

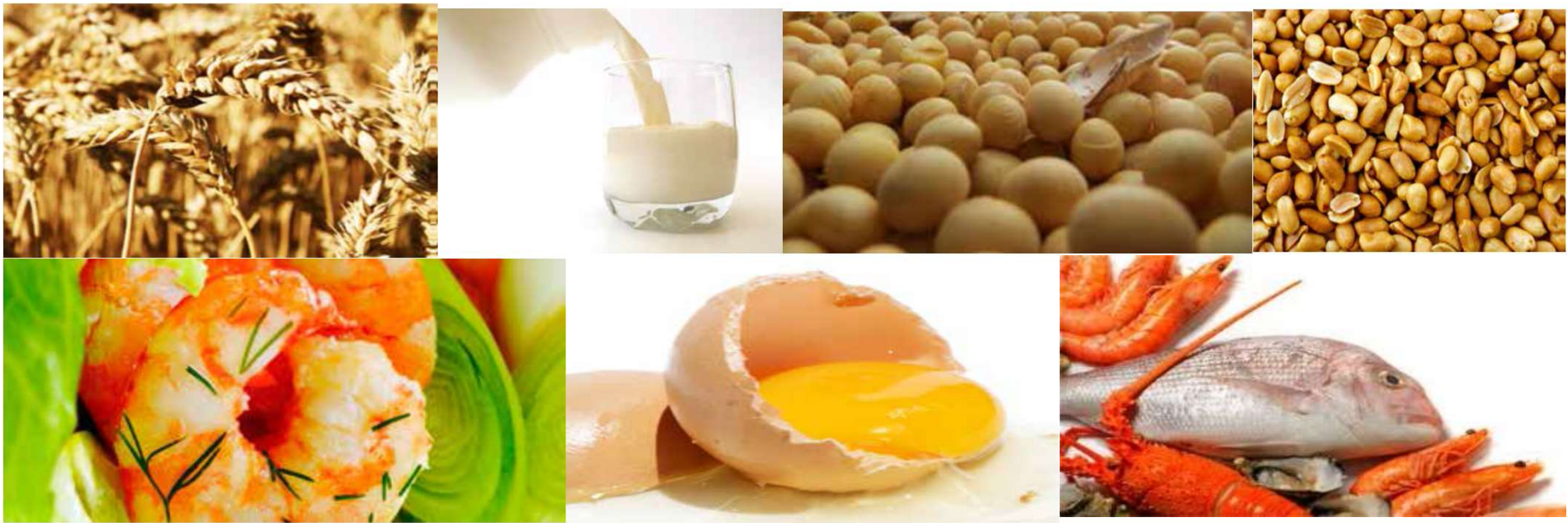
Alergênicos - Metodologia ELISA

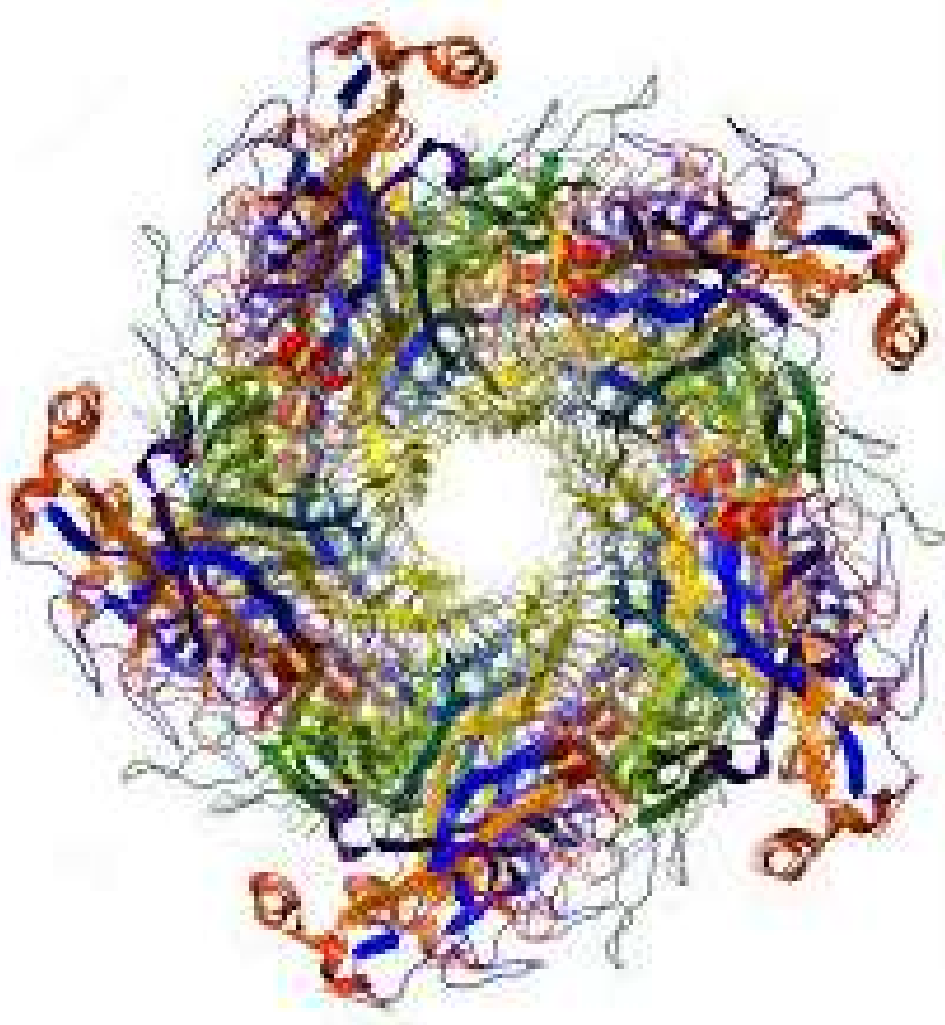
Junho 2020

-
- **O que são alérgenos e onde encontrá-los**
 - **Métodos analíticos/ ELISA limitações e desafios**
 - **Alergênicos x Métodos x Legislação x Adequação da Indústria**

Alérgenos: O que são e onde encontrá-los? eurofins

- **Alérgenos Alimentar:** qualquer proteína (modificadas ou frações proteicas) derivada dos principais alimentos que causam alergias alimentares
- **Principais alérgenos são:**

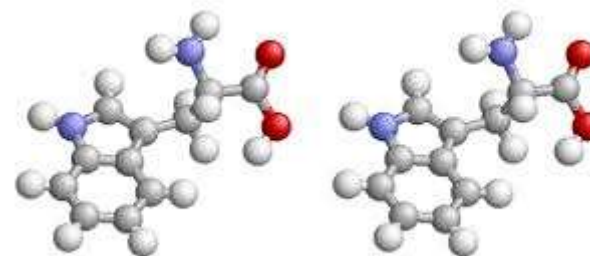




PROTEÍNA

- Leite – Alfa-lactoalbumina, beta-lactoglobulina e caseína
- Ovo – Ovoalbumina (clara do ovo)
- Trigo – Glúten (gliadin-trigo, hordeína-cevada e a secalina centeio)
- Ostras – Tropomiosina
- Peixe – Parvalbumina
- Amêndoas – vicilinas e leguminas
- Soja – Proteínas da Soja (P34)

Todas estas moléculas são Proteínas

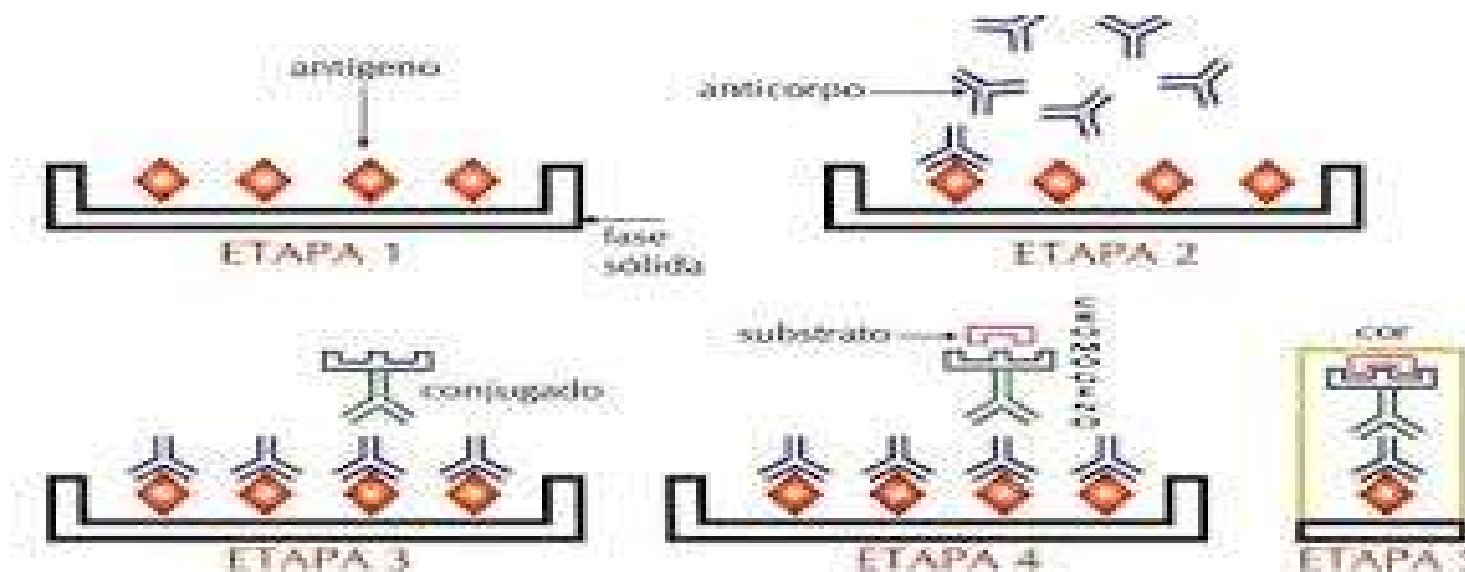


- **ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) -> método molecularbiológico-imunológico: plate e rápido**
- **Métodos rápidos -> swab e fita**
- **PCR (Polymerase Chain Reaction) -> molecularbiológico (DNA)**
- **LC MS/MS (Mass Spectrometry Systems)-> Espectrometria de Massa.**



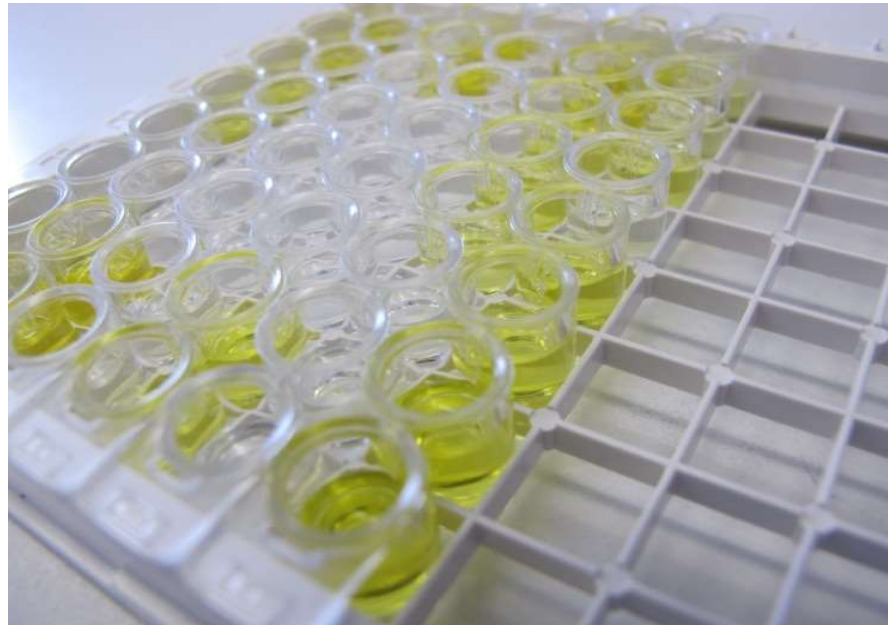
Alergênicos: Método ELISA (Plate)

- Antígeno x anticorpo
- O antígeno já está na placa e utiliza anticorpos específicos para a proteína alérgeno alvo, um anticorpo liga-se diretamente à proteína e anticorpos adicionais (conjugado e substrato) geram um sinal colorimétrico



Alergênicos: Método ELISA (Plate)

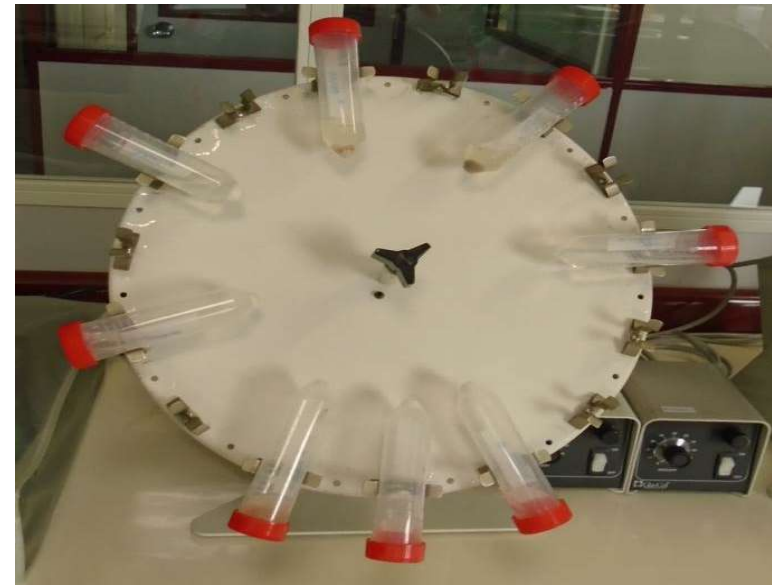
- Uma curva padrão contendo quantidades conhecidas de proteína alérgeno é utilizado para quantificar a amostra, medindo a absorbância (450nm)



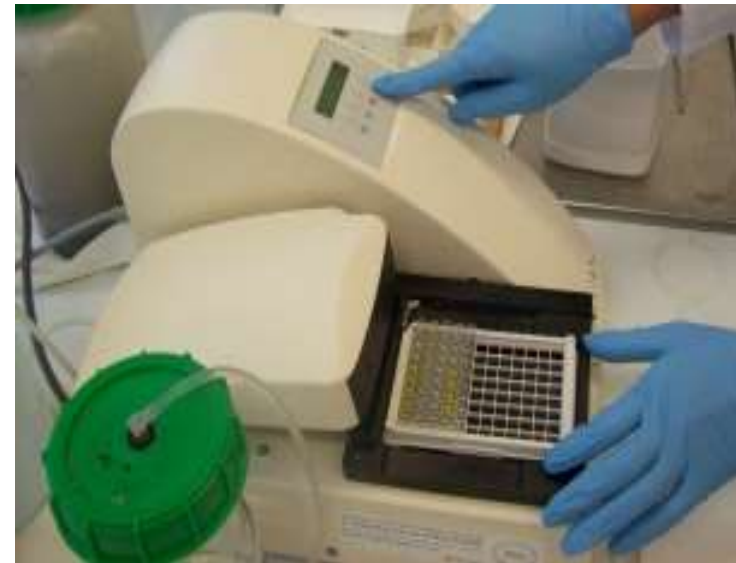
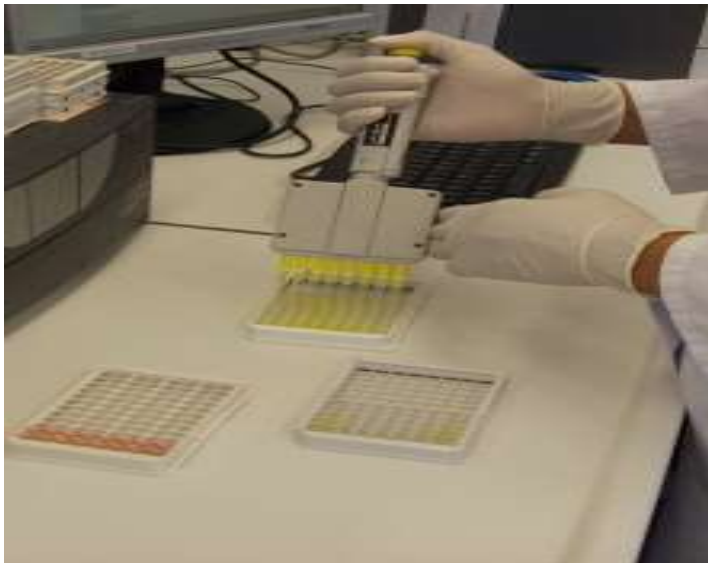
Metodologia ELISA: Pesagem



Metodologia ELISA: Extração



Metodologia ELISA: Placa e Leitura



Alergênicos ELISA : *swab* e água de lavagem



ELISA

Glúten
Ovo
Soja
Leite

Validação da linha para a avaliação de limpeza de processo:

- **Água de lavagem**
- ***Swab* de superfície**

Alergênicos: Matrizes validadas para ELISA



MATRIZES VALIDADAS PARA OS KITS DE ALERGÊNICOS	
ALERGÊNICOS GLÚTEN	Contaminações por prolaminas de trigo (gliadina), centeio (secalina) e cevada (hordeína) em produtos como farinhas (arroz, milho, aveia, trigo mourisco) e especiarias, bem como em alimentos processados como macarrão, refeições prontas, produtos de panificação, embutidos, bebidas e sorvetes.
ALERGÊNICOS LEITE	Amostras que podem conter soro de leite, leite ou leite em pó, em alimentos, como salsicha, sorvete, chocolate, produtos de padaria, misturas para pães ou bolos, sopas, molhos, sucos, vinhos e cervejas.
ALERGÊNICOS OVO	Amostras de ovo integral desidratado em alimentos, como: macarrão, molhos, salsicha, vinho, misturas de panificação para bolos e pães e sorvetes.
ALERGÊNICOS SOJA	Proteína natural ou processada em alimentos, como: sucos, vinho, cerveja, salsicha, molhos, produtos assados, sorvetes, chocolate, sopas e margarina.

- Um alergênico/teste

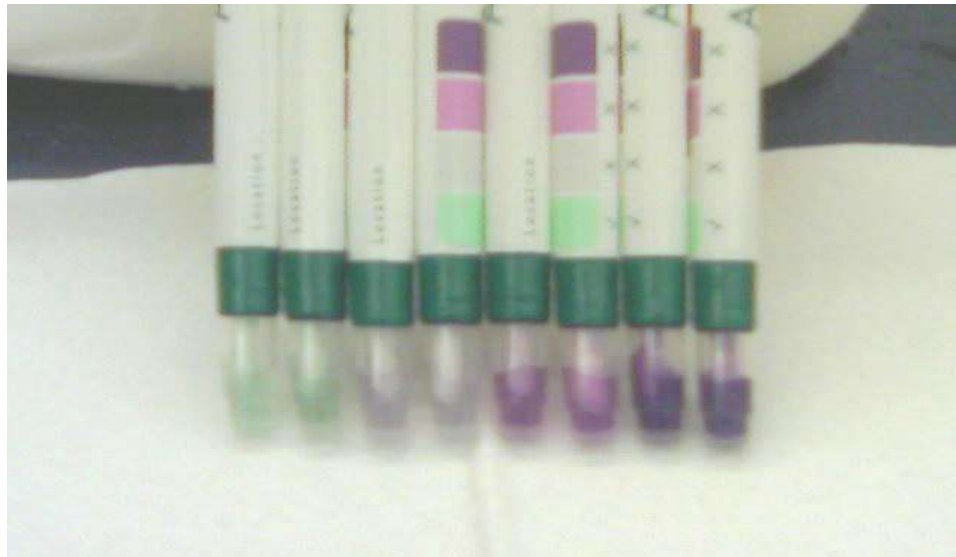
Amostras:

- Processadas à altas temperaturas (desnaturação da proteína)
- pH ácido
- Presença de taninos
- Presença de compostos fenólicos

- **Teste rápido**
- **Baixo LOD**
- **Kits prontos para utilizar**
- **Custos e investimentos baixos**
- **Método de rotina / Automatização possível**
- **Permite detectar o alergênico de forma específica**



- **Coleta Swab**



- Testes rápidos
- Teste:

Duas linhas: Positivo

Uma linha: Negativo



- **Saúde pública - estudos estimam que alergias alimentares afetam 2% da população adulta e até 10% entre as crianças.**

Resolução ANVISA/DC Nº 26 DE 02/07/2015

Publicado no DO em 3 jul 2015

Dispõe sobre os requisitos para rotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergias alimentares.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe conferem os incisos III e IV, do art. 15 da Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, inciso V e §§ 1º e 3º do art. 5º do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 650 da ANVISA, de 29 de maio de 2014, publicada no DOU de 02 de junho de 2014, tendo em vista o disposto nos incisos III, do art. 2º, III e IV, do art. 7º da Lei nº 9.782, de 1999, e o Programa de Melhoria do Processo de Regulamentação da Agência, instituído por meio da Portaria nº 422, de 16 de abril de 2008, em reunião realizada em 24 de junho de 2015, adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente Substituto, determino a sua publicação:

- **Dados internacionais:**

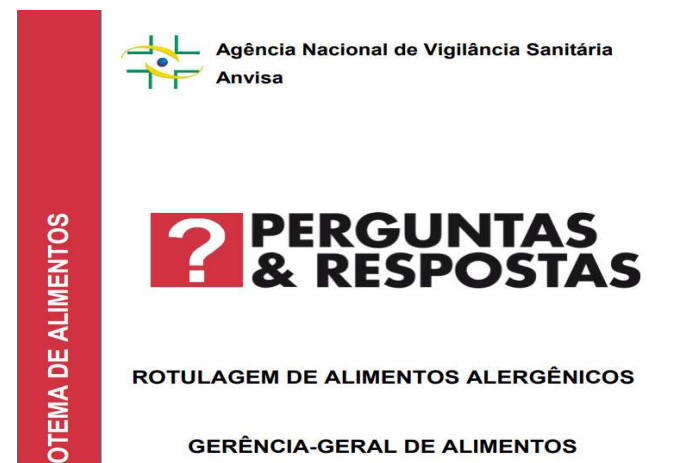
170 alimentos identificados como alergênicos

90% casos são por 8 alimentos: ovo, leite, peixe, crustáceos, castanhas, amendoim, trigo e soja

Principal preocupação alergias é a anafilaxia, cerca de 30 a 50% dos casos são causados por alimentos

- **Regulamentação veio para saúde e melhoria na qualidade de vida dos indivíduos**
- **Rotulagem ter uma linguagem padrão e acessível a toda a população**

- Indústria produtora de alimentos - BPF/ Anvisa



- **Etapa Crítica para Controle**



- Aspectos Relevantes para Controle





- **Laboratórios analíticos - ISO 17025:**

Duplicata

Curvas e padrões

Verificações diárias

Manutenções preventivas e calibrações de equipamentos

Obrigada pela atenção!!!

Cristina I. B. Guaragni

cristinaguaragni@eurofins.com

54-3388-3232