loi concernant l'étiquetage de gluten dans les produits agro-alimentaires sachant que l'ONSSA a mis en œuvre une réglementation avancée concernant l'étiquetage des substances allergiques des aliments y compris le gluten. En plus de ces actions, il est très important d'encourager à mettre en disponibilité des moulins à domicile à chaque patient avec un prix convenable. Dans ce cadre apparait le rôle primordial des associations qui intervient dans les pathologies liées au gluten tel que la MC dans le soutien et l'aide de ces patients par la mise à leurs disponibilités de ces moulins. L'intervention peut être faite aussi par l'installation des moulins au niveau de leurs locaux permettant ainsi aux patients cœliaques à broyer leurs aliments sans gluten en évitant la contamination croisée. En outre, les fabricants doivent se conformer strictement à toutes les réglementions relatives aux étiquetages des aliments, afin de préserver les droits du consommateur et de l'empêcher de prendre involontairement des substances allergènes susceptibles d'exposer à des réactions allergiques potentiellement dramatiques.

En parallèle de la consommation des aliments sans gluten qui doivent être vraiment exemptés de gluten pour avoir une bonne adhérence au RSG, la sécurité de ces aliments inclut aussi la sécurité microbiologique. Autrement dit, les patients cœliaques dont l'atteinte intestinale est très avancée doivent consommer que les aliments de bonne qualité sanitaire pour éviter toute intoxication ou toxi-infection alimentaire. En effet, l'étude que nous avons réalisée au Maroc a montré que globalement la qualité microbiologique des aliments sans gluten disponibles au Maroc est satisfaisante. Aucune contamination par les agents pathogènes les plus graves (*Salmonella* et *Listéria monocytogenes*) n'a été remarquée. Il était remarquable que cette qualité fût plus satisfaisante dans les aliments étiqueté sans gluten suivi par les aliments naturellement sans gluten. Ces derniers présentent des prévalences d'insatisfaisante très importante en ce qui concerne les levures et les moisissures. Cela est lié essentiellement à la mauvaise condition de stockage de ces aliments chez les vendeurs, surtout que le rythme de

vente de la plupart de ces aliments est très lent. Des non-conformités ont été observées dans les repas sans gluten préparé à domicile par les patients cœliaques. La contamination est remarquée surtout par les coliformes totaux, coliforme fécaux et les *staphylococcus aureus*. Il s'agit donc d'une contamination par des bactéries qui indiquent le non-respect des bonne pratique d'hygiène et de préparation par les patients cœliaques qui s'intéressent plus au côté de la teneur exacte de gluten dans ces aliments que leur qualité sanitaire et microbiologique. Les patients cœliaques trouvent des difficultés de prendre des repas au cours de leur travail, étude ou voyage. Dans ce cadre, la restauration qui présente des repas sans gluten commence à y apparaitre au Maroc. D'où vient l'importance d'une bonne qualité microbiologique de ces alimenté éviter toute toxi-infection. La majorité des repas préparé dans les services alimentaire analysée dans notre étude était de bonne qualité microbiologique.

Les résultats obtenus concernant le non-respect des bonnes pratiques d'hygiène montrent que ces patients ont besoin des conseils pour préparer leurs repas en bonnes conditions. Dans ce cadre vient le rôle primordial de leurs médecins et leurs diététiciens pour les conseiller. C'est pour cela nous avons évalué les connaissances et les pratiques chez ces personnels de la santé afin d'évaluer leurs niveau en matière de sécurité sanitaires des aliments et savoir leur capacité à présenter des conseils adéquates en ce sens. Les résultats obtenus au cours de la présente étude ont montré l'importance d'adopter des programmes d'éducation et de formation à la sécurité alimentaire dans les hôpitaux marocains pour les médecins. Ces formations permettront d'améliorer leurs niveaux et de maîtriser les outils nécessaires pour éviter toute contamination d'origine alimentaire. Ainsi, ces professionnels de santé pourront expliquer et réexpliquer à leurs patients les bonnes pratiques de suivi de chaque régime, y compris le régime sans gluten, dont la contamination croisée est l'un des facteurs d'échec.



# CONCLUSION GENERALE

Au Maroc, l'incidence de la MC est en augmentation considérable. Cette maladie impacte plusieurs aspects y compris la qualité de vie et l'état nutritionnel. Ce dernier est prédominé chez les enfants et les adolescents par une prévalence élevée de la dénutrition sous les trois formes (Insuffisance pondérale, Insuffisance staturale, Maigreur). Le suivi du RSG a permis de corriger cette dénutrition en améliorant l'état nutritionnel de ces patients. Néanmoins, elle s'est accompagnée d'une augmentation de prévalence de l'obésité et du risque de surpoids.

L'évaluation de la QV des patients cœliaques au moyen de questionnaires spécifiques est en augmentation considérablement. Les propriétés psychométriques (cohérence interne, reproductibilité, acceptation, effet plancher, effet plafond, validité convergente, validité conceptuelle et validité discriminante) ont été acceptables dans les versions développées et adaptées y compris notre études. Les scores obtenus dans la plupart des études ont montré que la QV des enfants, des adolescents et des adultes atteints de la maladie cœliaque était neutre. Même constatation a été obtenue au cours de la présente étude chez les adultes cœliaques marocains, cependant, cette QV était médiocre chez les enfants et adolescents cœliaque. Selon plusieurs études, le suivi du GFD par les patients cœliaques a permis d'améliorer leur QV, néanmoins, cette amélioration n'a pas été remarqué ni chez les adultes ni chez les enfants et adolescents cœliaques marocains. Les items liés au RSG et aux aliments sans gluten représentent les scores les plus faibles indiquant une QV médiocre dans les dimensions correspondantes. Cela montre la nécessité de mettre en place tous les facteurs permettant une meilleure adhérence au régime sans gluten y compris le prix, la disponibilité, qualité nutritionnelle et l'étiquetage des aliments sans gluten.

Cependant, au cours de la présente recherche nous avons été remarquable que les produits sans gluten fussent peu disponibles dans les marchés marocains. Cela impactent considérablement sur la charge de RSG surtout que les prix des produits sans gluten étaient trois à quatre fois plus chers que leurs équivalents contenant du gluten. Il était remarquable

aussi que la qualité nutritionnelle des produits sans gluten emballés, étiquetés et commercialisés dans les supermarchés et les sites web au Maroc sont déséquilibrée. La qualité nutritionnelle se caractérise par une faible teneur en protéines et en sucres et une forte teneur en fibres. La supplémentation et l'enrichissement des produits sans gluten par les fabricants étaient limitées. Cela montre que les patients cœliaques marocains souffrent de facteurs liés aux produits sans gluten. Ces facteurs impactent ainsi sur l'adhérence au RSG, ce qui influencent négativement sur leur QV et ne permettent pas l'amélioration de cette QV même après le suivi de ce régime.

En outre, la présente étude a montré l'absence des agents pathogènes graves (*Salmonella spp* and *Listeria monocytogenes*) dans les aliments sans gluten. Une qualité insatisfaisante n'a été observée que dans certains nombre limité dans les aliments naturellement sans gluten, en particulier les coliforme totaux et fécaux, levure et moisissure avec une bonne conformité du L-PSG. Alors que, la qualité sanitaire était non-conforme surtout dans le repas préparé à domicile. Par conséquent, la plupart des conditions d'hygiène et des mesures correctives adéquates doivent être prises en particulier par les patients cœliaques afin d'améliorer les pratiques d'hygiène.

La sécurité sanitaire des aliments sans gluten inclut également la teneur exacte de gliadine dans ces aliments. Au cours de la présente étude, le taux de contamination global était de 23,8%, celui de la L-PSG était de 25% contre 21% pour le N-ASG. Ces prévalences étaient plus élevées par rapport à ceux observées dans le monde entier. Parmi les six catégories analysées, trois d'entre elles (pâtes, biscuits et levure de boulanger) n'ont montré aucune contamination. Le taux de contamination a été estimé à 42,1% dans les céréales, affectant tous les échantillons d'avoine. Les L-PSG fabriqués localement étaient modérément plus élevés que ceux importés (28,6% contre 16,7%). En effet, la contamination par le gluten des aliments dits "sans gluten" est fréquente, en particulier dans les aliments naturellement sans gluten. Toutefois, la prévalence globale de cette contamination a diminué au fil du temps. Très peu

d'études ont été menées dans les pays à faible revenu et les pays à revenu intermédiaire de la tranche inférieure.

En effet, la réglementation Marocaine des substances allergénique y compris le gluten est en même pied d'égalité que celui adapté en Union Européen. Cependant, son application au Maroc reste encore insatisfaisante surtout à propos de l'utilisation des caractères spéciaux (Gras ou Italiques). L'utilisation d'une mise en garde sur l'étiquetage des allergènes a été constatée dans le tiers des produits alimentaires.

Les patients cœliaques doivent bénéficier des conseils par leurs médecins et diététiciens pour manipuler soigneusement les aliments sans gluten et éviter toute contamination croisée, contaminations par des allergènes ou contamination par des micro-organismes. Dans ce cadre, l'évaluation des connaissances et des pratiques chez les personnels de la santé en matière de sécurité sanitaire des aliments a montré que ce niveau était limité chez les médecins. Cela implique de faire des formations dans ce sens par les hôpitaux surtout que ces médecins sont toujours en contact avec des patients qui ont besoin des conseils pour éviter toute contamination croisée ou une intoxication alimentaires.

Par conséquent, il est important de prendre des actions préventives et correctives soit par les patients cœliaques et soit par les intervenant (Etat, Associations, Entreprises agro-alimentaires, restaurants). L'Etat doit mettre les moyens nécessaire pour un diagnostic précoce de la maladie par ce que le diagnostic tardive est corrélé généralement à un état de dénutrition avancé. Un accompagnement par les diététiciens et les médecins au cours de suivi de RSG, est nécessaire. Cet accompagnement doit être guidé par l'utilisation des questionnaires pour l'évaluation de fréquence de consommation alimentaire ou d'un logiciel équivalent permettant l'évaluation des apport en macronutriment et micronutriment pour éviter toute carence ou excès susceptible de survenir. Cela va permettre d'avoir un GFD équilibré. Cela implique aussi la fabrication des aliments sans gluten avec une qualité nutritionnelle équilibrée en

macronutriments, en énergie totale et en micronutriments. Une fortification par des certains éléments tel que le fer et vitamines reste essentiels. Une bonne adhérence à ce régime nécessite aussi la mise en disponibilité de ces patients des aliments sans gluten avec un prix convenable et à leur portée. Un remboursement des aliments sans gluten et/ou des subventions par l'état sont essentiels pour permettre une bonne adhérence au RSG. Cette bonne adhérence va permettre aussi une amélioration de la QV des patients atteints de la MC au Maroc. Une sensibilisation du public à la MC à travers les médias et les réseaux sociaux reste une priorité pour une meilleure compréhension de cette maladie permettant ainsi une intégration facile des patients cœliaques dans la société. Cela va permettre aussi une amélioration de leur QV. En outre, les patients cœliaques doivent manipuler les aliments sans gluten en respectant les bonnes pratiques d'hygiène pour éviter toute contamination surtout par des micro-organismes pathogènes. D'autres contaminations peuvent sont susceptible surtout celle de la contamination croisée par le gluten existant dans les autres aliments contenant du gluten au cours de la préparation des repas dans les mêmes endroits ou dans les mêmes ustensiles de cuisine. Les industriels doivent aussi produire des aliments sans gluten conformes aux normes (seuil de 20 mg/kg) et en respectant les conditions de stockage et de distribution pour éviter toute contamination par des micro-organismes surtout par les levures et les moisissures. Cela souligne la nécessité de mettre en œuvre des bonnes hygiènes et des bonnes pratiques de fabrication par les fabricants au cours de la chaîne de production. Ce système doit être renforcé par la mise en œuvre d'un plan HACCP. Ces étapes permettent de produire des aliments étiquetés sans gluten, conformes aux normes et exigences du Codex Alimentarius. Cependant, des contaminations peuvent survenir provoquant l'existence des produits sans gluten non-conformité ; d'où vient la nécessité de porter des contrôles réguliers, même sur les aliments étiquetés sans gluten. Ces contrôles doivent se faire par l'autorité responsable incarnée dans l'office national de sécurité sanitaire des aliments. L'encouragement de la production des

produits agro-alimentaires sans gluten locaux est importante, voire même la bonne commercialisation des aliments naturellement sans gluten territoire. Par ailleurs, des formations des personnels de la santé et des patients cœliaques en matière de sécurité sanitaires des aliments restent une nécessité pour améliorer le niveau de connaissances et de pratique des aliments pour éviter toute contamination ultérieurs au cours de la manipulation des aliments.

# RECOMMENDATIONS & PERSPECTIVES

D'après la présente étude, certaines recommandations et perspectives ont été proposées. Il s'agit de :

- Mettre en place les moyens de diagnostic de la MC y compris :
  - ✓ Formation des médecins généraux à propos des moyennes pertinents pour un diagnostic précoce de la MC
  - ✓ Mettre en place des moyens de diagnostic de la MC au niveau des hôpitaux régionaux et provinciaux tel que la biopsie intestinale, les analyses sanguines (Antigliadine de classe IgA et IgG, anti-endomysium de classe IgA et IgG, et antitransglutaminase de classe IgA et IgG) et le typage des antigènes des leucocytes humains DQ2 et DQ8.
- L'utilisation de questionnaire sur la fréquence de consommation des aliments pour évaluer les apports nutritionnels consommés et le comparer à celui recommandé
- Validation d'un questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ) pour l'évaluation des apports nutritionnels (Macro et micronutriments) chez les patients atteints de la MC.
- Validation d'un questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ) pour l'évaluation des apports en gluten chez la population marocaine générale.
- Utilisation des logiciels de l'estimation des apports alimentaires sans gluten
- L'exigence de tous les sociétés agro-alimentaires de Développer des tables de composition des aliments sans gluten par
- L'enrichissement est un moyen efficace pour lutter contre les carences en micronutriments
- Une sensibilisation du public à la MC à travers les médias et les réseaux sociaux
- l'encouragement de l'ouverture des restaurations qui prépare des repas sans gluten destinées aux patients cœliaques
- Ajouter certaines mentions dans les produits sans gluten, telles que "convient aux personnes sensibles au blé non cœliaque", "convient aux personnes cœliaques",



"spécifiquement formulé pour les personnes sensibles au blé non cœliaque" ou "spécifiquement formulé pour les personnes cœliaques".

- Considérer les aliments sans gluten en tant que des médicaments pour le remboursement
- Le remboursement ne doit pas être limité aux tests sérologiques et la biopsie et doit couvrir aussi les aliments sans gluten
- Des stratégies par l'Etat doivent être adoptées dans le cadre de mettre à disposition des produits sans gluten aux patients cœliaques à un prix convenable telles que :
  - ✓ Les produits sans gluten importé doivent bénéficier d'une exonération fiscale ou d'une réduction des taxes
  - ✓ des subventions directes aux patients cœliaques par l'Etat est souhaitable
  - ✓ Encourager la fabrication des produits agro-alimentaires sans gluten par les entreprises locales
  - ✓ Dotation des aliments sans gluten
- Effectuer des contrôles réguliers même sur les aliments étiquetés sans gluten par l'ONSSA
- Procéder à des essais stricts en double aveugle, systématiques, randomisés et contrôlés par placebo, en utilisant de l'avoine qui est couramment disponible dans différentes régions
- La formation des manipulateurs d'aliments sans gluten aux connaissances et pratiques en matière de sécurité alimentaire reste essentielle pour éviter la contamination des repas par le gluten dans les services de restauration.
- Mettre en œuvre des actions préventives afin de réduire la contamination par le gluten, en garantissant un régime alimentaire sans gluten sûr pour les patients atteints de la MC.

- Le respect des bonnes pratiques d'hygiène par les patients cœliaques au cours de la manipulation des aliments sans gluten pour éviter toute contamination susceptible surtout par des micro-organismes pathogènes.
- Le respect des conditions de stockage et de distribution pour éviter toute contamination par des micro-organismes surtout par les levures et les moisissures
- La mise en place par les industriels de système d'HACCP pour éviter toute contamination croisé par les allergènes ou toute contamination par les micro-organismes pathogènes
- Les industriels doivent appliquer rigoureusement les bonnes pratiques d'hygiènes et de fabrication
- Encouragement des études pour la recherche d'autre traitement pour la MC tel que le traitement enzymatique.
- Etude du Microbiote intestinal et de l'impact des probiotiques par :
  - Identification de la Composition du microbiote (duodéal, salivaire, fécal) : Lactobacillus, Bifidobacterium, Pseudomonas.....: à travers des Essais cliniques contrôlés randomisés (RTC) par la technique du gène unique codant pour l'ARN ribosomal 16S ou une étude métagénomique
  - Supplémentation par des probiotiques (durée: plus de 3 mois): RTC-double aveugle

# References

- Abdulla, A., & Garemo, M. (2018). High Cost of Gluten Free Products Might be Challenging for People with Celiac Disease in the United Arab Emirates. *International Journal of Celiac Disease*, 6(2), 37-41. DOI: [10.12691/ijcd-6-2-2](https://doi.org/10.12691/ijcd-6-2-2)
- Abreu Paiva, L. M., Gandolfi, L., Pratesi, R., Harumi Uenishi, R., Puppini Zandonadi, R., Nakano, E. Y., & Pratesi, C. B. (2019). Measuring Quality of Life in Parents or Caregivers of Children and Adolescents with Celiac Disease: Development and Content Validation of the Questionnaire. *Nutrients*, 11(10), 2302. DOI: [10.3390/nu11102302](https://doi.org/10.3390/nu11102302)
- Acikel, C. H., Ogur, R., Yaren, H., Gocgeldi, E., Ucar, M., & Kir, T. (2008). The hygiene training of food handlers at a teaching hospital. *Food Control*, 19(2), 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.03.008>
- Addolorato, G., De Lorenzi, G., Abenavoli, L., Leggio, L., Capristo, E., & Gasbarrini, G. (2004). Psychological support counselling improves gluten-free diet compliance in coeliac patients with affective disorders. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 20(7), 777-782. DOI: [10.1111/j.1365-2036.2004.02193.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2004.02193.x)
- Admou, B., Essaadouni, L., Krati, K., Zaher, K., Sbihi, M., Chabaa, L., Belaabidia, B., Alaoui-Yazidi, A. (2012). Atypical Celiac Disease: From Recognizing to Managing. *Gastroenterol Res Pract*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2012/637187>
- Admou, B., Sbihi, M., Bienvenu, F., et al. (2009). Diagnostic immunologique de la maladie cœliaque chez l'enfant. Mise au point. *Immuno-Anal Biol Spéc*, 24(4), 217-222. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2009.06.005>
- AFDIAG. [digestscience.com/fr/actualites-fondation/481](http://digestscience.com/fr/actualites-fondation/481) ; La Maladie Cœliaque chez l'enfant et chez l'adulte. Publié le vendredi 26 octobre 2012.
- Agakidis, C., Karagiozoglou-Lampoudi, T. et al. (2011). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Gliadin Assessment in Processed Food Products Available for Persons With Celiac Disease: A Feasibility Study for Developing a Gluten-Free Food Database. *Nutr Clin Pract*, 26, 695–699. <https://doi.org/10.1177/0884533611418784>
- Agüeria, D. A., Terni, C., Baldovino, V. M., & Civit, D. (2018). Food safety knowledge, practices and attitudes of fishery workers in Mar del Plata, Argentina. *Food Control*, 91, 5-11. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.028>
- Akobeng, A. K., & Thomas, A. G. (2008). Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 27(11), 1044-1052. DOI: [10.1111/j.1365-2036.2008.03669.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03669.x)
- Aksan, A., Mercanlıgil, S. M., Häuser, W., & Karaismailoğlu, E. (2015). Validation of the Turkish version of the Celiac Disease Questionnaire (CDQ). *Health and quality of life outcomes*, 13(1), 82. DOI: [10.1186/s12955-015-0272-y](https://doi.org/10.1186/s12955-015-0272-y)
- Alaedini, A., & Green, P. H. (2005). Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. *Annals of internal medicine*, 142(4), 289-298. DOI: [org/10.7326/0003-4819-142-4-200502150-00011](https://doi.org/10.7326/0003-4819-142-4-200502150-00011)
- Aleksandra, G., & Grazyna, C. (2019). Misleading labelling of gluten-free products in the light of EU regulations: time for a change?. *J Consum Prot Food S*, 14, 93–95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00003-019-01208-6>

- Al-Kaabi, S. K., Ibrahim, A. A. E., & Salama, R. E. (2010). Assessment of Knowledge, Attitude and Practice of Food Safety Among Food Service Staff at Hamad General Hospital in 2006. *Qatar Medical Journal*, 2010(2), 8. <https://doi.org/10.5339/qmj.2010.2.8>
- Al-Kandari, D., Al-abdeen, J., & Sidhu, J. (2019). Food safety knowledge, attitudes and practices of food handlers in restaurants in Kuwait. *Food Control*, 103, 103-110. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.040>
- Allen, B., & Orfila, C. (2018). The availability and nutritional adequacy of gluten-free bread and pasta. *Nutrients*, 10(10), 1370. DOI: [org/10.3390/nu10101370](https://doi.org/10.3390/nu10101370)
- Allmann, M., Candrian, U., Höfelein, C., & Lüthy, J. (1993). Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food Detection of wheat contamination in non-wheat food products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 196(3), 248-251. DOI: [10.1007/bf01202741](https://doi.org/10.1007/bf01202741)
- Allred, L. K., Kupper, C., & Quinn, C. (2018). The Use of Visual Examination for Determining the Presence of Gluten-Containing Grains in Gluten Free Oats and Other Grains, Seeds, Beans, Pulses, and Legumes. *Journal of AOAC International*, 101(1), 36-44. DOI : [org/10.5740/jaoacint.17-0414](https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0414)
- Alonso, J., Anto, J. M., & Moreno, C. O. N. C. H. I. (1990). Spanish version of the Nottingham Health Profile: translation and preliminary validity. *American Journal of Public Health*, 80(6), 704-708. DOI: [10.2105/ajph.80.6.704](https://doi.org/10.2105/ajph.80.6.704)
- Al-Qabandi, W., Buhamrah, E., Al-Abdulrazzaq, D., Hamadi, K., & Al Refaee, F. (2015). Celiac disease in children: is it a problem in Kuwait?, *Clin Exp Gastroenterol*, 8, 43-48. Doi: [10.2147/CEG.S73067](https://doi.org/10.2147/CEG.S73067).
- Alqurashi, N. A., Priyadarshini, A., & Jaiswal, A. K. (2019). Evaluating food safety knowledge and practices among foodservice staff in Al madinah hospitals, Saudi Arabia. *Safety*, 5(1), 9. DOI: [10.3390/safety5010009](https://doi.org/10.3390/safety5010009)
- Al-Qabandi, W., Buhamrah, E., Al-Abdulrazzaq, D., Hamadi, K., & Al Refaee, F. (2015). Celiac disease in children: is it a problem in Kuwait?, *Clin Exp Gastroenterol*, 8, 43-48. Doi: [10.2147/CEG.S73067](https://doi.org/10.2147/CEG.S73067)
- Al-Sakkaf, A. (2012). Evaluation of food handling practice among New Zealanders and other developed countries as a main risk factor for campylobacteriosis rate. *Food Control*, 27(2), 330-337. DOI: [10.1016/j.foodcont.2012.04.011](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.04.011)
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E.K., & Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *Int J Food Sci Nutr*, 60(sup4), 240-257. DOI: <https://doi.org/10.1080/09637480902950597>
- Amaya-González, S., de-Los-Santos-Álvarez, N., Miranda-Ordieres, A. J., & Lobo-Castañón, M. J. (2014). Aptamer binding to celiac disease-triggering hydrophobic proteins: a sensitive gluten detection approach. *Analytical chemistry*, 86(5), 2733-2739. DOI: [org/10.1021/ac404151n](https://doi.org/10.1021/ac404151n)
- AMDIAG, Morocco, List of prohibited medicines for celiac disease. Available at: <http://amdiag-sud.org/2013/10/09/liste-des-medicaments-interdit-pour-la-maladie-coeliaque/>
- Angelillo, I. F., Viggiani, N. M., Greco, R. M., & Rito, D. (2001). HACCP and food hygiene in hospitals knowledge, attitudes, and practices of food-services staff in Calabria, Italy. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 22(6), 363-369.

- Arias-Gastelum, M., Cabrera-Chávez, F., de Jesús Vergara-Jiménez, M., & Ontiveros, N. (2018). The gluten-free diet: access and economic aspects and impact on lifestyle. *Nutrition and Dietary Supplements*, 10, 27-34. DOI: [org/10.2147/NDS.S143404](https://doi.org/10.2147/NDS.S143404)
- Arigo, D., Anskis, A. M., & Smyth, J. M. (2012). Psychiatric comorbidities in women with celiac disease. *Chronic illness*, 8(1), 45-55. DOI: [10.1177/1742395311417639](https://doi.org/10.1177/1742395311417639)
- Armstrong, D., Don-Wauchope, A. C., & Verdu, E. F. (2011). Testing for gluten-related disorders in clinical practice: the role of serology in managing the spectrum of gluten sensitivity. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 25,193-97. DOI: [10.1155/2011/642452](https://doi.org/10.1155/2011/642452)
- Armstrong, M. J., Robins, G. G., & Howdle, P. D. (2009). Recent advances in coeliac disease. *Current opinion in gastroenterology*, 25(2), 100-109. DOI: [10.1097/MOG.0b013e32831ef20d](https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32831ef20d)
- Article 34 du Décret n°2-10-473 du 7 chaoual 1432 (6 septembre 2011) pris pour l'application de certaines dispositions de la loi n°28-07 relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires.
- Asociación de CeliacoS de Extremadura . (2015), "Ayudas alimentarias para celíacos con bajos recursos económicos", available at: <https://www.celiacosextramadura.org/ayudas-alimentarias> (accessed January 2020).
- Assa, A., Frenkel-Nir, Y., Tzur, D., Katz, L. H., & Shamir, R. (2017). Cardiovascular Risk Factors in Adolescents With Celiac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 65(2), 190–194. DOI:[10.1097/mpg.0000000000001487](https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000001487)
- Association Française Des Intolérants Au Gluten. (2019), "Remboursement des produits diététiques sans gluten", available at: <http://www.afdiag.fr/intolerance-au-gluten/vie-pratique/remboursement/> (accessed January 2020).
- Atasoy, G., Kurt Gokhisar, O., & Turhan, M. (2020). Gluten contamination in manufactured gluten-free foods in Turkey. *Food Addit Contam Part A*, 37, 363–373. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1696021>
- Auquier, P., & Robitail, S. (2001). Validation d'un questionnaire de qualité de vie. Montrouge: John Libbey Eurotext (Ed.), *Qualité de vie et dermatologie*, 13.
- Aurangzeb, B., Leach, S., Lemberg, D., Day, A. (2010). Nutritional status of children with coeliac disease: Nutritional assessment in coeliac disease. *Acta Paediatr*, 99 (7), 1020-5. Doi: [10.1111/j.1651-2227.2010.01732.x](https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01732.x).
- Azdad, O., Mejrhit, N., Bousfiha, A., Chihab, Z., Taouda, H., Ouahidi, I., & Aarab, L. (2016). Reported allergy to milk species in schoolchildren of Fez-Meknes region and its relationship to life environment. *Turkish Journal of Immunology*, 4(3), 30-36. DOI: [10.5606/tji.2016.485](https://doi.org/10.5606/tji.2016.485)
- Azdad, O., Mejrhit, N., Chda, A., El Kabbou, M., Bencheikh, R., Tazi, A., Aarab, L. (2019). The protective effect of milk consumption on milk allergy in children and adults in Fez-Meknes region of Morocco. *Nutr. Food Sci.* 49, 639–653. <https://doi.org/10.1108/NFS-03-2018-0088>
- Azdad, O., Mejrhit, N., El Kabbou, M., Chda, A., Ouahidi, I., Tazi, A., Bencheikh, R., Aarab, L. (2018). Effect of heating and enzymatic hydrolysis on casein cow milk sensitivity in Moroccan population. *Food Agric. Immunol*, 29, 424–433. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1391179>
- Azzi, K. H., Maniar, S., Imane, Z., Gharbi, M. H., Chraïbi, A., & Balafrej, A. (2011). Association diabète de type 1 et maladie coeliaque. A propos de 22 cas marocains. *Médecine du Maghreb*, 184, 28-32. DOI: [10.11604/pamj.2016.24.103.8555](https://doi.org/10.11604/pamj.2016.24.103.8555).

- Bagolin do Nascimento, A., Medeiros Rataichesk Fiates, G., dos Anjos, A., et al. (2014). Availability, cost and nutritional composition of gluten-free products. *Br Food J*, 116(12), 1842-52.  
DOI: <https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2013-0131>
- Bakouh Mehdi. (2013). La maladie coéliquie chez l'enfant (à propos de 126 cas colligés à l'hôpital provincial de Tétouan). Thèse 10/13.
- Bao, F., & Bhagat, G. (2012). Histopathology of celiac disease. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics*, 22(4), 679-694. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.giec.2012.07.001>
- Barada, K., Bitar, A., Mokadem, M. A. R., Hashash, J. G., & Green, P. (2010). Celiac disease in Middle Eastern and North African countries: a new burden?. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(12), 1449. DOI: [10.3748/wjg.v16.i12.1449](https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i12.1449)
- Barak, S., Mudgil, D., & Khatkar, B. S. (2014). Biochemical and Functional Properties of Wheat Gliadins: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 357–368. DOI: [10.1080/10408398.2012.654863](https://doi.org/10.1080/10408398.2012.654863).
- Barera, G., Mora, S., Brambilla, P., Ricotti, A., Menni, L., Beccio, S., et al. (2000). Body composition in children with celiac disease and the effects of a gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J Clin Nutr*, 72(1), 71-5. Doi: [10.1093/ajcn/72.1.71](https://doi.org/10.1093/ajcn/72.1.71)
- Barone, M., Della Valle, N., Rosania, R., Facciorusso, A., Trotta, A., Cantatore, F. P., & Francavilla, R. (2015). A comparison of the nutritional status between adult celiac patients on a long-term, strictly gluten-free diet and healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 70(1), 23–27. DOI: [10.1038/ejcn.2015.114](https://doi.org/10.1038/ejcn.2015.114)
- Barrio, J., Cilleruelo, M. L., Román, E., & Fernández, C. (2018). Health-related quality of life in Spanish coeliac children using the generic KIDSCREEN-52 questionnaire. *European Journal of Pediatrics*, 177(10), 1515-1522. DOI: [10.1007/s00431-018-3204-0](https://doi.org/10.1007/s00431-018-3204-0).
- Barrio, J., Román, E., Cilleruelo, M., Márquez, M., Mearin, M., & Fernández, C. (2016). Health-related quality of life in Spanish children with coeliac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 62(4), 603-608. DOI: [10.1097/MPG.0000000000000963](https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000963)
- Barzegar, F., Pourhoseingholi, M. A., Rostami-Nejad, M., Gholizadeh, S., Malekpour, M. R., Sadeghi, A., & Asadzadeh-Aghdaei, H. (2018). Transcultural Adaptation and Validation of Persian Version of Celiac Disease Questionnaire (CDQ); A Specific Questionnaire to Measure Quality of Life of Iranian Patients. *Galen Medical Journal*, 7, 1106. DOI: [10.22086/gmj.v0i0.1106](https://doi.org/10.22086/gmj.v0i0.1106)
- Bas, M., Temel, M. A., Ersun, A. S., & Kivanç, G. (2005). Prerequisite Programs and Food Hygiene in Hospitals : Food Safety Knowledge and Practices of Food Service Staff in Ankara, Turkey. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 26(4), 420-424. <https://doi.org/10.1086/502562>
- Bascuñán, K. A., Vespa, M. C., & Araya, M. (2016). Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *European Journal of Nutrition*, 56(2), 449–459. DOI: [10.1007/s00394-016-1238-5](https://doi.org/10.1007/s00394-016-1238-5)
- Battisti, C., Chambeffort, A., Digaud, O., Duplessis, B., Perrin, C., Volatier, J.-L., Gauvreau-Béziat, J., Menard, C., 2017. Allergens labeling on French processed foods - an Oqali study. *Food Sci. Nutr*, 5, 881–888. DOI : <https://doi.org/10.1002/fsn3.471>
- Bayrou O. (2001). La maladie coéliquie In : Le vademecum du diagnostic. MMI éditions, Paris, 1261.

- Beaudouin, E., Renaudin, J. M., Codreanu, F., Kanny, G., & Moneret-Vautrin, D. A. (2007). Allergie à la farine de blé chez l'adulte. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 47(3), 175-179.  
DOI: [org/10.1016/j.allerg.2007.01.018](https://doi.org/10.1016/j.allerg.2007.01.018)
- Belahsen, R. (2014). Nutrition transition and food sustainability. *Proc Nutr Soc*, 73, 385–388.  
<https://doi.org/10.1017/S0029665114000135>
- Belomaria, M., Ahami, A.O.T., Aboussaleh, Y., Elboughali, B., Cherrah, Y., Soulaymani, A. (2007). Environmental origin of collective food poisoning in Morocco: the case of the Gharb Chrarda Bni Hssen region. *Antropo*, 14, 83-88.
- Benjelloun, S. (2002). Nutrition transition in Morocco. *Public Health Nutr*, 5(1a), 135-40.  
Doi: [10.1079/PHN2001285](https://doi.org/10.1079/PHN2001285).
- Biagetti, C., Gesuita, R., Gatti, S., & Catassi, C. (2015). Quality of life in children with celiac disease: A paediatric cross-sectional study. *Digestive and Liver Disease*, 47(11), 927-932. DOI:[10.1016/j.dld.2015.07.009](https://doi.org/10.1016/j.dld.2015.07.009)
- Bianchi, D. M., Maurella, C., Gallina, S., Gorrasi, I. S. R., Caramelli, M., & Decastelli, L. (2018). Analysis of gluten content in gluten-free pizza from certified take-away pizza restaurants. *Foods*, 7(11), 180.
- Biesiekierski, J. R. (2017). What is gluten?. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 32, 78-81.
- Biswas, S., & Rolain, J. M. (2013). Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *Journal of microbiological methods*, 92(1), 14-24. DOI:[10.1016/j.mimet.2012.10.014](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.10.014)
- Bouhali, B. E., Belamalem, S., Bidi, A., Nekkhal, N., Nasri, I., Mokhtari, A., & Eddouks, M. (2014). Les intoxications alimentaires isolées dans la Province d'Errachidia, Maroc [Isolated food poisoning in Morocco in Errachidia Province]. 8(2), 8.
- Boukezoula, F., Zidoune, M-N-E. (2014). Observance du régime sans gluten et ses conséquences sur l'état nutritionnel et la santé chez 100 malades cœliaques à Tébessa, Algérie. *Médecine Mal Métaboliques*, 8(4), 440-4. Doi : [10.1016/S1957-2557\(14\)70850-8](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(14)70850-8).
- Bou-Mitri, C., Mahmoud, D., El Gerges, N., & Jaoude, M. A. (2018). Food safety knowledge, attitudes and practices of food handlers in lebanese hospitals : A cross-sectional study. *Food Control*, 94, 78-84.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.06.032>
- Bourhanbour, A. D., Ouadghiri, S., Benseffaj, N., & Essakalli, M. (2016). Dépistage sérologique de la maladie coeliaque chez des patients marocains atteints de diabète type 1. *Pan African Medical Journal*, 24(1).  
DOI : [10.11604/pamj.2016.24.103.8555](https://doi.org/10.11604/pamj.2016.24.103.8555)
- Brambilla, P., Picca, M., Dilillo, D., Meneghin, F., Cravidi, C., Tischer, M. C., Zuccotti, G. V. (2013). Changes of body mass index in celiac children on a gluten-free diet. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 23(3), 177-82.  
Doi: [10.1016/j.numecd.2011.10.002](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.10.002).
- Brietzke, E., Cerqueira, R. O., Mansur, R. B., & McIntyre, R. S. (2018). Gluten related illnesses and severe mental disorders: a comprehensive review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 84, 368-375.  
DOI:[10.1016/j.neubiorev.2017.08.009](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.08.009)
- Bruna Mattioni Patricia, M., Scheuer Andre, L., Antunes Niraldo, Paulino., & Alicia, de Francisco. (2016). Compliance with Gluten-Free Labelling Regulation in the Brazilian Food Industry. *Cereals chemistry*, 93(5), 518-522. DOI: <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-15-0158-R>
- Bourrillon A. (2005). Collection pour le praticien. Pédiatrie. 3ème édition, Masson,Paris, 618 p.



- Brouns, F., van Rooy, G., Shewry, P., Rustgi, S., & Jonkers, D. (2019). Adverse reactions to wheat or wheat components. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1437-1452.  
DOI: [org/10.1111/1541-4337.12475](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12475)
- Buccheri, C., Casuccio, A., Giammanco, S., Giammanco, M., La Guardia, M., & Mammina, C. (2007). Food safety in hospital: knowledge, attitudes and practices of nursing staff of two hospitals in Sicily, Italy. *BMC health services research*, 7(1), 45.
- Bullinger, M., Alonso, J., Apolone, G., Lepège, A., Sullivan, M., Wood-Dauphinee, S., Gandek, B., Wagner, A., Aaronson, N., Bech, P., Fukuhara, S., Kaasa, S., & Ware, J.E. (1998). Translating Health Status Questionnaires and Evaluating Their Quality. *J Clin Epidemiol*, 51, 913-923. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0895-4356\(98\)00082-1](https://doi.org/10.1016/S0895-4356(98)00082-1)
- Burden, M., Mooney, P. D., Blanshard, R. J., White, W. L., Cambray-Deakin, D. R., & Sanders, D. S. (2015). Cost and availability of gluten-free food in the UK: in store and online. *Postgraduate medical journal*, 91(1081), 622-626. DOI : [org/10.1136/postgradmedj-2015-133395](https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133395)
- Bustamante, M. Á., Fernández-Gil, M. P., Churruga, I., Miranda, J., Lasa, A., Navarro, V., & Simón, E. (2017). Evolution of gluten content in cereal-based gluten-free products: An overview from 1998 to 2016. *Nutrients*, 9(1), 21. DOI: [org/10.3390/nu9010021](https://doi.org/10.3390/nu9010021)
- Buzby, M. (2010). Celiac Disease: The Endocrine Connection. *Journal of Pediatric Nursing*, 25(4), 311-313. Doi:[10.1016/j.pedn.2010.04.011](https://doi.org/10.1016/j.pedn.2010.04.011)
- Byrd-Bredbenner, C., Wheatley, V., Schaffner, D., Bruhn, C., Blalock, L., & Maurer, J. (2007). Development and implementation of a food safety knowledge instrument. *Journal of food science education*, 6(3), 46-55.  
DOI: [10.1111/j.1541-4329.2007.00029.x](https://doi.org/10.1111/j.1541-4329.2007.00029.x)
- Cabanillas, B. (2019). Gluten-related disorders: Celiac disease, wheat allergy, and nonceliac gluten sensitivity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16.  
DOI: [org/10.1080/10408398.2019.1651689](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651689)
- Caio, G., Volta, U., Sapone, A., Leffler, D. A., De Giorgio, R., Catassi, C., & Fasano, A. (2019). Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC medicine*, 17(1), 1-20.  
DOI: [org/10.1186/s12916-019-1380-z](https://doi.org/10.1186/s12916-019-1380-z)
- Campagna, G., Pesce, M., Tatangelo, R., Rizzuto, A., La Fratta, I., & Grilli, A. (2017). The progression of coeliac disease: its neurological and psychiatric implications. *Nutrition research reviews*, 30(1), 25-35.  
DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422416000214>
- Capacci, S., Leucci, A. C., & Mazzocchi, M. (2018). There is no such thing as a (gluten-) free lunch: Higher food prices and the cost for coeliac consumers. *Economics & Human Biology*, 30, 84-91.  
DOI: [org/10.1016/j.ehb.2018.06.001](https://doi.org/10.1016/j.ehb.2018.06.001)
- Capriati, T., Francavilla, R., Ferretti, F., Castellaneta, S., Ancinelli, M., & Diamanti, A. (2016). The overweight: a rare presentation of celiac disease. *Eur J Clin Nutr*, 70(2), 282-4.  
Doi: [10.1038/ejcn.2015.169](https://doi.org/10.1038/ejcn.2015.169)
- Capriles, V. D., & Arêas, J. A. G. (2014). Novel approaches in gluten-free breadmaking: interface between food science, nutrition, and health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 871-890.  
DOI: [org/10.1111/1541-4337.12091](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12091)

- Caproni, M., Antiga, E., Melani, L., & Fabbri, P. (2009). Guidelines for the diagnosis and treatment of dermatitis herpetiformis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 23(6), 633–638. DOI:10.1111/j.1468-3083.2009.03188.x
- Carla, Johana Guirín., Ivana, Valeria Olivero. and Silvia, Adriana Huarte. (2015), " Disponibilidad y costo de la canasta básica de alimentos libres de gluten en los supermercados de la provincia de San Luis, Argentina.2014", *Rev Esp Nutr Comunitaria*, Vol. 21, No.4, pp. 17–23.
- Casellas, F., Rodrigo, L., Molina-Infante, J., Vivas, S., Lucendo, A. J., Rosinach, M., ... & López-Vivancos, J. (2013). Transcultural adaptation and validation of the Celiac Disease Quality of Life (CD-QOL) Survey, a specific questionnaire to measure quality of life in patients with celiac disease. *Rev Esp Enferm Dig*, 105(10), 585-93. DOI: 10.4321/s1130-01082013001000003.
- Catassi, C., Gatti, S., & Lionetti, E. (2015). World Perspective and Celiac Disease Epidemiology. *Dig Dis*, 2015, 33(2), 141-6. Doi: 10.1159/000369518.
- Catassi, C., Fabiani, E., Iacono, G., D'Agate, C., Francavilla, R., Biagi, F., ... & Pianelli, G. (2007). A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *The American journal of clinical nutrition*, 85(1), 160-166. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.1.160>
- Catassi, C., Rossini, M., Rättsch, I. M., Bearzi, I., Santinelli, A., Castagnani, R., & Giorgi, P. L. (1993). Dose dependent effects of protracted ingestion of small amounts of gliadin in coeliac disease children: a clinical and jejunal morphometric study. *Gut*, 34(11), 1515-1519. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/gut.34.11.1515>
- Castillo, C., & Rivas, C. (2008). Costo de una canasta básica de alimentos para celíacos en Chile. *Revista médica de Chile*, 136(5), 613-619. DOI: [org/10.4067/S0034-98872008000500010](http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872008000500010)
- Cawthorn, D.M., Steinman, H.A., & Witthuhn, R.C. (2010). Wheat and gluten in South African food products. *Food Agric Immunol*, 21, 91–102. <https://doi.org/10.1080/09540100903443725>
- Celiac Disease Foundation. (2018). Policies Around the World. Available at: <https://celiac.org/gluten-free-living/global-associations-and-policies/policies-around-the-world/> (accessed January 2020).
- Centers for Disease Control and Prevention. Measuring healthy days: Population assessment of health-related quality of life. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia 2000.
- Central Bank of Morocco. (2019). Exchange rates. available at: <http://www.bkam.ma/Marches/Principaux-indicateurs/Marche-des-changes/Cours-de-change/Cours-de-reference?date=16%2F05%2F2019&block=cc51b5ce6878a3dc655dae26c47fddf8#address-5312b6def4ad0a94c5a992522868ac0a-cc51b5ce6878a3dc655dae26c47fddf8/> (accessed May 2020)
- Charbonnier, L., Jos, J., Mougnot, J. F., Mossé, J., Demarteau, C., Sallantin, M., & Huet, J. C. (1980). Toxicité comparée de différentes céréales pour les sujets intolérants au gluten. *Reproduction Nutrition Développement*, 20(4B), 1369-1377.
- Chen, Y., Fritz, R. D., Kock, L., Garg, D., Davis, R. M., & Kasturi, P. (2018). A stepwise, 'test-all-positives' methodology to assess gluten-kernel contamination at the serving-size level in gluten-free (GF) oat production. *Food chemistry*, 240, 391-395.
- Chen, H., Martínez, V., & Feng, Y. (2020). Food safety education attitude and practice among health professionals in China, Peru, and the US. *Food Control*, 109, 106945. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106945

- Cherkaoui Dekkaki, I., Mouane, N., Ettair, S., Meskini, T., Bouklouze, A., & Barkat, A. (2011). Prevalence of Obesity and Overweight in Children: A Study in Government Primary Schools in Rabat, Morocco. *Archives of Medical Research*, 42(8), 703–708. DOI:10.1016/j.arcmed.2011.12.004.
- Chu, P. T., Lin, C. S., Chen, W. J., Chen, C. F., & Wen, H. W. (2012). Detection of gliadin in foods using a quartz crystal microbalance biosensor that incorporates gold nanoparticles. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(26), 6483-6492. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf2047866>
- Chu, P. T., & Wen, H. W. (2013). Sensitive detection and quantification of gliadin contamination in gluten-free food with immunomagnetic beads based liposomal fluorescence immunoassay. *Analytica Chimica Acta*, 787, 246-253. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.05.014>
- Ciacci, C., Cirillo, M., Cavallaro, R., & Mazzacca, G. (2002). Long-Term Follow-Up of Celiac Adults on Gluten-Free Diet: Prevalence and Correlates of Intestinal Damage. *Digestion*, 66(3), 178–185. DOI: 10.1159/000066757
- Ciaccio, E. J., Lewis, S. K., Biviano, A. B., Iyer, V., Garan, H., & Green, P. H. (2017). Cardiovascular involvement in celiac disease. *World Journal of Cardiology*, 9(8), 652. DOI:10.4330/wjc.v9.i8.652
- Clemens, R., & Van Klinken, B. J.-W. (2014). Oats, more than just a whole grain: An introduction. *British Journal of Nutrition*, 112, S1–S3. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114514002712>
- Codex Alimentarius Commission. (2006). Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Food Standards Program. Report of the Twenty-Seventh Session of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling. ALINORM 06/29/23.
- Codex Alimentarius Commission. Codex Standard 118-1979 (rev. 2008), Foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. In Codex Alimentarium; FAO: Rome, Italy; WHO: Geneva, Switzerland, 2008; pp. 1–3.
- Codex alimentarius. (2001). Codex General Standard For the Labeling of Prepackaged Foods. Retrieved 10 January, 2017, from <http://www.fao.org/docrep/005/Y2770E/y2770e02.htm#bm02>.
- Codex Alimentarius Commission. Codex Standard 234-1999 (amended 2011), Recommended methods of analysis and sampling. Gluten-free foods: Enzyme-linked immunoassay R5 Mendez (ELISA) method. In Codex Alimentarius; FAO: Rome, Italy; WHO: Geneva, Switzerland, 2019; pp. 1–80.
- Codex Alimentarius. (2015). Codex Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten, CODEX STAN 118-1979. (revised 2008, amendment 2015). Accessed 2020 Oct. [http://www.fao.org/input/download/standards/291/CXS\\_118e\\_2015.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/291/CXS_118e_2015.pdf).
- Coeliac society of Ireland. (2019). Get Financial Support, available at: <https://www.coeliac.ie/live-gluten-free/financial-support/> (accessed January 2019)
- Coeliac UK. (2019). gluten-free-diet-and-lifestyle/prescriptions, available at: <https://www.coeliac.org.uk/gluten-free-diet-and-lifestyle/prescriptions/> (accessed January 2019).
- Collin, P., Thorell, L., Kaukinen, K., & Maki, M. (2004). The safe threshold for gluten contamination in gluten-free products. Can trace amounts be accepted in the treatment of coeliac disease? *Aliment Pharmacol Ther*, 19, 1277–1283. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2004.01961.x>
- Comino Montilla, I. M., Lorenzo Barrios, L. D., Cornell, H., López Casado, M. Á., Barro, F., & Sousa Martín, C. (2011). Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease. *Gut*, 60 (7), 915-922. DOI: 10.1136/gut.2010.225268

- Cornicelli, M., Saba, M., Machello, N., et al. (2018). Nutritional composition of gluten-free food versus regular food sold in the Italian market. *Dig Liver Dis*, 50(12), 1305-1308.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.04.028>
- Crespo Escobar, P., Calvo Lerma, J., Hervás Marín, D., Donat Aliaga, E., Masip Simó, E., Polo Miquel, B., & Ribes Koninckx, C. (2015). Desarrollo y validación de dos cuestionarios de frecuencia de consumo para evaluar la ingesta de gluten en niños hasta los 3 años. *Nutrición Hospitalaria*, 32(5), 2080-2090.  
<https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.5.9655>
- Crocker, H., Jenkinson, C., & Peters, M. (2018). Quality of life in coeliac disease: item reduction, scale development and psychometric evaluation of the Coeliac Disease Assessment Questionnaire (CDAQ). *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 48(8), 852-862.  
DOI : <https://doi.org/10.1111/apt.14942>
- Guirín, C. J., Olivero, I. V., & Huarte, S. A. (2015). Disponibilidad y costo de la canasta básica de alimentos libres de gluten en los supermercados de la provincia de San Luis, Argentina. 2014. *Rev Esp Nutr Comunitaria*, 21(4), 17-23. DOI:10.14642/RENC.2015.21.4.5118
- Cúneo, F., & Ortega, Jg. (2012). Disponibilidad, costo y valor nutricional de los alimentos libres de gluten en comercios de la ciudad de Santa Fe. *FABICIB*, 16, 167-178.
- Cureton, P., & Fasano, A. (2009). The increasing incidence of celiac disease and the range of gluten-free products in the marketplace. *Gluten-free food science and technology*, 1-15.
- Czaja-Bulsa, G., & Bulsa, M. (2018). Adherence to Gluten-Free Diet in Children with Celiac Disease. *Nutrients*, 10(10), 1424. DOI: 10.3390/nu10101424.
- Czaja-Bulsa, G., Garanty-Bogacka, B., Syrenicz, M., & Gebala A. (2001). Obesity in an 18-year-old boy with untreated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 32(2), 226.
- Dahinden, I., von Büren, M., & Lüthy, J. (2001). A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *European Food Research and Technology*, 212(2), 228-233. DOI: 10.1007/s002170000252
- Daniewski, W., Wojtasik, A., & Kunachowicz, H. (2010). Gluten content in special dietary use gluten-free products and other food products. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 61, 51-55.
- Décret n°2-12-389 du 11 jourmada II 1434 (22 avril 2013) fixant les conditions et les modalités d'étiquetage des produits alimentaires.
- Deepak, C., Berry, N., Vaiphei, K., Dhaka, N., Sinha, S. K., & Kochhar, R. (2018). Quality of life in celiac disease and the effect of gluten-free diet. *JGH open: an open access journal of gastroenterology and hepatology*, 2(4), 124. DOI: 10.1002/jgh3.12056
- de la Concha, E. G., Fernández-Arquero, M., Vigil, P., Rubio, A., Maluenda, C., Polanco, I., ... & Figueredo, M. A. (2000). Celiac disease and TNF promoter polymorphisms. *Human Immunology*, 61(5), 513-517.  
DOI: [org/10.1016/S0198-8859\(99\)00187-1](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(99)00187-1)
- da Silva Kotze, L. M., Rodrigues, A. P. B., Kotze, L. R., & Nisihara, R. M. (2009). A Brazilian experience of the self transglutaminase-based test for celiac disease case finding and diet monitoring. *World journal of gastroenterology*, 15(35), 4423.
- Delpuech, B. M. F. (2004). La transition nutritionnelle, l'alimentation et les villes dans les pays en développement. *Cahiers Agricultures*, 13(1), 23-30.

- De Onis, M., Blössner, M., & Borghi, E. (2010). Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. *Am J Clin Nutr*, 92(5), 1257-64. [Doi: 10.3945/ajcn.2010.29786](https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29786).
- Department of the Treasury Internal Revenue Service of USA. (2019). Publication 502- Medical and Dental Expenses, available at: <https://www.irs.gov/pub/irs-pdf/p502.pdf> (accessed January 2019).
- Dewey-Mattia, D., Kisselburgh, H., Manikonda, K., Silver, R., Subramhanya, S., Sundararaman, P., Whitham, H., & Crowe, S. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2017 Annual Report. 15.
- Diamanti, A., Capriati, T., Basso, M., Panetta, F., Di Ciommo Laurora, V., Bellucci, F., et al. (2014). Celiac Disease and Overweight in Children: An Update. *Nutrients*, 6(1), 207-20. [Doi: 10.3390/nu6010207](https://doi.org/10.3390/nu6010207).
- Dicke, WK., Weijers, NA., van der Kamer, JH. (1953). Coeliac disease. The presence in wheat of a factor having a deliterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatrica*, 1953, 42, 34-42.
- Dieterich, W., Ehnis, T., Bauer, M., Donner, P., Volta, U., Riecken, E. O., & Schuppan, D. (1997). Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature Medicine*, 3(7), 797–801. [DOI: 10.1038/nm0797-797](https://doi.org/10.1038/nm0797-797)
- Di Sabatino, A., Vanoli, A., Giuffrida, P., Luinetti, O., Solcia, E., & Corazza, G. R. (2012). The function of tissue transglutaminase in celiac disease. *Autoimmunity Reviews*, 11(10), 746–753. [DOI: 10.1016/j.autrev.2012.01.007](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.01.007)
- Dominguez-Ortega, G., Borrelli, O., Meyer, R., Dziubak, R., De Koker, C., Godwin, H., & Fox, A. T. (2014). Extraintestinal manifestations in children with gastrointestinal food allergy. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 59(2), 210-214. [DOI: 10.1097/MPG.0000000000000391](https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000391)
- do Nascimento, AB., Fiates, GMR., dos Anjos, A., et al .(2013). Analysis of ingredient lists of commercially available gluten-free and gluten-containing food products using the text mining technique. *Int J Food Sci Nutr*, 64(2), 217-222. [DOI: https://doi.org/10.3109/09637486.2012.718744](https://doi.org/10.3109/09637486.2012.718744)
- do Nascimento, A. B., Fiates, G. M. R., dos Anjos, A., & Teixeira, E. (2014). Availability, cost and nutritional composition of gluten-free products. *British Food Journal*, 116(12), 1842-1852. [DOI: 10.1108/BFJ-05-2013-0131](https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2013-0131)
- Don, C., Halbmayr-Jech, E., Rogers, A., & Koehler, P. (2014). 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*, 59(4), 187-193.
- Dorn, S. D., Hernandez, L., Minaya, M. T., Morris, C. B., Hu, Y., Leserman, J., & Drossman, D. A. (2010). The development and validation of a new coeliac disease quality of life survey (CD-QOL). *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 31(6), 666-675. [DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04220.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04220.x)
- Dupuy, H. J. (1984). The psychological general well-being (PGWB) index. Assessment of quality of life in clinical trials of cardiovascular therapies, 170-183.
- Eckert, R. V., Berghofer, E., Ciclitira, P. J., Chirido, F., Denery-Papini, S., Ellis, H. J., ... & Mamone, G. (2006). Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation. *J. Cereal Sci.* 43, 331e341.
- EFSA. (2011). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA Journal*, 9, 2090.
- El Bouhali, B., Belamalem, S., Bidi, A., Nekkhal, N., Nasri, I., Mokhtari, A., ... & Eddouks, M. (2014). Les intoxications alimentaires isolées dans la Province d'Errachidia, Maroc [Isolated food poisoning in Morocco in Errachidia Province]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8(2), 697.

- El Emrani, L., Senhaji, M., & Bendriss, A. (2016). Mesure de la qualite de vie en relation avec la sante chez la population de Tetouan (Maroc) a l'aide du SF-36 : donnees normatives et influence du sexe et de l'age. *East. Mediterr. Health J*, 22, 133–141. DOI: <https://doi.org/10.26719/2016.22.2.133>
- El Fakiri, K., Bourahouate, A., Hadi, A., Sab, I. A., & Sbihi, M. (2016). La maladie coeliaque du nourrisson et de l'enfant au CHU de Marrakech. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 29(6), 289-294. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2016.08.004>
- El Haddou Yousfi Ghizlane. (2011). La Maladie cœliaque chez l'enfant expérience du Service de pédiatrie CHU Hassan II Fes (A propos de 338 cas) thesis.
- Elfström, P., Sundström, J., & Ludvigsson, J. F. (2014). Systematic review with meta-analysis: associations between coeliac disease and type 1 diabetes. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 40(10), 1123-1132. DOI : <https://doi.org/10.1111/apt.12973>.
- El Kabbou, M., Chda, A., Bousfiha, A., Aarab, L., Bencheikh, R., & Tazi, A. (2018). Prevalence of risk factors for overweight and obesity among adolescents in Morocco. *East Mediterr Health J*, 24(6), 512–521. Doi: [10.26719/2018.24.6.512](https://doi.org/10.26719/2018.24.6.512).
- El Khoury, D., Balfour-Ducharme, S., & Joye, I. J. (2018). A Review on the Gluten-Free Diet: Technological and Nutritional Challenges. *Nutrients*, 10(10), 1410. DOI: [10.3390/nu10101410](https://doi.org/10.3390/nu10101410)
- El-Metwally, A., Toivola, P., AlAhmary, K., Bahkali, S., AlKhathaami, A., AlSaqabi, M. K., ... & Alosaimi, S. M. (2020). The Epidemiology of Celiac Disease in the General Population and High-Risk Groups in Arab Countries: A Systematic Review. *BioMed Research International*, 2020. DOI: [10.1155/2020/6865917](https://doi.org/10.1155/2020/6865917)
- Elli, L., Bascuñán, K., Di Lernia, L., Bardella, M. T., Doneda, L., Soldati, L., ... & Scricciolo, A. (2020). Safety of occasional ingestion of gluten in patients with celiac disease: a real-life study. *BMC medicine*, 18(1), 1-8. DOI: [10.1186/s12916-020-1511-6](https://doi.org/10.1186/s12916-020-1511-6)
- Elli, L., Branchi, F., Tomba, C., Villalta, D., Norsa, L., Ferretti, F., & Bardella, M. T. (2015). Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. *World journal of gastroenterology: WJG*, 21(23), 7110. DOI: [10.3748/wjg.v21.i23.7110](https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i23.7110)
- Elli, L., Ferretti, F., Orlando, S., Vecchi, M., Monguzzi, E., Roncoroni, L., & Schuppan, D. (2019). Management of celiac disease in daily clinical practice. *European journal of internal medicine*, 61, 15-24. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.11.012>
- Elmadbouly, M. A., Ashshi, A. M., Hegazy, H. M. H., & Osfor, M. H. (2017). Effectiveness of Food Safety and Hygiene Training Program for Hospital Food Services Staff in Holly Makkah. 9.
- El Yaouti Siham. (2010). La maladie cœliaque chez l'enfant (A propos de 266 cas). Thèse Thèse N° 065/10.
- Estévez, V., Ayala, J., Vespa, C., & Araya, M. (2016). The gluten-free basic food basket: a problem of availability, cost and nutritional composition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 70(10), 1215-1217. DOI: [10.1038/ejcn.2016.139](https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.139)
- EUR-Lex. (2018). 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. [https://eurlex.europa.eu/eli/reg\\_impl/2014/828/oj](https://eurlex.europa.eu/eli/reg_impl/2014/828/oj). (Accessed 20 June 2020).
- European Commission. Commission Regulation (EC) No 41/2009. 2009. Official Journal of the European Union.

- European Commission, 2011. EC (European Commission). (2011). Regulation (EU) No 1169/2011 of The European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, Official Journal of the European Union L, 54(304), 18 - 63.
- European Union. (2014). Official Journal of the European Union, Commission implementing regulation (EU) No 828/2014. Available at :<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0828&from=EN>(accessed August 2020)
- Ewart, J. A. D. (1990). Comments on recent hypotheses for glutenin. *Food Chemistry*, 38(3), 159–169. DOI: [10.1016/0308-8146\(90\)90190-f](https://doi.org/10.1016/0308-8146(90)90190-f).
- Executive Decree. (2005). Executive Decree No. 05-484 of December 22, 2005 amending and supplementing Executive Decree No. 90-367 of November 10, 1990 relating to the labeling and presentation of foodstuffs.
- Falcomer, A. L., Santos Araújo, L., Farage, P., Santos Monteiro, J., Yoshio Nakano, E., & Puppim Zandonadi, R. (2020). Gluten contamination in food services and industry: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(3), 479-493. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1541864>
- FAO. (2011). Profil nutritionnel de pays royaume du Maroc. Division de la nutrition et de la protection des consommateurs, FAO, disponible sur : <http://www.fao.org/3/a-bc635f.pdf>(accessed August 2020).
- FAO. (2020). Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO 2019-2028 © OCDE/FAO 2019. Available at: [http://www.fao.org/3/CA4076FR/CA4076FR\\_chapitre3\\_Cereales.pdf](http://www.fao.org/3/CA4076FR/CA4076FR_chapitre3_Cereales.pdf)(accessed August 2020).
- Farage, P., de Medeiros Nóbrega, Y. K., Pratesi, R., Gandolfi, L., Assunção, P., & Zandonadi, R. P. (2017). Gluten contamination in gluten-free bakery products: A risk for coeliac disease patients. *Public health nutrition*, 20(3), 413-416. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1368980016002433>.
- Farage, P., Puppim Zandonadi, R., Cortez Ginani, V., Gandolfi, L., Pratesi, R., & de Medeiros Nóbrega, Y. K. (2017). Content validation and semantic evaluation of a check-list elaborated for the prevention of gluten cross-contamination in food services. *Nutrients*, 9(1), 36. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu9010036>
- Farage, P., R. Puppim Zandonadi, V. Cortez Ginani, L. Gandolfi, E. Yoshio Nakano, R. Pratesi, P. Farage. (2018). Gluten-Free diet: From development to assessment of a check-list designed for the prevention of gluten Cross-Contamination in food services. *Nutrients*, 10 (9),1274. DOI : <https://doi.org/10.3390/nu10091274>.
- Farage, P., Zandonadi, R. P., Gandolfi, L., Pratesi, R., Falcomer, A. L., Araújo, L. S., ... Ginani, V. C. (2019). Accidental Gluten Contamination in Traditional Lunch Meals from Food Services in Brasília, Brazil. *Nutrients*, 11(8), 1924. DOI: [10.3390/nu11081924](https://doi.org/10.3390/nu11081924).
- FDA . (2004). Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004.
- FDA Food Labeling. 21 CFR Part 101 [Docket No. FDA-2005-N-0404] RIN 0910-AG84. Federal Register 78. (150, Monday, August 5, 2013) 47154–47179. (2013). Available online at: <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2013-08-05/pdf/2013-18813.pdf> (accessed June 19, 2019).
- Federal Register of Legislation. (2020). Federal Register of Legislation. Australia and New Zealand Food Standards Code. Available online: <https://www.legislation.gov.au/Details/F2016C00189> (accessed on 25 October 2019).
- Federación de Asociaciones de Celiacos de España. (2018). Informe de precios sobre el incremento de la cesta de la compra de las personas celiacas, available at: <https://www.celiacos.org/images/pdf/informe-de-precios-2018.pdf>(accessed January 2019).

- Feillet, P. (2000). Le grain de blé : composition et utilisation. Editions Quae.
- Fernández-Bañares, F., Arau, B., Dieli-Crimi, R., Rosinach, M., Nuñez, C., & Esteve, M. (2017). Systematic Review and Meta-analysis Show 3% of Patients With Celiac Disease in Spain to be Negative for HLA-DQ2.5 and HLA-DQ8. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(4), 594–596. DOI:10.1016/j.cgh.2016.10.009
- Fernández, C. B., Varela-Moreiras, G., Úbeda, N., & Alonso-Aperte, E. (2019). Nutritional status in spanish children and adolescents with celiac disease on a gluten free diet compared to non-celiac disease controls. *Nutrients*, 11(10), 2329. DOI : <https://doi.org/10.3390/nu11102329>
- Fiedler, K. L., McGrath, S. C., Callahan, J. H., & Ross, M. M. (2014). Characterization of grain-specific peptide markers for the detection of gluten by mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(25), 5835-5844. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf500997j>
- Fierro, V., Di Girolamo, F., Marzano, V., Dahdah, L., Mennini, M., 2017. Food labeling issues in patients with severe food allergies: solving a hamlet-like doubt. *Curr Opin Allergy Clin. Immunol*, 17, 204–211. DOI: [10.1097/ACI.0000000000000362](https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000362)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019). Codex Alimentarius Commission, The Codex GSFA's food category, available at: <http://www.fao.org/gsfaonline/foods/index.html?collapse=all&lang=en/> (accessed March 2019 ).
- Food And Drugs Act. (2011). <http://www.gazette.gc.ca/rp-pr/p2/2011/2011-02-16/html/sor-dors 40>.
- Forbes, G. M., & Dods, K. (2016). Gluten content of imported gluten-free foods: national and international implications. *The Medical Journal of Australia*, 205(7), 316.
- Frcpc, K.M. (2014). Factors affecting adherence to a gluten-free diet in children with celiac disease 19, 5.
- Friedli, G. L., & Howell, N. (1996). Gelation properties of deamidated soluble wheat proteins. *Food hydrocolloids*, 10(2), 255-261. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(96\)80043-9](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(96)80043-9)
- Fry, L., Madden, A. M., & Fallaize, R. (2018). An investigation into the nutritional composition and cost of gluten-free versus regular food products in the UK. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 31(1), 108-120. DOI :<https://doi.org/10.1111/jhn.12502>
- Gabrovská D, Rysová J, Burkhard M, et al. (2004) Collaborative study of a new developed ELISA kit for gluten determination. *Mathematics*, Corpus ID: 110229583.
- Gallagher, E. (2008). Formulation and nutritional aspects of gluten-free cereal products and infant foods. In *Gluten-free cereal products and beverages* (pp. 321-346). Academic Press.
- Gallegos, C., & Merkel, R. (2019). Current Evidence in the Diagnosis and Treatment of Children With Celiac Disease. *Gastroenterology Nursing*, 42(1), 41–48. Doi:10.1097/sga.0000000000000365
- Galtier V. (2003), Proposition d'une échelle de mesure contextualisée de l'apprentissage d'équipe : Une analyse exploratoire, Cahier n°321, Université Paris IX Dauphine, Centre de recherche DMSP.
- Gandek, B., & Ware, J.E. (1998). Methods for Validating and Norming Translations of Health Status Questionnaires. *J Clin Epidemiol*, 51, 953–959. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0895-4356\(98\)00086-9](https://doi.org/10.1016/S0895-4356(98)00086-9)
- García, E., Llorente, M., Hernando, A., Kieffer, R., Wieser, H., & Méndez, E. (2005). Development of a general procedure for complete extraction of gliadins for heat processed and unheated foods. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 17(5), 529-539. DOI: [10.1097/00042737-200505000-00010](https://doi.org/10.1097/00042737-200505000-00010)



- Garnier-Lengliné, H., Cerf-Bensussan, N., & Ruemmele, F. M. (2015). Celiac disease in children. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 39(5), 544-551.
- Garrido-Maestu, A., Azinheiro, S., Fuciños, P., Carvalho, J., & Prado, M. (2018). Highly sensitive detection of gluten-containing cereals in food samples by real-time Loop-mediated isothermal AMPLification (qLAMP) and real-time polymerase chain reaction (qPCR). *Food Chemistry*, 246, 156–163. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.11.005
- Garsed, K., & Scott, B. B. (2007). Can oats be taken in a gluten-free diet? A systematic review. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 42(2), 171–178. DOI: 10.1080/00365520600863944
- Gasbarrini, G., Miele, L., Corazza, G. R., & Gasbarrini, A. (2010). When was celiac disease born?: the Italian case from the archeologic site of Cosa. *Journal of clinical gastroenterology*, 44(7), 502-503. DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181d345a5
- Gee, S. (1888). On the celiac affection. *St Bartholomews Hosp. Rep.*, 24,17-20.
- Gendel, S. M. (2012). Comparison of international food allergen labeling regulations. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63(2), 279-285. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.04.007>
- General Secretariat of the Moroccan government. (September 2019). Official Bulletin, Decree of Ministry of Agriculture and Maritime Fisheries. N°144.19.2. Available at: [http://www.sgg.gov.ma/Portals/1/BO/2019/BO\\_6810\\_Ar.pdf?ver=2019-09-13-143002-790&fbclid=IwAR102Zd0IeuCvd7OyWjTQc0QIXnsV2L-x0mvZa80toLi2uhpuPeJ6PI7iY\\_](http://www.sgg.gov.ma/Portals/1/BO/2019/BO_6810_Ar.pdf?ver=2019-09-13-143002-790&fbclid=IwAR102Zd0IeuCvd7OyWjTQc0QIXnsV2L-x0mvZa80toLi2uhpuPeJ6PI7iY_) (Accessed October 2020)
- General Secretariat of Moroccan Government. (August 2019). « Official Bulletin, Decree of Ministry of Agriculture and Maritime Fisheries. N° 2318/09”, Available at: <http://www.fnm.org.ma/content/pdf/arret%C3%A9%20n%202318-09%20du%2028-08-09.pdf> (accessed October 2020 ).
- Gélinas, P., McKinnon, C. M., Mena, M. C., & Méndez, E. (2008). Gluten contamination of cereal foods in Canada. *International journal of food science & technology*, 43(7), 1245-1252.
- Gessendorfer, B., Koehler, P., & Wieser, H. (2009). Preparation and characterization of enzymatically hydrolyzed prolamins from wheat, rye, and barley as references for the immunochemical quantitation of partially hydrolyzed gluten. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 395(6), 1721. DOI:10.1007/s00216-009-3080-6
- Ghadi, A., Dutau, G., Rancé, F., 2007. Étude des sensibilisations chez l'enfant atopique à Marrakech. Étude prospective chez 160 enfants entre 2002 et 2005. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.* 47, 409–415. <https://doi.org/10.1016/j.allerg.2007.03.006>
- Gibert, A., Espadaler, M., Canela, M. A., Sanchez, A., Vaque, C., & Rafecas, M. (2006). Consumption of gluten-free products: should the threshold value for trace amounts of gluten be at 20, 100 or 200 ppm?. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 18(11), 1187-1195. DOI: 10.1097/01.meg.0000236884.21343.e4
- Gibert, A., Kruizinga, A.G., Neuhold, S. et al. (2013). Might gluten traces in wheat substitutes pose a risk in patients with celiac disease? A population-based probabilistic approach to risk estimation. *Am J Clin Nutr*, 97, 109–116. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.047985>

- Godat, S., Velin, D., Aubert, V., Nydegger, A., Schoepfer, A. M., & Maillard, M. H. (2013). Maladie coeliaque: état des lieux. *Rev Med Suisse*, 9, 1584-9.
- Godoy, R. F. D., Soares Júnior, M. S., Silva, R. G., Benassi, M. D. T., & Garcia, M. C. (2015). Quinoa and rice co-products gluten free-cereals: physical, chemical, microbiological and sensory qualities. *Journal of Food and Nutrition Research*, Newark, 3(9), 599-606.
- Gong, S., Wang, X., Yang, Y., & Bai, L. (2016). Knowledge of food safety and handling in households : A survey of food handlers in Mainland China. *Food Control*, 64, 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.12.006>
- Gonzalez-Galarza, F. F., Christmas, S., Middleton, D., & Jones, A. R. (2010). Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. *Nucleic acids research*, 39(suppl\_1), D913-D919.
- Gould, L. H., Walsh, K. A., Vieira, A. R., Herman, K., Williams, I. T., Hall, A. J., & Cole, D. (2013). Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 1998–2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries*, 62(2), 1-34. DOI:10.1016/j.coi.2011.08.006
- Grabowicz, A., & Czaja-Bulsa, G. (2019). Misleading labelling of gluten-free products in the light of EU regulations: time for a change? *J Consum Prot Food Saf*, 14, 93–95. <https://doi.org/10.1007/s00003-019-01208-6>
- Grand View Research, Inc. [US]. (May, 2017). *Gluten-Free Products Market Analysis By Product (Bakery, Dairy Alternatives, Desserts & Ice-Creams, Prepared Foods, Pasta & Rice), By Distribution (Grocery Stores, Mass Merchandiser, Club Stores), And Segment Forecasts, 2018 – 2025*. available at: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/gluten-free-products-market> (accessed October 2020)
- Grawitz, M. (1993). *Méthodes des sciences sociales, 9e édition [Social science methods, 9th edition]*. Paris: Dalloz.
- Greco, L., Gobbetti, M., Auricchio, R., Di Mase, R., Landolfo, F., Paparo, F., & Terrone, G. (2011). Safety for patients with celiac disease of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9(1), 24-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.09.025>
- Greco, L., Romino, R., Coto, I., Di Cosmo, N., Percopo, S., Maglio, M., ... & D'Agate, C. (2002). The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut*, 50(5), 624-628. DOI : 10.1136/gut.50.5.624
- Green, P. H., Lebowitz, B., & Greywoode, R. (2015). Celiac disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135(5), 1099-1106. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.044>
- Green, P H R., Rostami, K., & Marsh, M N. (2005). Diagnosis of coeliac disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 19(3), 389–400. DOI: <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.6.9733>
- Griffiths, H. (2008). *Coeliac disease: Nursing care and management (Vol. 23)*. John Wiley & Sons.
- Group, W. H. O. Q. O. L. (1994). Development of the WHOQOL: Rationale and current status. *International Journal of Mental Health*, 23(3), 24-56. DOI: 10.1080/00207411.1994.11449286
- Guandalini, S., & Assiri, A. (2014). Celiac Disease: A Review. *JAMA Pediatr*, 168(3), 272-278. Doi: 10.1001/jamapediatrics.2013.3858.
- Guandalini, S., Dhawan, A., & Branski, D. (2016). *Textbook of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. A Comprehensive Guide to practice*, 2015939902.

- Guennouni, M., Elkhoudri, N., Bourrhout, A., & Hilali, A. (2020a). Assessment of quality of life in children, adolescents, and adults with celiac disease through specific questionnaires: Review. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 34(3) : 194-200 [Doi:10.1016/j.nupar.2020.03.006](https://doi.org/10.1016/j.nupar.2020.03.006)
- Guennouni, M., El Khoudri, N., Bourrouhouate, A., & Hilali, A. (2020b). Availability and cost of gluten-free products in Moroccan supermarkets and e-commerce platforms. *British Food Journal*. <https://doi.org/10.1108/BFJ-06-2019-0411>
- Guennouni, M., El Khoudri, N., Bourrhout, A., & Hilali, A. (2020c). Nutritional quality of gluten-free products in Moroccan supermarkets and e-commerce platforms. *Cereal Chemistry*, 97(5), 912-920. <https://doi.org/10.1002/cche.10313>
- Guidance on gluten-free labelling based on standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten codex stan 118-1979. INTERNATIONAL SPECIAL DIETARY FOODS INDUSTRIES (ISDI). Medical & adult dietetic nutrition. Available at: <https://www.isdi.org/wp-content/uploads/2018/12/ISDI-Gluten-Free-07-final.pdf>
- Gupta, R.S., Warren, C.M., Smith, B.M., Jiang, J., Blumenstock, J.A., Davis, M.M., Schleimer, R.P., Nadeau, K.C., 2019. Prevalence and Severity of Food Allergies Among US Adults. *JAMA Netw. Open* 2, e185630. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.5630>
- Hadjivassiliou, M., Sanders, D. D., & Aeschlimann, D. P. (2015). Gluten-Related Disorders: Gluten Ataxia. *Digestive Diseases*, 33(2), 264–268. DOI: 10.1159/000369509.
- Hall, N. J., Rubin, G., & Charnock, A. (2009). Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 30(4), 315-330. DOI:10.1111/j.1365-2036.2009.04053.x
- Halmos, E.P., Di Bella, C.A., Webster, R. et al. (2018). Gluten in “gluten-free” food from food outlets in Melbourne: a cross-sectional study. *Med J Aust*, 209, 42–43. <https://doi.org/10.5694/mja17.00883>
- Halmos E P, Clarke D, Pizzey C et al. (2018) Gluten in “gluten-free” manufactured foods in Australia: a cross-sectional study. *Med J* 209, 448–449. <https://doi.org/10.5694/mja18.00457>.
- Hamdaoui Ayoub. (2019). Maladie cœliaque de l'adulte : expérience du service d'hépatogastro-entérologie du chu Hassan II de Fès (à propos de 77 cas) Thèse N° 090/19.
- Hammer & Elisabeth. Gluten-Free: How can you Prove it? *Food Quality Magazine*. (2012). Available at: <http://www.foodsafetymagazine.com/signature-series/gluten-free-how-can-you-prove-it/>(accessed June 19, 2019).
- Haraszi, R., Chassaigne, H., Maquet, A., & Ulberth, F. (2011). Analytical methods for detection of gluten in food—method developments in support of food labeling legislation. *Journal of AOAC International*, 94(4), 1006-1025. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/94.4.1006>.
- Hardy, A. (1995). Beriberi, vitamin B1 and world food policy, 1925–1970. *Medical history*, 39(1), 61-77. <https://doi.org/10.1017/S0025727300059482>
- Hassan, H. F., Dimassi, H., & Karam, Z. N. (2018). Self-reported food safety knowledge and practices of Lebanese food handlers in Lebanese households. *British Food Journal* , 120(3):00-00. DOI: 10.1108/BFJ-04-2017-0239
- Hassan, H. F., & Dimassi, H. (2014). Food safety and handling knowledge and practices of Lebanese university students. *Food control*, 40, 127-133.

- Hassan, H., Elaridi, J., & Bassil, M. (2017). Evaluation of gluten in gluten-free-labeled foods and assessment of exposure level to gluten among celiac patients in Lebanon. *Int J Food Sci Nutr*, 68, 881–886. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1303461>
- Häuser, W., Gold, J., Stallmach, A., Caspary, W. F., & Stein, J. (2007). Development and validation of the Celiac Disease Questionnaire (CDQ), a disease-specific health-related quality of life measure for adult patients with celiac disease. *Journal of clinical gastroenterology*, 41(2), 157-166. DOI: 10.1097/01.mcg.0000225516.05666.4°
- Hays, R. D., Sherbourne, C. D., & Mazel, R. M. (1993). The rand 36-item health survey 1.0. *Health economics*, 2(3), 217-227. DOI:10.1002/hec.4730020305.
- Her, E., Seo, S., Choi, J., Pool, V., & Ilic, S. (2019). Assessment of food safety at university food courts using surveys, observations, and microbial testing. *Food Control*, 103, 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.002>
- Hernández, M., Esteve, T., & Pla, M. (2005). Real-time polymerase chain reaction based assays for quantitative detection of barley, rice, sunflower, and wheat. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(18), 7003-7009. DOI:10.1021/jf068006g
- Hernando, A., Valdes, I., & Méndez, E. (2003). New strategy for the determination of gliadins in maize-or rice-based foods matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: fractionation of gliadins from maize or rice prolamins by acidic treatment. *Journal of mass spectrometry*, 38(8), 862-871. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.502>
- Hessel, C. T., de Oliveira Elias, S., Pessoa, J. P., Zanin, L. M., Stedefeldt, E., & Tondo, E. C. (2019). Food safety behavior and handling practices during purchase, preparation, storage and consumption of chicken meat and eggs. *Food Research International*, 125, 108631.
- Hischenhuber, C., Crevel, R., Jarry, B., Mäki, M., Moneret-Vautrin, D. A., Romano, A., ... & Ward, R. (2006). Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 23(5), 559-575. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.02768.x>
- Hochegger, R., Mayer, W., & Prochaska, M. (2015). Comparison of R5 and G12 antibody-based ELISA used for the determination of the gluten content in official food samples. *Foods*, 4(4), 654-664. DOI:10.3390/foods4040654
- Hopman, E., Dekking, L., Blokland, M. L., Wuisman, M., Zuijderduin, W., Koning, F., & Schweizer, J. (2008). Tef in the diet of celiac patients in The Netherlands. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 43(3), 277-282. DOI: 10.1080/00365520701714871
- Hopman, E.G., Kiefte-de Jong, J.C., le Cessie, S., Moll, H.A., Witteman, J.C., Bleeker, S.E., Mearin, M.L. (2007). Food questionnaire for assessment of infant gluten consumption. *Clin Nutr*, 26, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2006.12.003>
- Hopman, E.G.D., Pruijn, R., Tabben, E.H., le Cessie, S., Mearin, M.L. (2012). Food Questionnaire for the Assessment of Gluten Intake by Children 1 to 4 Years Old: *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 54, 791–796. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31825144fe>
- Horstmann, S., Lynch, K., & Arendt, E. (2017). Starch Characteristics Linked to Gluten-Free Products. *Foods*, 6(4), 29. DOI : <https://doi.org/10.3390/foods6040029>

- Hossny, E., Ebisawa, M., El-Gamal, Y., Arasi, S., Dahdah, L., El-Owaidy, R., Galvan, C.A., Lee, B.W., Levin, M., Martinez, S., Pawankar, R., Tang, M.L.K., Tham, E.H., Fiocchi, A., 2019. Challenges of managing food allergy in the developing world. *World Allergy Organ. J.* 12, 100089. <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2019.100089>
- Howell, M. D., Austin, R. K., Kelleher, D. E. R. M. O. T., Nepom, G. T., & Kagnoff, M. F. (1986). An HLA-D region restriction fragment length polymorphism associated with celiac disease. *The Journal of experimental medicine*, 164(1), 333-338. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.164.1.333>
- Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I. R., Mearin, M. L., Phillips, A., Shamir, R., & Leigeman, M. (2012). European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 54(1), 136-160. DOI: [10.1097/MPG.0b013e31821a23d0](https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0)
- Husby, S., & Murray, JA. (2014). Diagnosing coeliac disease and the potential for serological markers. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, 11(11), 655-63. Doi:[10.1038/nrgastro.2014.162](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.162)
- Huuser, W., Gold, J., Stallmach, A., Caspary, W.F., & Stein, J. (2007). Development and Validation of the Celiac Disease Questionnaire (CDQ), a Disease-specific Health-related Quality of Life Measure for Adult Patients With Celiac Disease. *J Clin Gastroenterol*, 41, 157–166. DOI: <https://doi.org/10.1097/O1.mcg.0000225516.05666.4e>
- Immer, U., & Haas-Lauterbach, S. I. G. R. I. D. (2010). *Gluten detection* (p. 359-376). Wiley: Hoboken, NJ. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/9780470637685.ch19>
- Inomata, N. (2009). Wheat allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 9(3), 238-243. DOI: [10.1097/ACI.0b013e32832aa5bc](https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e32832aa5bc)
- ISO. (1999). ISO 6888-1:1999/AMD 2:2018 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium - Amendment 2: Inclusion of an alternative confirmation test using RPFA stab method. Geneva, Switzerland: ISO Norm 4833:2003. International Organization for Standardization.
- ISO. (2003). ISO 15213:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions. Geneva, Switzerland: ISO Norm 4833:2003. International Organization for Standardization.
- ISO. (2006). ISO 4832:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony-count technique. Geneva, Switzerland: ISO Norm 4833:2003. International Organization for Standardization.
- ISO. (2008). ISO 21527-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95 .Geneva, Switzerland: ISO Norm 4833:2003. International Organization for Standardization.
- ISO. (2013). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30 C. Geneva, Switzerland: ISO Norm 4833:2003. International Organization for Standardization.

- ISO. (2017). ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp. Geneva, Switzerland: ISO Norm 4833:2003. International Organization for Standardization.
- ISO. (2017). ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. - Part 1: *Detection method*.
- Jabri, B., & Sollid, L. M. (2017). T Cells in Celiac Disease. *The Journal of Immunology*, 198(8), 3005–3014. DOI:10.4049/jimmunol.1601693.
- Jordá, F.C., Vivancos, J.L. (2009). Fatigue as a Determinant of Health in Patients With Celiac Disease. *J. Clin. Gastroenterol*, 1. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e3181c41d12>
- Jordan, N. E., Li, Y., Magrini, D., Simpson, S., Reilly, N. R., DeFelice, A. R., & Green, P. H. (2013). Development and validation of a celiac disease quality of life instrument for North American children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 57(4), 477-486. DOI: [10.1097/MPG.0b013e31829b68a1](https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31829b68a1)
- Kabbani, T. A., Goldberg, A., Kelly, C. P., Pallav, K., Tariq, S., Peer, A., ... Leffler, D. A. (2012). Body mass index and the risk of obesity in coeliac disease treated with the gluten-free diet. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 35(6), 723–729. DOI:10.1111/j.1365-2036.2012.05001.x
- Kanerva, P. (2011). Immunochemical analysis of prolamins in gluten-free foods. Academic dissertation.
- Kanerva, P., Brinck, O., Sontag-Strohm, T., Salovaara, H., & Loponen, J. (2011). Deamidation of gluten proteins and peptides decreases the antibody affinity in gluten analysis assays. *Journal of cereal science*, 53(3), 335-339. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.02.003>
- Kang, J. Y., Kang, A. H. Y., Green, A., Gwee, K. A., & Ho, K. Y. (2013). Systematic review: worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 38(3), 226-245. DOI: <https://doi.org/10.1111/apt.12373>
- Kaukinen, K., Lindfors, K., & Mäki, M. (2014). Advances in the treatment of coeliac disease: an immunopathogenic perspective. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 11(1), 36-44. DOI : <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.141>
- Kemppainen, T., Kröger, H., Janatuinen, E., Arnala, I., Kosma, V. M., Pikkarainen, P., & Uusitupa, M. (1999). Osteoporosis in adult patients with celiac disease. *Bone*, 24(3), 249-255. DOI: [10.1016/s8756-3282\(98\)00178-1](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(98)00178-1)
- Khare, S., Tonk, A., & Rawat, A. (2018). Foodborne diseases outbreak in India: A Review. *Int J Food Sci Nutrition*, 3(3), 9-10.
- Khoshbaten, M., Rostami Nejad, M., Farzady, L., Sharifi, N., Hashemi, S. H., & Rostami, K. (2011). Fertility disorder associated with celiac disease in males and females: fact or fiction?. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 37(10), 1308-1312. DOI : <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2010.01518.x>
- Khoudri, I., Ali Zeggwagh, A., Abidi, K., Madani, N., Abouqal, R., 2007. Measurement properties of the Short Form 36 and health-related quality of life after intensive care in Morocco. *Acta Anaesthesiol. Scand*, 51, 189–197. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2006.01225.x>
- Koehler, P., Schwalb, T., Immer, U., Lacorn, M., Wehling, P., & Don, C. (2013). AACCI approved methods technical committee report: collaborative study on the immunochemical determination of intact gluten using an R5 sandwich ELISA. *Cereal Foods World*, 58(1), 36-40.

- Koerner, T.B., Cl  roux, C., Poirier, C. et al. (2011). Gluten contamination in the Canadian commercial oat supply. *Food Addit Contam Part A*, 28, 705–710. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.579626>
- Koerner, T. B., Cleroux, C., Poirier, C., Cantin, I., La Vieille, S., Hayward, S., & Dubois, S. (2013). Gluten contamination of naturally gluten-free flours and starches used by Canadians with celiac disease. *Food Additives & Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 30, 2017–2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.840744>
- Kolsteren, M. M., Koopman, H. M., Schalekamp, G., & Mearin, M. L. (2001). Health-related quality of life in children with celiac disease. *The Journal of pediatrics*, 138(4), 593-595. DOI: [10.1067/mpd.2001.111504](https://doi.org/10.1067/mpd.2001.111504)
- Koopman, H.M., Theunissen, N.C.M., Vogels, A.G.C., Kamphuis, R.P., & Verrips, G.H. (1998). The duc-25: A Short-Form Questionnaire for Measuring Health Related Quality of Life of Children with a Chronic Illness. *Qual Life Res*, 7, 619.
- Koppel, E., Stadler, M., Luthy, J., & Hubner, P. (1998). Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und- Forschung a-Food Research and Technology*, 206(6), 399–403.
- K  ppel, E., Stadler, M., L  thy, J., & Hu  bner, P. (1998). Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Zeitschrift f  r Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 206(6), 399-403. DOI: [10.1007/s002170050281](https://doi.org/10.1007/s002170050281)
- Korponay-Szabó, I. R., Szabados, K., Pusztai, J., Uhrin, K., Ludm  ny,   ., Nemes,   ., ... & M  ki, M. (2007). Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *Bmj*, 335(7632), 1244-1247.
- Kotze, L. M. D. S. (2013). Dermatitis herpetiformis, the celiac disease of the skin!. *Arquivos de gastroenterologia*, 50(3), 231-235. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-28032013000200041>
- Kulai, T., & Rashid, M. (2014). Assessment of nutritional adequacy of packaged gluten-free food products. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*, 75(4), 186-190. DOI: [10.3148/cjdpr-2014-022](https://doi.org/10.3148/cjdpr-2014-022)
- Kulushtayeva, B., Nurymkhan, G., Burakovskaya, N., Shadrin, M., Smirnova, T., Sagina, O., ... & Smirnov, S. (2019). Physical and chemical profile and food safety of gluten free bread. *EurAsian Journal of BioSciences*, 13(2), 1081-1087.
- Kumar P. Role of Gluten protein in the food products of living beings and its effect on their body both physicochemical and metabolically reactions. (2014). *International Research Journal of Commerce Arts and Science*, 5, 65-83.
- Kung, S.-J., Steenhoff, A.P., Gray, C., 2014. Food Allergy in Africa: Myth or Reality? *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 46, 241–249. <https://doi.org/10.1007/s12016-012-8341-z>
- Kurppa, K., Collin, P., M  ki, M., & Kaukinen, K. (2011). Celiac disease and health-related quality of life. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 5(1), 83-90. DOI: <https://doi.org/10.1586/egh.10.81>
- Labrosse, R., Graham, F., Caubet, J.-C., 2020. Non-IgE-Mediated Gastrointestinal Food Allergies in Children: An Update. *Nutrients* 12, 2086. <https://doi.org/10.3390/nu12072086>
- Lamacchia, C., Camarca, A., Picascia, S., et al. (2014). Cereal-based gluten-free food: how to reconcile nutritional and technological properties of wheat proteins with safety for celiac disease patients. *Nutrients*, 6(2), 575-590. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu6020575>

- Lamireau, T., & Clouzeau, H. (2013). Épidémiologie de la maladie cœliaque. *Pathol Biol*, 61(2), e1-4.  
 Doi: <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.005>
- Larretxi, I., Txurruka, I., Navarro, V., Lasa, A., Bustamante, M. Á., Fernández-Gil, M. del P., Miranda, J. (2019). Micronutrient Analysis of Gluten-Free Products: Their Low Content Is Not Involved in Gluten-Free Diet Imbalance in a Cohort of Celiac Children and Adolescent. *Foods*, 8(8), 321. DOI:10.3390/foods8080321
- Lasa, A., Larretxi, I., Simón, E., Churruca, I., Navarro, V., Martínez, O., ... Miranda, J. (2019). New Software for Gluten-Free Diet Evaluation and Nutritional Education. *Nutrients*, 11(10), 2505.  
 DOI: [10.3390/nu11102505](https://doi.org/10.3390/nu11102505)
- Laureano, Á. M., & da Silveira, T. R. (2010). Assessment of the gluten content in gluten-free labeled foods: comparison of two gluten detection methods. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 17(2), 70-77.
- Laurence, F., Esther, G., & Corinne, B. (2011). Le régime sans gluten : les points pratiques. *Nutrition clinique et métabolisme*, 25(3), 196–198. Doi : [10.1016/j.nupar.2011.06.006](https://doi.org/10.1016/j.nupar.2011.06.006)
- Laurikka, P., Salmi, T., Collin, P., Huhtala, H., Mäki, M., Kaukinen, K., & Kurppa, K. (2016). Gastrointestinal Symptoms in Celiac Disease Patients on a Long-Term Gluten-Free Diet. *Nutrients*, 8(7), 429.  
 DOI:10.3390/nu8070429
- Lazou, T., Georgiadis, M., Pentieva, K., McKevitt, A., & Iossifidou, E. (2012). Food safety knowledge and food-handling practices of Greek university students: a questionnaire-based survey. *Food Control*, 28, 400e411. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.027>
- Lebwohl, B., Ludvigsson, J. F., & Green, P. H. (2015). Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *Bmj*, 351, h4347. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.h4347>
- Lee, A. R., Wolf, R. L., Lebwohl, B., Ciaccio, E. J., & Green, P. H. (2019). Persistent economic burden of the gluten free diet. *Nutrients*, 11(2), 399. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11020399>
- Lee, AR., Ng, DL., & Zivin, J. (2007). Economic burden of a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet*, 20(5), 423-430.  
 DOI : <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2007.00763.x>
- Lee, H.J., Anderson, Z., & Ryu, D. (2014). Gluten Contamination in Foods Labeled as “Gluten Free” in the United States. *J Food Prot*, 77, 1830–1833. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-149>
- Leffler, D. A., & Schuppan, D. (2010). Update on serologic testing in celiac disease. *The American journal of gastroenterology*, 105(12), 2520-2524. DOI: [10.1038/ajg.2010.276](https://doi.org/10.1038/ajg.2010.276)
- Leonard, M. M., Sapone, A., Catassi, C., & Fasano, A. (2017). Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity: a review. *Jama*, 318(7), 647-656. DOI:10.1001/jama.2017.9730
- Lestantyo, D., Husodo, A. H., Irvati, S., & Shaluhiyah, Z. (2017). Safe Food Handling Knowledge, Attitude and Practice of Food Handlers in Hospital Kitchen. *International Journal of Public Health Science (IJPHS)*, 6(4), 324. <https://doi.org/10.11591/ijphs.v6i4.10778>
- Lindahl, L., & Eliasson, A.-C. (1986). Effects of wheat proteins on the viscoelastic properties of starch gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37(11), 1125–1132. DOI:10.1002/jsfa.2740371112
- Linscott, A. J. (2011). Food-borne illnesses. *Clinical Microbiology Newsletter*, 33, 41-45.  
 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2011.02.004>
- Lins, M. T. C., Tassitano, R. M., Brandt, K. G., Castro Antunes, M. M. D., & Silva, G. A. P. D. (2015). Translation, cultural adaptation, and validation of the celiac disease DUX (CDDUX). *Jornal de pediatria*, 91(5), 448-454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2014.11.005>



- Lionetti, E., & Catassi, C. (2014). Co-localization of gluten consumption and HLA-DQ2 and-DQ8 genotypes, a clue to the history of celiac disease. *Digestive and Liver Disease*, 46(12), 1057-1063.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.08.002>
- Lionetti, E., Antonucci, N., Marinelli, M., Bartolomei, B., Franceschini, E., Gatti, S., & Catassi, C. (2020). Nutritional Status, Dietary Intake, and Adherence to the Mediterranean Diet of Children with Celiac Disease on a Gluten-Free Diet: A Case-Control Prospective Study. *Nutrients*, 12(1), 143.  
DOI: [10.3390/nu12010143](https://doi.org/10.3390/nu12010143)
- Liu, A., & Niyongira, R. (2017). Chinese consumers food purchasing behaviors and awareness of food safety. *Food Control*, 79, 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.038>
- Lohi, S., Mustalahti, K., Kaukinen, K., Laurila, K., Collin, P., Rissanen, H., ... & Mäki, M. (2007). Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 26(9), 1217-1225.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03502.x>
- Loonen, H., Grootenhuys, M., Last, B., Koopman, H., Derkx, H. (2007). Quality of life in paediatric inflammatory bowel disease measured by a generic and a disease-specific questionnaire. *Acta Paediatr*, 91, 348–354.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2002.tb01727.x>
- Losio, M.-N., Dalzini, E., Pavoni, E., Merigo, D., Finazzi, G., Daminelli, P. (2017). A survey study on safety and microbial quality of "gluten-free" products made in Italian pasta factories. *Food Control*, 73, 316-322.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.020>
- Løvik, A., Skodje, G., Bratlie, J., Brottveit, M., & Lundin, K. E. A. (2017). Diet adherence and gluten exposure in coeliac disease and self-reported non-coeliac gluten sensitivity. *Clinical Nutrition*, 36(1), 275-280.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.11.017>
- Ludvigsson, J. F., & Green, P. H. (2011). Clinical management of coeliac disease. *Journal of internal medicine*, 269(6), 560-571. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02379.x>
- Ludvigsson, J. F., Leffler, D. A., Bai, J. C., Biagi, F., Fasano, A., Green, P. H. R., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Kelly, C. P., Leonard, J. N., Lundin, K. E. A., Murray, J. A., Sanders, D. S., Walker, M. M., Zingone, F. & Ciacci, C. (2013). The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*, 62(1), 43–52.  
DOI: [10.1136/gutjnl-2012-302613](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302613)
- MacCulloch, K., & Rashid, M. (2014). Factors affecting adherence to a gluten-free diet in children with celiac disease. *Paediatrics & child health*, 19(6), 305-309.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/pch/19.6.305>
- Mahadev, S., Laszkowska, M., Sundström, J., Björkholm, M., Lebwohl, B., Green, P. H., & Ludvigsson, J. F. (2018). Prevalence of celiac disease in patients with iron deficiency anemia—a systematic review with meta-analysis. *Gastroenterology*, 155(2), 374-382.  
DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.04.016>
- Makovicky, Peter, Makovicky, Pavol, Caja, F., Rimarova, K., Samasca, G., Vannucci, L. (2020). Celiac disease and gluten-free diet: past, present, and future. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 13, 1-7.
- Malamut, G., & Cellier, C. (2010). Maladie coéliquaue. *La Revue de médecine interne*, 31(6), 428-433.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2009.04.009>
- Malawi General Standard, 2001. MBS. (2001). Malawi General Standard on Labeling of Prepacked foods (MS 19), Malawi Bureau of Standards; Blantyre, Malawi.

- Malvano, F., Albanese, D., Pilloton, R., & Di Matteo, M. (2017). A new label-free impedimetric aptasensor for gluten detection. *Food Control*, 79, 200–206. DOI:10.1016/j.foodcont.2017.03.033
- Mangen, M. J. J., Bouwknegt, M., Friesema, I. H., Haagsma, J. A., Kortbeek, L. M., Tariq, L., ... & Havelaar, A. H. (2015). Cost-of-illness and disease burden of food-related pathogens in the Netherlands, 2011. *International journal of food microbiology*, 196, 84-93. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.022
- Marsh, M. N. (1992). Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*, 102(1), 330-354. DOI: [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)91819-P](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)91819-P)
- Marchese, A., Klersy, C., Biagi, F., Balduzzi, D., Bianchi, P. I., Trotta, L., ... & Corazza, G. R. (2013). Quality of life in coeliac patients: Italian validation of a coeliac questionnaire. *European journal of internal medicine*, 24(1), 87-91. DOI: 10.1016/j.ejim.2012.09.015
- Marchisotto, M. J., Harada, L., Blumenstock, J. A., Bilaver, L. A., Wasserman, S., Sicherer, S., ... & Gupta, R. S. (2016). Global perceptions of food allergy thresholds in 16 countries. *Allergy*, 71(8), 1081-1085.
- Marchisotto, M. J., Harada, L., Kamdar, O., Smith, B. M., Wasserman, S., Sicherer, S., ... & Gupta, R. S. (2017). Food allergen labeling and purchasing habits in the United States and Canada. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 5(2), 345-351. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.09.020>
- Martin, J., Geisel, T., Maresch, C., Krieger, K., Stein, J. (2013). Inadequate Nutrient Intake in Patients with Celiac Disease: Results from a German Dietary Survey. *Digestion* 87, 240–246. DOI: 10.1159/000348850
- Martinez Stephen, W. (2013). Introduction of New Food Products with Voluntary Health- and Nutrition-Related Claims, 1989-2010. USDA-ERS Economic Information Bulletin No. 108. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=2266446> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.2266446>
- Martinez-Rios, V., & Dalgaard, P. (2018). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in European cheeses: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 84, 205-214. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.07.020
- Martínez-Villaluenga, C., & Peñas, E. (2017). Health benefits of oat: Current evidence and molecular mechanisms. *Current Opinion in Food Science*, 14, 26–31. DOI: 10.1016/j.cofs.2017.01.004.
- Mathews, R. S. (2011). Current and potential health claims for oat products. Chapter 13. In H. H. Webster, & P. J. Wood (Eds.). *Oats: Chemistry and technology* (pp. 275–300). MN, USA: AAAC International Press.
- Matos Segura, M. E., & Rosell, C. M. (2011). Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(3), 224–230. DOI: 10.1007/s11130-011-0244-2
- Matuchansky, C., Rousseau, S., & Morin, M. C. (2004). Maladie cœliaque de l'adulte : actualités du régime sans gluten. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 39(5), 311-317.
- Mattioni, B., Scheuer, P.M., Antunes, A.L., Paulino, N., & de Francisco, A. (2016). Compliance with Gluten-Free Labelling Regulation in the Brazilian Food Industry. *Cereal Chem J*, 93, 518–522. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-15-0158-R>
- Mazza, GA., Talarico, V., Barreca, M., Lavano, S., Miniero, R., & Giancotti, L. (2015). BMI assessment in children with celiac disease before and after gluten free diet. *Dig Liver Dis*, 47 (4), e244. Doi: 10.1016/j.dld.2015.07.068.
- Mazzeo, T., Cauzzi, S., Brighenti, F., et al. (2015). The development of a composition database of gluten-free products. *Public Health Nutr*, 18(08), 1353-1357. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1368980014001682>

- McAllister, B. P., Williams, E., & Clarke, K. (2019). A comprehensive review of celiac disease/gluten-sensitive enteropathies. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 57(2), 226-243.  
DOI: [10.1007/s12016-018-8691-2](https://doi.org/10.1007/s12016-018-8691-2)
- McIntosh, J., Flanagan, A., Madden, N., Mulcahy, M., Dargan, L., Walker, M., & Burns, D. T. (2011). Awareness of coeliac disease and the gluten status of 'gluten-free' food obtained on request in catering outlets in Ireland. *International journal of food science & technology*, 46(8), 1569-1574.
- Mejías, J. H., Lu, X., Osorio, C., Ullman, J. L., Von Wettstein, D., & Rustgi, S. (2014). Analysis of wheat prolamins, the causative agents of celiac sprue, using reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). *Nutrients*, 6(4), 1578-1597. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu6041578>
- Melini, F., & Melini, V. (2018). Immunological methods in gluten risk analysis: A snapshot. *Safety*, 4(4), 56.
- Mena, M. C., Lombardía, M., Hernando, A., Méndez, E., & Albar, J. P. (2012). Comprehensive analysis of gluten in processed foods using a new extraction method and a competitive ELISA based on the R5 antibody. *Talanta*, 91, 33-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.073>
- Mena, M.C., & Sousa, C. (2015). Analytical Tools for Gluten Detection. Policies and Regulation, in: Arranz, E., Fernández-Bañares, F., M.Rosell, C., Rodrigo, L., Peña, A.S. (Eds.), *Advances in the Understanding of Gluten Related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods*. OmniaScience, 527–564. <https://doi.org/10.3926/oms.264>
- Meysenburg, R., Albrecht, J. A., Litchfield, R., & Ritter-Gooder, P. K. (2014). Food safety knowledge, practices and beliefs of primary food preparers in families with young children. A mixed methods study. *Appetite*, 73, 121-131. DOI: [10.1016/j.appet.2013.10.015](https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.10.015)
- Mfueni, E., Gama, A.P., Kabambe, P., Chimbaza, M., Matita, G., Matumba, L., 2018. Food allergen labeling in developing countries: Insights based on current allergen labeling practices in Malawi. *Food Control* 84, 263–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.007>
- Mills, J. R., & Murray, J. A. (2016). Contemporary celiac disease diagnosis: is a biopsy avoidable?. *Current Opinion in Gastroenterology*, 32(2), 80-85. DOI: [10.1097/MOG.0000000000000245](https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000245)
- Ministry of Healthy of New Zealand. (2019). Prescription subsidy scheme, available at: <https://www.health.govt.nz/your-health/conditions-and-treatments/treatments-and-surgery/medications/prescription-subsidy-scheme> (accessed January 2020).
- Ministère de l'agriculture du Maroc. Filière de céréales. Available at: <http://www.agriculture.gov.ma/pages/accs-fillieres/filiere-cerealie>
- Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, MA., et al. (2014). Nutritional Differences Between a Gluten-free Diet and a Diet Containing Equivalent Products with Gluten. *Plant Foods Hum Nutr*, 69(2), 182-187.  
DOI: [http://dx.doi.org/10.1007/s11130-014-0429-6](https://doi.org/10.1007/s11130-014-0429-6).
- Missbach, B., Schwingshackl, L., Billmann, A., Mystek, A., Hickelsberger, M., Bauer, G., & König, J. (2015). Gluten-free food database: the nutritional quality and cost of packaged gluten-free foods. *PeerJ*, 3, e1337.  
DOI: [10.7717/peerj.1337](https://doi.org/10.7717/peerj.1337)
- Missoum, H., Alami, M., Bachir, F., Arji, N., Bouyahya, A., Rhajaoui, M., El Aouad, R., Bakri, Y. (2019). Prevalence of autoimmune diseases and clinical significance of autoantibody profile: Data from National

- Institute of Hygiene in Rabat, Morocco. *Hum Immunol*, 80, 523–532. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2019.02.012>
- Mohammad Abd Elmoneim Elmadbouly. (2015). Association between sociodemographic factors and knowledge level of food safety and hygiene among hospital food services staff. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*.
- Molberg, Ø., McAdam, S. N., & Sollid, L. M. (2000). Role of tissue transglutaminase in celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 30(3), 232-240. DOI: 10.1038/nm0698-713
- Molkhou.P. (2010). Quand introduire le gluten dans l'alimentation du nourrisson ?, Hadjora, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris. Available at: <https://symphomed.superforum.fr/t1078-quand-introduire-le-gluten-dans-lalimentation-du-nourrisson>.
- Moreb, N. A., Priyadarshini, A., & Jaiswal, A. K. (2017). Knowledge of food safety and food handling practices amongst food handlers in the Republic of Ireland. *Food Control*, 80, 341-349. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.020>
- Moriarty, D. G., Zack, M. M., & Kobau, R. (2003). The Centers for Disease Control and Prevention's Healthy Days Measures—Population tracking of perceived physical and mental health over time. *Health and quality of life outcomes*, 1(1), 37. DOI: <https://doi.org/10.1186/1477-7525-1-37>
- Moroccan Standards. (2019). <http://www.onssa.gov.ma/images/SITE-WEB-liste-des-normes-homologuees-janvier-2019.pdf>.
- Morón, B., Cebolla, A., Manyani, H., Alvarez-Maqueda, M., Megías, M., Thomas, M. del C., López, M.C., Sousa, C. (2008a). Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide. *Am. J. Clin. Nutr*, 87, 405e414. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.2.405>
- Morón, B., Bethune, M.T., Comino, I., Manyani, H., Ferragud, M., López, M.C., Cebolla, A., Khosla, C., Sousa, C. (2008b). Toward the assessment of food toxicity for celiac patients: characterization of monoclonal antibodies to a main immunogenic gluten peptide. *PloS One*, 3, e2294. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002294>
- Morris Jr, J. G. (2011). How safe is our food?. *Emerging infectious diseases*, 17(1), 126. DOI: 10.3201/eid1701.101821
- Mujico, J. R., Lombardía, M., Mena, M. C., Méndez, E., & Albar, J. P. (2011). A highly sensitive real-time PCR system for quantification of wheat contamination in gluten-free food for celiac patients. *Food Chemistry*, 128(3), 795–801. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.03.061
- Murray, J. A., Watson, T., Clearman, B., & Mitros, F. (2004). Effect of a gluten-free diet on gastrointestinal symptoms in celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(4), 669–673. DOI:10.1093/ajcn/79.4.669
- Nassef, H. M., Bermudo Redondo, M. C., Ciclitira, P. J., Ellis, H. J., Fragoso, A., & O'Sullivan, C. K. (2008). Electrochemical immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin in foodstuff. *Analytical chemistry*, 80(23), 9265-9271. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac801620j>
- Nassef, H. M., Civit, L., Fragoso, A., & O'Sullivan, C. K. (2009). Amperometric immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin based on fab fragments. *Analytical chemistry*, 81(13), 5299-5307. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac9005342>

- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). (2009). A NICE approach to coeliac disease: implications for gastroenterology. London: National Institute for Health and Care Excellence. Available at: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/cg86fullguideline.pdf> (Accessed January 10, 2014).
- National Office for Food Safety. (2018). Regulations: Labelling of food products. Decree no. aw 78-10, 2013. Décret n°2-12-389. Retrieved from <http://www.onssa.gov.ma/fr/reglementation-etiquetage-des-produits-alimentaires>
- National Office for Food Safety. (May 2018). “Regulations: Labelling of food products. Decree no. 2-18-44”, Available at: <http://www.onssa.gov.ma/fr/reglementation-etiquetage-des-produits-alimentaires> (accessed October 2020).
- Nerín, C., Aznar, M., Carrizo, D. (2016). Food contamination during food process. *Trends Food Sci. Technol.* 48, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.004>
- Newnham, E. D., Shepherd, S. J., Strauss, B. J., Hosking, P., & Gibson, P. R. (2016). Adherence to the gluten-free diet can achieve the therapeutic goals in almost all patients with coeliac disease: A 5-year longitudinal study from diagnosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 31(2), 342-349.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/jgh.13060>
- Nijhawan, S., & Goyal, G. (2015). Celiac Disease Review. *J Gastrointest Dig Syst*, 5, 350.  
DOI: [10.4172/2161-069X.1000350](https://doi.org/10.4172/2161-069X.1000350).
- Nishida, C., Uauy, R., Kumanyika, S., & Shetty, P. (2004). The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutr*, 7(1A), 245-250.
- Noimark, L., Gardner, J., Warner, J.O., 2009. Parents’ attitudes when purchasing products for children with nut allergy: A UK perspective. *Pediatr. Allergy Immunol.* 20, 500–504. DOI: [10.1111/j.1399-3038.2008.00796.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2008.00796.x)
- Norsa, L. (2013). Cardiovascular disease risk factor profiles in children with celiac disease on gluten-free diets. *World J Gastroenterol*, 19(34), 5658-5664. DOI: [10.3748/wjg.v19.i34.5658](https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i34.5658)
- Norris, J. M., Barriga, K., Hoffenberg, E. J., Taki, I., Miao, D., Haas, J. E., et al. (2005). Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *Jama*, 293(19), 2343-2351. DOI: [10.1001/jama.293.19.2343](https://doi.org/10.1001/jama.293.19.2343)
- Nunnally, J. C., & Bernstein, I. H. (1978). *Psychometric Theory* McGraw-Hill New York. The role of university in the development of entrepreneurial vocations: a Spanish study.
- Nwaru, B.I., Hickstein, L., Panesar, S.S., Roberts, G., Muraro, A., Sheikh, A., the EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group, 2014. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 69, 992–1007. <https://doi.org/10.1111/all.12423>
- Oberhuber, G. (2000). Histopathology of celiac disease. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 54(7), 368-372.
- Öksüz, T., & Karakas, B. (2016). Sensory and textural evaluation of gluten-free biscuits containing buckwheat flour. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1). 2, 1178693. DOI : [10.1080/23311932.2016.1178693](https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1178693)
- Oliveira, O. M. V., Zandonadi, R. P., Gandolfi, L., de Almeida, R. C., Almeida, L. M., & Pratesi, R. (2014). Evaluation of the presence of gluten in beans served at self-service restaurants: a problem for celiac disease carriers. *Journal of culinary science & technology*, 12(1), 22-33.

- OMS. (1983). Mesure des modifications de l'état nutritionnel: guide pour la mesure de l'impact nutritionnel des programmes d'alimentation complémentaire visant les groupes vulnérables. Genève: Organisation Mondiale de la Santé(OMS)
- ONSSA. (2013). Loi n°28-07 relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires. Available at: <http://www.onssa.gov.ma/images/Publications/loissaetdecretarfr.pdf>
- ONSSA. (2010). Food-product control. Available at: <http://www.onssa.gov.ma/fr/controle-des-produits-alimentaires>
- ONSSA. (2013). Loi n° 25-08 portant création de l'Office national de sécurité sanitaire des produits alimentaires Bulletin Officiel n° 7514 du 05 mars 2009, page 358 Available at:
- ONSSA, 2018. Decree n ° 2-12-389 of 11 jomada II 1434 (22 April 2013) setting the conditions and labeling procedures for food products.
- Olives JP. (2013). La maladie cœliaque. *Gastroentérologie et Nutrition Pédiatriques*, 13-20.
- Osaili, T. M., Obeidat, B. A., Jamous, D. O. A., & Bawadi, H. A. (2011). Food safety knowledge and practices among college female students in north of Jordan. *Food Control*, 22(2), 269-276.  
DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.07.009
- Oso, O., & Fraser, N. (2006). A boy with coeliac disease and obesity. *Acta Paediatr*, 95(5), 618-9.  
Doi: 10.1080/08035250500421576
- Osorio, C. E., Mejías, J. H., & Rustgi, S. (2019). Gluten Detection Methods and Their Critical Role in Assuring Safe Diets for Celiac Patients. *Nutrients*, 11(12), 2920. DOI: 10.3390/nu11122920
- Oujamaa, I., Sebbani, M., Elmoumou, L., Bourrahouate, A., El Qadiry, R., El Moussaoui, S., Ait Sab, I., Sbihi, M., Ennazzk, L., El Mghari-Tabib, G., El Ansari, N., Baizri, H., Amine, M., Admou, B. (2019). The Prevalence of Celiac Disease-Specific Auto-Antibodies in Type 1 Diabetes in a Moroccan Population. *Int J Endocrinol*, 2019, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/7895207>
- Overbey, K. N., Jaykus, L.-A., & Chapman, B. J. (2017). A Systematic Review of the Use of Social Media for Food Safety Risk Communication. *Journal of Food Protection*, 80(9), 1537-1549. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-345>
- Oyarzún, A., Nakash, T., Ayala, J., Lucero, Y., & Araya, M. (2015). Following Gluten Free Diet: less available, higher cost and poor nutritional profile of gluten-free school snacks. *Int J Celiac Dis*, 3(3), 102-107. DOI:10.12691/ijcd-3-3-3
- Panagiotou, S., & Kontogianni, M. D. (2017). The economic burden of gluten-free products and gluten-free diet: a cost estimation analysis in Greece. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 30(6), 746-752.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/jhn.12477>
- Panda, R., & Garber, E. A. E. (2019). Detection and Quantitation of Gluten in Fermented-Hydrolyzed Foods by Antibody-Based Methods: Challenges, Progress, and a Potential Path Forward. *Frontiers in Nutrition*, 6,97. DOI:10.3389/fnut.2019.00097
- Panda, R., & Garber, E. A. E. (2019). Western blot analysis of fermented-hydrolyzed foods utilizing gluten-specific antibodies employed in a novel multiplex competitive ELISA. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(20), 5159–5174. DOI: 10.1007/s00216-019-01893-0

- Parzanese, I., Qehajaj, D., Patrinicola, F., Aralica, M., Chiriva-Internati, M., Stifter, S., & Grizzi, F. (2017). Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 8(2), 27. DOI: [10.4291/wjgp.v8.i2.27](https://doi.org/10.4291/wjgp.v8.i2.27)
- Patrick, D. L., Wild, D. J., Johnson, E. S., Wagner, T. H., & Martin, M. A. (1994). Cross-cultural validation of quality of life measures. In *Quality of life assessment: International perspectives* (pp. 19-32). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Paudyal, N., Anihouvi, V., Hounhouigan, J., Matsheka, M.I., Sekwati-Monang, B., Amoa-Awua, W., Atter, A., Ackah, N.B., Mbugua, S., Asagbra, A., Abdelgadir, W., Nakavuma, J., Jakobsen, M., Fang, W. (2017). Prevalence of foodborne pathogens in food from selected African countries - A meta-analysis. *Int J Food Microbiol*, 249, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.002>
- Paulley, J. W. (1954). Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhoea. *British medical journal*, 2(4900), 1318. DOI: [10.1136/bmj.2.4900.1318](https://doi.org/10.1136/bmj.2.4900.1318)
- Peña, R. J., & Amaya, A. (1992). Milling and breadmaking properties of wheat—triticale grain blends. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(4), 483–487. DOI:[10.1002/jsfa.2740600413](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600413).
- Peñas, E., Uberti, F., di Lorenzo, C., Ballabio, C., et al. (2014). Biochemical and Immunochemical Evidences Supporting the Inclusion of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a Gluten-free Ingredient. *Plant Foods Hum Nutr*, 69(4), 297-303. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0449-2>
- Petersen, C., Schmidt, S., Power, M., & Bullinger, M. (2005). Development and pilot-testing of a health-related quality of life chronic generic module for children and adolescents with chronic health conditions: A European perspective. *Qual Life Res*, 14, 1065–1077. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11136-004-2575-z>
- Petruzzelli, A., Foglini, M., Paolini, F., Framboas, M., Serena Altissimi, M., Naceur Haouet, M., et al. (2014). Evaluation of the quality of foods for special diets produced in a school catering facility within a HACCP-based approach: A case study. *International journal of environmental health research*, 24(1), 73-81. DOI: <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.782605>
- Piancatelli, D., Ben El Barhdadi, I., Oumhani, K., Sebastiani, P., Colanardi, A., Essaid, A. (2017). HLA Typing and Celiac Disease in Moroccans. *Med Sci*, 5, 2. DOI: <https://doi.org/10.3390/medsci5010002>
- Pichler, J., Ziegler, J., Aldrian, U., & Allerberger, F. (2014). Evaluating levels of knowledge on food safety among food handlers from restaurants and various businesses in Viena, Austria 2011/2012. *Food Control*, 35, 33e40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.034>
- Pico, D. M., & Spirito, M. F. (2009). ADAPTACION TRANSCULTURAL DEL CDDUX: Versión Español-Argentina de un cuestionario de calidad de vida relacionado a la salud específico para niños con enfermedad celíaca. *Medicina Infantil*, 16(4), 387-393.
- Pico, M., Spirito, M. F., & Roizen, M. (2012). Calidad de vida en niños y adolescentes con enfermedad celíaca: Versión argentina del cuestionario específico CDDUX. *Acta Gastroenterologica Latinoamericana*, 42(1), 12-19.
- Pico, M., & Spirito, M. F. (2014). Implementation of a health-related quality of life questionnaire for children and adolescents with celiac disease. *Arch Argent Pediatr*, 112(1), 19-25. DOI:[10.5546/aap.2014.eng.19](https://doi.org/10.5546/aap.2014.eng.19)
- Pinto-Sanchez, M. I., Verdu, E. F., Gordillo, M. C., Bai, J. C., Birch, S., Moayyedi, P., & Bercik, P. (2015). Tax-deductible provisions for gluten-free diet in Canada compared with systems for gluten-free diet coverage available in various countries. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 29.

DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/508156>

- Pinto-Sánchez, M. I., Causada-Calo, N., Bercik, P., Ford, A. C., Murray, J. A., Armstrong, D., ... Green, P. (2017). Safety of Adding Oats to a Gluten-Free Diet for Patients With Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis of Clinical and Observational Studies. *Gastroenterology*, 153(2), 395–409.e3. DOI:10.1053/j.gastro.2017.04.009.
- Poddighe, D., Rakhimzhanova, M., Marchenko, Y., & Catassi, C. (2019). Pediatric celiac disease in central and east Asia: current knowledge and prevalence. *Medicina*, 55(1), 11.
- Pouchot, J., Despujol, C., Malamut, G., Ecosse, E., Coste, J., & Cellier, C. (2014). Validation of a French version of the quality of life “Celiac Disease Questionnaire”. *PloS one*, 9(5), e96346. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096346>
- Pratesi, C. B., Häuser, W., Uenishi, R. H., Selleski, N., Nakano, E. Y., Gandolfi, L., ... & Zandonadi, R. P. (2018). Quality of Life of Celiac Patients in Brazil: Questionnaire Translation, Cultural Adaptation and Validation. *Nutrients*, 10(9), 1167. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10091167>
- Punshon, T., & Jackson, B. P. (2018). Essential micronutrient and toxic trace element concentrations in gluten containing and gluten-free foods. *Food Chemistry*, 252, 258–264. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.01.120
- Quero, J. S., Jaime, B. E., Martínez, A. R., Martín, F. A., Jiménez, R. G., Murillo, M. R., & Martín, A. P. (2015). Nutritional assessment of gluten-free diet. Is gluten-free diet deficient in some nutrient?. *Anales de Pediatría (English Edition)*, 83(1), 33-39. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.anpede.2015.06.003>
- Radman, M., Jurina, T., Benković, M., Jurinjak TUšek, A., Valinger, D., & Gajdoš Kljusurić, J. (2018). Application of NIR spectroscopy in gluten detection as a cross-contaminant in food. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 13(3-4), 120-127. DOI: <https://doi.org/10.31895/hcptbn.13.3-4.4>
- Raju, N., Joshi, A.K.R., Vahini, R. et al. (2020). Gluten contamination in labelled and naturally gluten-free grain products in southern India. *Food Addit Contam Part A*, 37, 531–538. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1711970>
- Ramakrishna, B. S., Makharia, G. K., Chetri, K., Dutta, S., Mathur, P., Ahuja, V., & Das, A. (2016). Prevalence of adult celiac disease in India: regional variations and associations. *American Journal of Gastroenterology*, 111(1), 115-123. DOI: 10.1038/ajg.2015.398
- Rashid M, Cranney A, Zarkadas M, et al. Celiac disease: evaluation of the diagnosis and dietary compliance in Canadian children. *Pediatrics* 2005; 116(6): e754–e759.
- Ravens-Sieberer, U., Herdman, M., Devine, J., Otto, C., Bullinger, M., Rose, M., Klasen, F. (2014). The European KIDSCREEN approach to measure quality of life and well-being in children: development, current application, and future advances. *Qual Life Res*, 23, 791–803. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11136-013-0428-3>
- R-Biopharm. SureFood® ALLERGEN ID Gluten. Available at: <http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis/allergens/gliadin-gluten/item/surefood-allergen-gluten>.
- Rebouças, L. T., Santiago, L. B., Martins, L. S., Menezes, A. C. R., Araújo, M. D. P. N., & de Castro Almeida, R. C. (2017). Food safety knowledge and practices of food handlers, head chefs and managers in hotels' restaurants of Salvador, Brazil. *Food Control*, 73, 372-381. DOI : 10.1016/j.foodcont.2016.08.026



- Reboul-Marty, J. and R. Launois. (1995). Les Indicateurs de Qualité de Vie : processus de Mesure et Validation. *Cardioscopies*, 33: 635-637.
- Redmond, E. C., & Griffith, C. J. (2003). Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *Journal of food protection*, 66(1), 130-161. DOI:10.4315/0362-028x-66.1.130
- Redmond, E. C., & Griffith, C. J. (2009). The importance of hygiene in the domestic kitchen: implications for preparation and storage of food and infant formula. *Perspectives in Public Health*, 129(2), 69-76. DOI:10.1177/1757913908101604
- Reilly, N. R., Husby, S., Sanders, D. S., & Green, P. H. (2018). Coeliac disease: to biopsy or not?. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 15(1), 60. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.121
- Reilly, NR., Aguilar, K., Hassid, BG., Cheng, J., DeFelice, AR., Kazlow, P., Bhagat, G., & Green, P. H. (2011). Celiac Disease in Children with Normal Weight and Overweight: Clinical Features and Growth Outcomes Following a Gluten-Free Diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 53(5), 528-31. Doi: 10.1097/MPG.0b013e3182276d5e
- Rejeski, W. J., & Mihalko, S. L. (2001). Physical activity and quality of life in older adults. *The Journals of Gerontology Series A: Biological sciences and medical sciences*, 56(suppl\_2), 23-35. DOI: [https://doi.org/10.1093/gerona/56.suppl\\_2.23](https://doi.org/10.1093/gerona/56.suppl_2.23).
- Reguła, J., & Śmidowicz, A. (2014). Share of dietary supplements in nutrition of coeliac disease patients. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 13(3), 301-7. Doi: 10.17306/J.AFS.2014.3.8
- Remington, B.C., Baumert, J.L., Blom, W.M., Houben, G.F., Taylor, S.L., Kruizinga, A.G., 2015. Unintended allergens in precautionary labelled and unlabelled products pose significant risks to UK allergic consumers. *Allergy* 70, 813–819. DOI: <https://doi.org/10.1111/all.12625>
- Remington, B.C., Westerhout, J., Meima, M.Y., Blom, W.M., Kruizinga, A.G., Wheeler, M.W., Taylor, S.L., Houben, G.F., Baumert, J.L., 2020. Updated population minimal eliciting dose distributions for use in risk assessment of 14 priority food allergens. *Food Chem. Toxicol.* 139, 111259. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111259>
- Rhalem. N., Soulaymani. R. (2002). Espérance médicale, 2002. [www. capm.ma](http://www.capm.ma)
- Riddle, D.L., Lee, K.T., Stratford, P.W. (2001). Use of SF-36 and SF-12 Health Status Measures: A Quantitative Comparison for Groups Versus Individual Patients, *Med. Care*, 39, 867–878. DOI: 10.1097/00005650-200108000-00012
- Rocha, S., Gandolfi, L., & Santos, J. E. D. (2016). The psychosocial impacts caused by diagnosis and treatment of Coeliac Disease. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 50(1), 65-70. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-623420160000100009>
- Rodrigues, M., Yonamine, GH., et al. (2018). Rate and determinants of non-adherence to a gluten-free diet and nutritional status assessment in children and adolescents with celiac disease in a tertiary Brazilian referral center: a cross-sectional and retrospective study. *BMC Gastroenterology*, 18(1), 15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12876-018-0740-z>
- Rønning, S. B., Berdal, K. G., Andersen, C. B., & Holst-Jensen, A. (2006). Novel reference gene, PKABA1, used in a duplex real-time polymerase chain reaction for detection and quantitation of wheat-and barley-derived DNA. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(3), 682-687. DOI: 10.1021/jf052328n

- Rosell, C. M., Barro, F., Sousa, C., & Mena, M. C. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science*, 59(3), 354–364.  
DOI: [10.1016/j.jcs.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.001)
- Rossi, M. D. S. C., Stedefeldt, E., da Cunha, D. T., & de Rosso, V. V. (2017). Food safety knowledge, optimistic bias and risk perception among food handlers in institutional food services. *Food Control*, 73, 681-688.  
DOI : [10.1016/j.foodcont.2016.09.016](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.016)
- Rostami, K., Bold, J., Parr, A., & Johnson, M. (2017). Gluten-Free Diet Indications, Safety, Quality, Labels, and Challenges. *Nutrients*, 9(8), 846. DOI: [10.3390/nu9080846](https://doi.org/10.3390/nu9080846).
- Roujon, P., Guidicelli, G., Moreau, J. F., & Taupin, J. L. (2013). Immunogénétique de la maladie cœliaque. *Pathologie Biologie*, 61(2), e5-e11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.006>
- Royaume du Maroc, Premier ministre. (2011). Realisation d'une etude sur la concurrentiabilite du secteur des grandes et moyennes surfaces (Version juillet 2011) Rapport de synthèse. Available at: [http://www.conseil-concurrence.ma/publications/Grandes\\_Moyennes\\_Surfaces.pdf](http://www.conseil-concurrence.ma/publications/Grandes_Moyennes_Surfaces.pdf) (accessed January 2019).
- Royo, C., Soriano, J. M., & Alvaro, F. (2017). Wheat: a crop in the bottom of the Mediterranean diet pyramid. Chapter 16 of the Book of Mediterranean identities—environment, society, culture, 381-399.  
DOI: [10.5772/intechopen.69184](https://doi.org/10.5772/intechopen.69184)
- RSA, 2014. RSA. (2014). Regulation Relating to the Labeling and Advertising of Foods: Amendment Retrieved 16 February, 2017, from [http://www.gpwonline.co.za/Gazettes/Gazettes/37695\\_29-5\\_Health.pdf](http://www.gpwonline.co.za/Gazettes/Gazettes/37695_29-5_Health.pdf).
- Rubio-Tapia, A., Ludvigsson, JF., Brantner, TL., Murray, JA., & Everhart, JE. (2012). The Prevalence of Celiac Disease in the United States. *Am J Gastroenterol*, 107(10), 1538-44. Doi: [10.1038/ajg.2012.219](https://doi.org/10.1038/ajg.2012.219)
- Ruby, G. E., Ungku Zainal Abidin, U. F., Lihan, S., Jambari, N. N., & Radu, S. (2019). A cross sectional study on food safety knowledge among adult consumers. *Food Control*, 99, 98-105.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.045>
- Rysová, J., Mašková, E., & Šmídová, Z. (2019). The gluten content in oat products available on the Czech market. *Czech J Food Sci*, 37, 345–350. <https://doi.org/10.17221/114/2018-CJFS>
- Sabbah, I., Drouby, N., Sabbah, S., Retel-Rude, N., & Mercier, M. (2003). Quality of life in rural and urban populations in Lebanon using SF-36 health survey. *Health and quality of life outcomes*, 1(1), 30. *Health Qual. Life Outcomes*, 1, 30. DOI: <https://doi.org/10.1186/1477-7525-1-30>
- Sadiki, H., Benkirane, S., Douail, N., Chafai, S., & Abkari, A. (2013). La maladie cœliaque : à propos de 372 cas. *Archives de pédiatrie*, 5(20), 548. Doi: [10.1016/j.arcped.2013.02.036](https://doi.org/10.1016/j.arcped.2013.02.036)
- Salazar Quero, JC., Espín Jaime, B., Rodríguez Martínez, A., et al. (2015). Nutritional assessment of gluten-free diet. Is gluten-free diet deficient in some nutrient?. *An Pediatr Barc Spain*, 83(1), 33-39.  
DOI: [10.1016/j.anpede.2015.06.003](https://doi.org/10.1016/j.anpede.2015.06.003)
- Samasca, G., Sur, G., Lupan, I., & Deleanu, D. (2014). Gluten-free diet and quality of life in celiac disease. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 7(3), 139. PMID: [PMC4129563](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/249563/).
- Sampson, H.A. (2004). Update on food allergy☆. *J. Allergy Clin. Immunol.* 113, 805–819.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.03.014>

- Sandberg, M., Lundberg, L., Ferm, M., & Yman, I. M. (2003). Real time PCR for the detection and discrimination of cereal contamination in gluten free foods. *European Food Research and Technology*, 217(4), 344-349. DOI: [10.1007/s00217-003-0758-4](https://doi.org/10.1007/s00217-003-0758-4)
- Sansotta, N., Amirikian, K., Guandalini, S., & Jericho, H. (2018). Celiac Disease Symptom Resolution: Effectiveness of the Gluten-free Diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 66(1), 48-52. <https://doi.org/info:doi/10.1097/MPG.0000000000001634>
- Sapone, A., Bai, J. C., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P. H., Hadjivassiliou, M., & Ullrich, R. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC medicine*, 10(1), 13. DOI: [10.1186/1741-7015-10-13](https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-13)
- Sarkhy, AA., El Mouzan, MI., Saeed, E., Alanazi, A., Alghamdi, S., Anil, S., & Assiri, A. (2015). Clinical Characteristics of Celiac Disease and Dietary Adherence to Gluten-Free Diet among Saudi Children. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 18(1):23-29. Doi: [10.5223/pghn.2015.18.1.23](https://doi.org/10.5223/pghn.2015.18.1.23)
- Sarno, M., Discepolo, V., Troncone, R., Auricchio, R. (2015). Risk factors for celiac disease. *Ital J Pediatr*, 41, 57. <https://doi.org/10.1186/s13052-015-0166-y>
- Saturni, L., Ferretti, G., & Bacchetti, T. (2010). The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients*, 2(1), 16- 34. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu2010016>
- Sbaibi, R., Aboussaleh, Y., Ateillah, K., & Ahami, A O T. (2013). Étude longitudinale de l'état staturo-pondéral des collégiens de la commune rurale Sidi El Kamel (Nord-Ouest Marocain). *Antropo*, 29,125-131.
- Scharf, A., Kasel, U., Wichmann, G., & Besler, M. (2013). Performance of ELISA and PCR Methods for the Determination of Allergens in Food: An Evaluation of Six Years of Proficiency Testing for Soy (*Glycine max* L.) and Wheat Gluten (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(43), 10261–10272. DOI: [hppt// doi:10.1021/jf402619d](https://doi.org/10.1021/jf402619d).
- Scharff, R. L. (2012). Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States. *Journal of food protection*, 75(1), 123-131. DOI:[10.4315/0362-028x.jfp-11-058](https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-11-058)
- Scherf, K. A., & Poms, R. E. (2016). Recent developments in analytical methods for tracing gluten. *Journal of Cereal Science*, 67, 112-122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.006>
- Schermelleh-Engel K, Moosbrugger H, Müller H. Evaluating the fit of structural equation models: tests of significance and descriptive goodness-of-fit measures. *Int J Methods Psychiatr Res*. 2003;8(2):23–74
- Schibli, S., Spalinger, J., et Nydegger, A. (2013). Mise à jour des recommandations pour le diagnostic de la maladie coeliaque (ESPGHAN 2012). *Unité de Gastroentérologie Pédiatrique*, 24, 1.
- Schmitz, J., & Garnier-Lengliné, H. (2008). Diagnostic de la maladie cœliaque en 2008. *Archives de pédiatrie*, 15(4), 456-461. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2008.02.002>
- Schuppan, D., & Zimmer, K. P. (2013). The diagnosis and treatment of celiac disease. *Deutsches Ärzteblatt International*, 110(49), 835. DOI:[10.3238/arztebl.2013.0835](https://doi.org/10.3238/arztebl.2013.0835)
- Sciarini, LS., Ribotta, PD., León, AE., et al. (2010). Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality: Hydrocolloids in gluten-free systems. *Int J Food Sci Technol*, 45(11), 2306-2312. DOI : <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02407.x>

- Sealey-Voyksner, J. A., Khosla, C., Voyksner, R. D., & Jorgenson, J. W. (2010). Novel aspects of quantitation of immunogenic wheat gluten peptides by liquid chromatography–mass spectrometry/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(25), 4167–4183. DOI:10.1016/j.chroma.2010.01.067.
- Semeraro, LA., Barwick, KW., & Gryboski, JD. (1986). Obesity in celiac sprue. *J Clin Gastroenterol*, 8(2),177-80.
- Serrano-Moliner, M., Morales-Suarez-Varela, M., & Valero, M. A. (2018). Epidemiology and management of foodborne nematodiasis in the European Union, systematic review 2000–2016. *Pathogens and global health*, 112(5), 249-258. DOI: <https://doi.org/10.1080/20477724.2018.1487663>
- Sewell, A. M., & Farber, J. M. (2001). Foodborne outbreaks in Canada linked to produce. *Journal of Food Protection*, 64(11), 1863e1877. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.11.1863>
- Sevinc, E. (2015). The Influence of Hla-Dq2 Heterodimers on Traits. *Nutr Hosp*, 2594-2599. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.6.9733>
- Sharma, G.M., Pereira, M., & Williams, K.M. (2015). Gluten detection in foods available in the United States – A market survey. *Food Chem*, 169, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.134>
- Sheth, S.S., Wasserman, S., Kagan, R., Alizadehfar, R., Primeau, M.-N., Elliot, S., St. Pierre, Y., Wickett, R., Joseph, L., Harada, L., Dufresne, C., Allen, Mary, Allen, Marilyn, Godefroy, S.B., Clarke, A.E., 2010. Role of food labels in accidental exposures in food-allergic individuals in Canada. *Ann. Allergy. Asthma. Immunol.* 104, 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2009.11.008>
- Shewry, PR., & Tatham, AS. (1990). The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem J*, 267(1), 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj2670001>
- Shepherd, S. J., & Gibson, P. R. (2013). Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 26(4), 349-358. DOI: <https://doi.org/10.1111/jhn.12018>
- Silva R P da. (2010) Detecção e quantificação de glúten em alimentos industrializados por técnica de ELISA (Mestrado em Gastroenterologia Clínica). Universidade de São Paulo, São Paulo. <https://doi.org/10.11606/D.5.2010.tde-24112010-164837>
- Silvester, J. A., Weiten, D., Graff, L. A., Walker, J. R., & Duerksen, D. R. (2016). Is it gluten-free? Relationship between self-reported gluten-free diet adherence and knowledge of gluten content of foods. *Nutrition*, 32(7-8), 777–783. DOI:10.1016/j.nut.2016.01.021
- Singh, P., Arora, A., Strand, T.A., Leffler, D.A., Catassi, C., Green, P.H., Kelly, C.P., Ahuja, V., Makharia, G.K. (2018). Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 16, 823-836.e2. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.06.037>
- Singh, A., & Kumar, P. (2018). Gluten free approach in fat and sugar amended biscuits: A healthy concern for obese and diabetic individuals. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(3), e13546. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13546>
- Singh, J., & Whelan, K. (2011). Limited availability and higher cost of gluten-free foods. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 24(5), 479-486. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2011.01160.x>
- Skjerning, H., Hourihane, J., Husby, S., & DunnGalvin, A. (2017). A comprehensive questionnaire for the assessment of health-related quality of life in coeliac disease (CDQL). *Quality of Life Research*, 26(10), 2831-2850. DOI: [10.1007/s11136-017-1632-3](https://doi.org/10.1007/s11136-017-1632-3)

- Smulders, M. J. M., van de Wiel, C. C. M., van den Broeck, H. C., van der Meer, I. M., Israel-Hoewelaken, T. P. M., Timmer, R. D., ... Gilissen, L. J. W. J. (2018). Oats in healthy gluten-free and regular diets: A perspective. *Food Research International*, 110, 3–10. DOI:10.1016/j.foodres.2017.11.031
- Soares, P., Sande Lemos, P., Maria Pires, A., & Cláudia Cavaco de Sousa, A. (2017). Celiac Disease and Gluten-free Diet in Portuguese Children – An Anthropometric Marker Contribution Assessment. *Int J Celiac Dis*, 5(2), 62-8. Doi: 10.12691/ijcd-5-2-5.
- Soon, J. M. (2019). Food allergen knowledge, attitude and practices among UK consumers: A structural modelling approach. *Food Research International*, 120, 375-381.
- Soon, J. M., & Baines, R. N. (2012). Food safety training and evaluation of hand washing intention among fresh produce farm workers. *Food Control*, 23(2), 437-448. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.08.012
- Stevens, L., & Rashid, M. (2008). Gluten-free and regular foods: a cost comparison. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*, 69(3), 147-150. DOI: <https://doi.org/10.3148/69.3.2008.147>
- Storsrud, S., Malmheden Yman, I., & Lenner, R.A. (2003). Gluten contamination in oat products and products naturally free from gluten. *Eur Food Res Technol*, 217, 481–485. DOI:10.1007/s00217-003-0786-0
- Sumnu, G., Koksel, F., Sahin, S., Basman, A., et al. (2009). The effects of xanthan and guar gums on staling of gluten-free rice cakes baked in different ovens: Staling of gluten-free rice cakes. *Int J Food Sci Technol*, 45(1), 87-93. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02107.x>
- Taylor, S.L., Hefle, S.L. (2006). Food allergen labeling in the USA and Europe. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 6, 186–190. <https://doi.org/10.1097/01.all.0000225158.75521.ad>
- The World Bank, World Bank Country and Lending Groups. Available at: <https://data.worldbank.org/income-level/low-and-middle-income>. (Accessed 15/06/2020)
- Thaivalappil, A., Waddell, L., Greig, J., Meldrum, R., & Young, I. (2018). A systematic review and thematic synthesis of qualitative research studies on factors affecting safe food handling at retail and food service. *Food Control*, 89, 97-107. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.028>
- Theunissen, N. C. M., Vogels, T. G. C., Koopman, H. M., Verrips, G. H. W., Zwinderman, K. A. H., Verloove-Vanhorick, S. P., & Wit, J. M. (1998). The proxy problem: child report versus parent report in health-related quality of life research. *Quality of Life Research*, 7(5), 387-397. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008801802877>
- Thompson, T. (2003). Oats and the gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(3), 376–379. DOI: 10.1053/jada.2003.50044
- Thompson, T. (2004). Gluten Contamination of Commercial Oat Products in the United States. *N Engl J Med*, 351, 2021–2022. <https://doi.org/10.1056/NEJM200411043511924>
- Thompson, T., Dennis, M., & Emerson, L. (2018). Gluten-Free Labeling: Are Growth Media Containing Wheat, Barley, and Rye Falling through the Cracks?. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 118(11), 2026-2028. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jand.2017.07.004>
- Thompson, T., Lee, A. R., & Grace, T. (2010). Gluten contamination of grains, seeds, and flours in the United States: a pilot study. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 937-940. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.03.014>
- Tunisian standard. (2008). the Tunisian standard 15.23 (revised on 2008) on the labelling and presentation of prepackaged foodstuffs.

- Turner, P. J., & Gowland, M. H. (2016). Precautionary Allergy Labelling: NO MORE TRACES!. *Allergy*, 71(10):1505-1507. DOI: 10.1111/all.12961
- Unklesbay, N. A. N., Sneed, J., & Toma, R. (1998). College students' attitudes, practices, and knowledge of food safety. *Journal of Food Protection*, 61(9), 1175-1180. DOI:10.4315/0362-028x-61.9.1175
- Unusan, N. (2007). Consumer food safety knowledge and practices in the home in Turkey. *Food control*, 18(1), 45-51. DOI : 10.1016/j.foodcont.2005.08.006
- U.S-Code. (2004). Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004 (Public Law 108-282, Title II). Retrieved 14 February, 2017, from <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Allergens/ucm106187.htm>.
- US Food and Drug Administration, Federal Register. (2013). "Document 78 FR 47154: Food Labeling; Gluten-Free Labeling of Foods; Final Rule", Available at: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2013-08-05/pdf/2013-18813.pdf> (accessed October 2019)
- 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. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 15(5), 465-747. DOI: 10.1097/01.meg.0000059119.41030.df
- Valletta, E., Fornaro, M., Cipolli, M., Conte, S., Bissolo, F., & Danchielli, C. (2010). Celiac disease and obesity: need for nutritional follow-up after diagnosis. *Eur J Clin Nutr*, 64(11),1371-2. Doi: 10.1038/ejcn.2010.16
- Vincentini, O., Izzo, M., Maialetti, F., Gonnelli, E., Neuhold, S., & Silano, M. (2016). Risk of cross-contact for gluten-free pizzas in shared-production restaurants in relation to oven cooking procedures. *Journal of food protection*, 79(9), 1642-1646.
- van der Windt, D. A., Jellema, P., Mulder, C. J., Kneepkens, C. F., & van der Horst, H. E. (2010). Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. *Jama*, 303(17), 1738-1746. DOI:10.1001/jama.2010.549
- Vandenplas, Y., AlFrayh, A.S., AlMutairi, B., Elhalik, M.S., Green, R.J., Haddad, J., Koshak, E.A., Miqdady, M., Mouane, N., Salah, M., Samy, G., Tavakol, M., von Berg, A., Szajewska, H. (2017). Physician practice in food allergy prevention in the Middle East and North Africa. *BMC Pediatr*. 17, 118. <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0871-3>
- Van der Pals, M., Myléus, A., Norström, F., Hammarroth, S., Högborg, L., Rosén, A., Ivarsson, A., & Carlsson, A. (2014). Body mass index is not a reliable tool in predicting celiac disease in children. *BMC Pediatr*, 14 (1), 165. Doi: 10.1186/1471-2431-14-165.
- van Doorn, R. K., Winkler, L. M., Zwinderman, K. H., Mearin, M. L., & Koopman, H. M. (2008). CDDUX: a disease-specific health-related quality-of-life questionnaire for children with celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 47(2), 147-152. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31815ef87d
- Van Eckert, R., Bond, J., Rawson, P., Klein, C. L., Stern, M., & Jordan, T. W. (2010). Reactivity of gluten detecting monoclonal antibodies to a gliadin reference material. *Journal of Cereal Science*, 51(2), 198-204. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.11.012>
- Varni, J. W., Burwinkle, T. M., Seid, M., & Skarr, D. (2003). The PedsQL™\* 4.0 as a pediatric population health measure: feasibility, reliability, and validity. *Ambulatory pediatrics*, 3(6), 329-341.

DOI: [https://doi.org/10.1367/1539-4409\(2003\)003<0329:TPAAPP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1367/1539-4409(2003)003<0329:TPAAPP>2.0.CO;2)

- Vasava, N. M., Paul, P., & Pinto, S. (2018). Effect of storage on Physico-Chemical, sensory and microbiological quality of gluten-free gulabjamun. *Pharma Innov J*, 7(6), 612-619.
- Venkatasubramani, N., Telega, G., & Werlin, S.L. (2010). Obesity in Pediatric Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 51(3), 295-7. Doi: [10.1097/MPG.0b013e3181d1365a](https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181d1365a)
- Verdu, E.F., Galipeau, H.J., Jabri, B. (2015). Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12, 497-506. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.90>
- Verma, A. K., Gatti, S., Galeazzi, T., Monachesi, C., Padella, L., Baldo, G. D., ... & Catassi, C. (2017). Gluten contamination in naturally or labeled gluten-free products marketed in Italy. *Nutrients*, 9(2), 115. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu9020115>.
- VERRIPS, E. G., VOGELS, T. G., KOOPMAN, H. M., THEUNISSEN, N. C., KAMPHUIS, R. P., FEKKES, M., & VANHORICK, S. P. V. (1999). Measuring health-related quality of life in a child population. *The European Journal of Public Health*, 9(3), 188-193
- Vici, G., Belli, L., Biondi, M., & Polzonetti, V. (2016). Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clinical Nutrition*, 35(6), 1236-1241. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.05.002>
- Vogels, T., Verrips, G. H. W., Verloove-Vanhorick, S. P., Fekkes, M., Kamphuis, R. P., Koopman, H. M., & Wit, J. M. (1998). Measuring health-related quality of life in children: the development of the TACQOL parent form. *Quality of life research*, 7(5), 457-465. DOI: [10.1023/a:1008848218806](https://doi.org/10.1023/a:1008848218806)
- von Hippel, P. T. (2015). The heterogeneity statistic  $I^2$  can be biased in small meta-analyses. *BMC medical research methodology*, 15(1), 1-8.
- Wagner, G., Berger, G., Sinnreich, U., Grylli, V., Schober, E., Huber, W. D., & Karwautz, A. (2008). Quality of life in adolescents with treated coeliac disease: influence of compliance and age at diagnosis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 47(5), 555-561. DOI: [10.1016/s0084-3954\(09\)79423-0](https://doi.org/10.1016/s0084-3954(09)79423-0)
- Ware Jr, J. E., & Sherbourne, C. D. (1992). The MOS 36-item short-form health survey (SF-36): I. Conceptual framework and item selection. *Medical care*, 473-483.
- Weisbrod, V. M., Silvester, J. A., Raber, C., McMahon, J., Coburn, S. S., & Kerzner, B. (2020). Preparation of gluten-free foods alongside gluten-containing food may not always be as risky for celiac patients as diet guides suggest. *Gastroenterology*, 158(1), 273.
- Westrell, T., Schönning, C., Stenström, T.A., Ashbolt, N.J. (2004). QMRA (quantitative microbial risk assessment) and HACCP (hazard analysis and critical control points) for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse. *Water Sci Technol*, 50, 23-30. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0079>
- White, L. E., Bannerman, E., & Gillett, P. M. (2016). Coeliac disease and the gluten-free diet: a review of the burdens; factors associated with adherence and impact on health-related quality of life, with specific focus on adolescence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 29(5), 593-606. DOI: [10.1111/jhn.12375](https://doi.org/10.1111/jhn.12375)
- WHOQOL Group. (1994). Development of the WHOQOL: Rationale and current status. *International Journal of Mental Health*, 23(3), 24-56. DOI: <https://doi.org/10.1080/00207411.1994.11449286>
- WHO. (2003). Food safety issues : Gems/food regional diets (pp. 1e27). World Health Organization. (s. d.).
- WHO. (2015). Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases. Available at : <https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>.

- WHO. (2017). Food safety: Key facts. Available at : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
- World Health Organization (Éd.). (2015). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. World Health Organization.
- WHO. Utilisation et interprétation de l'anthropométrie : rapport d'un comité OMS d'experts. Genève ; 1995. 498 p. (OMS, série de rapports techniques / Organisation Mondiale de la Santé).
- WHO. (1978). A Growth chart for International Use in Maternal and Child Health Care: Guidelines for Primary Health Care Personnel. Geneva: World Health Organization (WHO).
- WHO. (2003). Food safety issues: Gems/food regional diets (pp. 1e27). World Health Organization.
- WHO. (2007). Food safety and foodborne illness. Fact sheet No. 237, available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/index.html> Accessed 18.04.10.
- WHO. (2007). Who estimates of the global burden of foodborne diseases? Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. Available at: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf)
- WHO. Working Group. (1986). Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. Bull World Health Organ, 64(6), 929-41.
- WHO. (2015). Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases. Available at: <https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>
- WHO. (2017). Food safety: Key facts. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
- World Health Organization. (2019 a). Child growth standards, The WHO Child Growth Standards. available at: <http://www.who.int/childgrowth/standards/en/> (accessed October 2020).
- World Health Organization. (2019 b). Growth reference data for 5-19 years. Available at: <http://www.who.int/growthref/en/> (accessed October 2020)
- World Health Organization. (2019 c). Child growth standards, WHO Anthro Survey Analyser and other tools. Available at: <https://www.who.int/childgrowth/software/en/> (accessed October 2020).
- WHO. Working Group. (1986). Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. Bull World Health Organ, 64(6), 929-41.
- WHO. Health statistics and information systems. (2019). <https://www.who.int/healthinfo/survey/whoqol-qualityoflife/en/>. Accessed 30 October 2019
- Wiebe, S., Guyatt, G., Weaver, B., Matijevic, S., & Sidwell, C. (2003). Comparative responsiveness of generic and specific quality-of-life instruments. *Journal of clinical epidemiology*, 56(1), 52-60.  
DOI: 10.1016/s0895-4356(02)00537-1
- Więch, P., Chmiel, Z., Bazaliński, D., Sałacińska, I., Bartosiewicz, A., Mazur, A., ... Dąbrowski, M. (2018). The Relationship between Body Composition and a Gluten Free Diet in Children with Celiac Disease. *Nutrients*, 10(11), 1817. DOI:10.3390/nu10111817
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food microbiology*, 24(2), 115-119.  
DOI: 10.1016/j.fm.2006.07.004



- Wieser, H., & Koehler, P. (2008). The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chemistry*, 85(1), 1-13. DOI: [10.1094/CCHEM-85-1-0001](https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-1-0001)
- Wong, R. C., Steele, R. H., Reeves, G. E., Wilson, R. J., Pink, A., & Adelstein, S. (2003). Antibody and genetic testing in coeliac disease. *Pathology*, 35(4), 285-304. DOI: [10.1080/00313020410001692693](https://doi.org/10.1080/00313020410001692693)
- World Health Organization. (2019 a). Child growth standards, The WHO Child Growth Standards. available at: <http://www.who.int/childgrowth/standards/en/> (accessed October 2019).
- World Health Organization. (2019 b). Growth reference data for 5-19 years. Available at: <http://www.who.int/growthref/en/> (accessed October 2019)
- World Health Organization. (2019 c). Child growth standards, WHO Anthro Survey Analyser and other tools. Available at: <https://www.who.int/childgrowth/software/en/> (accessed October 2019).
- Wu, JHY., Neal, B., Trevena, H., et al. (2015). Are gluten-free foods healthier than non-gluten-free foods? An evaluation of supermarket products in Australia. *Br J Nutr*, 114(03), 448-454. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114515002056>
- Xhakollari, V., Canavari, M., & Osman, M. (2019). Factors affecting consumers' adherence to gluten-free diet, a systematic review. *Trends Food Sci Technol*, 85, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.005>
- Yacavone, R. F., Locke III, G. R., Provenzale, D. T., & Eisen, G. M. (2001). Quality of life measurement in gastroenterology: what is available?. *The American journal of gastroenterology*, 96(2), 285-297. DOI: [10.1111/j.1572-0241.2001.03509.x](https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03509.x)
- Young, I., Waddell, L. A., Wilhelm, B. J., & Greig, J. (2020). A systematic review and meta-regression of single group, pre-post studies evaluating food safety education and training interventions for food handlers. *Food Research International*, 128, 108711.
- Young, I., Reimer, D., Greig, J., Turgeon, P., Meldrum, R., & Waddell, L. (2017). Psychosocial and health-status determinants of safe food handling among consumers: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 78, 401-411.
- Yu, H., Gibson, K. E., Wright, K. G., Neal, J. A., & Sirsat, S. A. (2017). Food safety and food quality perceptions of farmers' market consumers in the United States. *Food Control*, 79, 266-271. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.010>
- Zeltner, D., Glomb, M. A., & Maede, D. (2009). Real-time PCR systems for the detection of the gluten-containing cereals wheat, spelt, kamut, rye, barley and oat. *European Food Research and Technology*, 228(3), 321-330. DOI: [10.1007/s00217-008-0937-4](https://doi.org/10.1007/s00217-008-0937-4)
- Zingone, F., Iavarone, A., Tortora, R., Imperatore, N., Pellegrini, L., Russo, T., et al. (2013). The Italian translation of the celiac disease-specific quality of life scale in celiac patients on gluten free diet. *Digestive and Liver Disease*, 45(2), 115-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2012.10.018>
- Zugna, D., Richiardi, L., Akre, O., Stephansson, O., & Ludvigsson, J. F. (2010). A nationwide population-based study to determine whether coeliac disease is associated with infertility. *Gut*, 59(11), 1471-1475. DOI: [10.1016/j.yobg.2011.05.068](https://doi.org/10.1016/j.yobg.2011.05.068)
- Zuccotti, G., Fabiano, V., Dilillo, D., Picca, M., Cravidi, C., & Brambilla, P. (2013). Intakes of nutrients in Italian children with celiac disease and the role of commercially available gluten-free products. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 26(5), 436-444. DOI: <https://doi.org/10.1111/jhn.12026>

- Zuidmeer, L., Goldhahn, K., Rona, R. J., Gislason, D., Madsen, C., Summers, C., et al. (2008). The prevalence of plant food allergies: a systematic review. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121(5), 1210-1218. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.02.019>
- Zurzolo, G.A., Koplin, J.J., Mathai, M.L., Tang, M.K.L., Allen, K.J., 2013a. Perceptions of precautionary labelling among parents of children with food allergy and anaphylaxis. *Med. J. Aust.* 198, 621–623. <https://doi.org/10.5694/mja12.11669>
- Zurzolo, G.A., Mathai, M.L., Koplin, J.J., Allen, K.J., 2013b. Precautionary allergen labelling following new labelling practice in Australia: Precautionary allergen labelling. *J. Paediatr. Child Health* 49, E306–E310. <https://doi.org/10.1111/jpc.12138>
- Zysk, W., Głąbska, D., & Guzek, D. (2018). Social and emotional fears and worries influencing the quality of life of female celiac disease patients following a gluten-free diet. *Nutrients*, 10(10), 1414. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10101414>