deltalab

member of SCGP

Seguridad alimentaria: soluciones moleculares para alérgenos

2023

Grupo Deltalab ¿Quiénes somos?

Deltalab es un fabricante líder de consumibles y uno de los mayores agentes del sector a nivel mundial. La empresa se fundó en 1976, con sede en Rubí (Barcelona), está presente en más de 125 países y cuenta con unos 900 distribuidores en todo el mundo.

El Grupo Deltalab ha desarrollado el know-how y la experiencia necesarios para proporcionar soluciones completas en los campos de la Sanidad, la Industria Alimentaria y las Ciencias de la Vida, tanto a nivel nacional como internacional.

La compañía ha ido creciendo desde entonces, adquiriendo empresas enfocadas a mercados estratégicos, **con el objetivo de ser un proveedor global de soluciones para cualquier tipo de laboratorio.**

deltalab
member of SCGP

Grupo Deltalab ¿Quiénes somos?

deltalab

- Established in 1976
- Market leader in consumables
- Sector: Laboratory
- Market: Worldwide

nirco
Diagnóstico & Investigación

- Established in 1978
- Equipment, reagents and plastic.
- Sector: Clinical Diag, Life Sc. & Industry
- Market: Spain and Portugal

equilabo
Global Lab Solutions

- Established in 2010
- Equipment, reagents, consumables
- Sector: Food Industry & Animal Health
- Market: Spain and Portugal

Sanilabo
Sanitaria de laboratorio

- Established in 1990
- Equip, reagents & consumables
- Sector: Clinical Diagnostic & Industry
- Market: Spain

deltalab
member of SCGP

Portfolio principal Industria

Carlos Jimenez
carlos.jimenez@deltalabgroup.com

Product Manager
Microbiología alimentaria y seguridad alimentaria

Bio-Rad
qPCR y microbiología

Neogen
Adulteración y seguridad alimentaria

Unisensor
Kits detección de antibióticos

Generon
qPCR y microbiología

Biosystems
Análisis químico y enzimático

Panreac
Reactivo químico

Don Withley
Cabinas de anaerobiosis

NuAire
Cabinas de bioseguridad, ultracongeladores

deltalab
member of SCGP

Alérgenos: Visión General

Para la mayoría de los alérgenos no existe un umbral específico, por lo que deben considerarse contaminantes traza. La posibilidad de la presencia de trazas de alérgenos conlleva la necesidad de analizarlos de todos modos a pesar de que no hay una indicación clara sobre el uso de la técnica disponible más sensible.

Alérgenos alimentarios incluidos en EU 2003/89/CE y 2006/142/CE son:

- Cereales que contengan gluten
- Crustáceos,
- Moluscos
- Huevos
- Pescado
- Soja
- Cacahuete
- Leche, productos lácteos y lactosa
- Frutas con cáscara: nueces, nuez, cacahuetes, etc
- Apio
- Mostaza
- Sésamo
- Dióxido de azufre con una concentración por encima de 10 mg / kg

Desde la "Allergen Directive" tratada en UE (2003/89/EC, 006/142/CE), todos los productos alimentarios del mercado tienen que etiquetar la presencia (independientemente del porcentaje) de las sustancias alergénicas

deltalab
member of SCGP

¿Por qué es necesario analizar alérgenos?

El sector alimentario está sujeto a la obligación por ley de producir alimentos seguros para los consumidores (art.14 Reg. CE nº 178/2002).

En lo que se refiere a los alérgenos, el sector alimentario debe cumplir esta obligación de la siguiente manera:

i) Etiquetando los productos alimenticios para informar a los consumidores de la presencia de alérgenos

deltalab
member of SCGP

¿Por qué testar alimentos que contienen alérgenos?

¿Son los alérgenos no declarados un peligro alimentario?

RIESGO grave de seguridad alimentaria

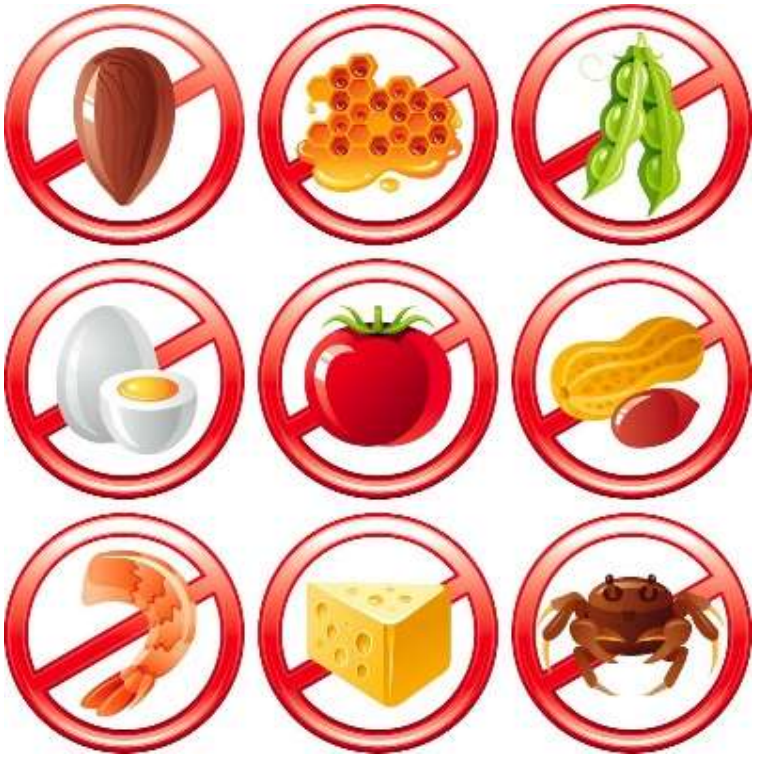
Consecuencias muy negativas si no se gestiona adecuadamente

Consecuencias

- Daños sobre la salud de los consumidores
- Problemas con la autoridad sanitaria
- Daños económicos
  - Retirada/recuperación de producto
  - Pérdida de clientes
  - Demandas judiciales
- Pérdida del valor de la Marca y de la compañía

deltalab
member of SCGP

Primeros problemas…



La industria alimentaria debe hacer frente a diferentes problemas debido a la gestión del riesgo alergénico:

1. La falta de **orientación normativa** acerca de los valores límite (a excepción de gluten) y el nivel máximo del consumo diario.

2. La falta de **métodos analíticos aprobados** para identificar alérgenos.

deltalab
member of SCGP

Los alérgenos ocultos

La mayoría de los casos de reacciones alérgicas graves en los alimentos y muertes se deben a alérgenos ocultos o la inesperada presencia de un alérgeno en un alimento causado por:

- Un ingrediente inusual.

- La presencia de alérgenos no indicados en la lista de ingredientes.

- El traspaso o contaminación cruzada durante tratamiento o transporte.

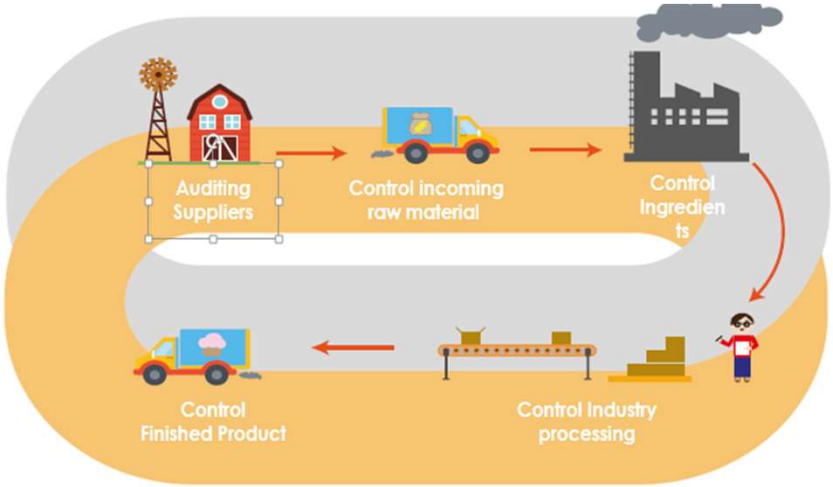
deltalab
member of SCGP

Detección de alérgenos

En el alto rendimiento industrial moderno y el procesamiento automatizado de alimentos, los alérgenos se están convirtiendo en un problema cada vez más importante para la seguridad alimentaria. La presencia de alérgenos ocultos puede deberse a dos razones principales:

- **el uso de líneas de procesamiento para múltiples productos durante la fabricación y el envasado;**
- **el uso de ingredientes patentados que derivan de materias primas alergénicas.**

Por lo tanto, cuando un alimento se encuentra contaminado por un alérgeno que no fue declarado en la etiqueta, el mercado es inmediatamente alertado y el lote se retira inmediatamente.



Reducir a cero el riesgo de la presencia no intencional de alérgenos puede ser definitivamente desafiante y costoso, por lo que muchas empresas recurren al "etiquetado defensivo" utilizando un lenguaje como "podría contener trazas de ...". Vale la pena señalar que el etiquetado defensivo no puede evitar tener un plan de control de alérgenos en su lugar.

deltalab
member of SCGP

Detección de alérgenos. ¿Qué estrategia?

Los alérgenos pueden detectarse con estrategias diferentes:

- ✓ ***Directa Específica,*** análisis para identificar la molécula (o parte de ella) responsable de la alergia o intolerancia. ELISA o Lateral Flow

- ✓ ***Directa No Específica,*** análisis para identificar una proteína diferente a la responsable de la alergia o intolerancia alimentaria, pero perteneciente a la misma especie animal o vegetal. ELISA o Lateral Flow

- ✓ ***Indirecta,*** análisis para detectar la presencia de ADN de la especie que produce la proteína alergénica.

deltalab
member of SCGP

Métodos oficiales

EN 15633-1:2009 This European Standard provides the overall framework of qualitative and quantitative methods for the determination of allergens and allergenic ingredients in foodstuffs ***using antibody-based methods***. This European Standard specifies general guidelines and performance criteria for antibody-based methods for the detection and quantification of proteins that serve as a marker for the presence of allergy provoking foods or food ingredients.

CEN/TS 15633-2:2013
Foodstuffs. Detection of food allergens by immunological methods. Quantitative determination of hazelnut with an enzyme immunoassay using monoclonal antibodies and bicinchoninic acid-protein detection

DIN CEN/TS 15633-3
Foodstuffs - **Detection of food allergens by immunological methods** - Part 3: Quantitative determination of hazelnut with an enzyme immunoassay using polyclonal antibodies and Lowry protein detection

EN 15842:2010 This European Standard specifies how to use the ***standards for immunoassays, nucleic based and chromatographic methods*** and their relationship in the analysis of food allergens; and contains general definitions, requirements and guidelines for laboratory set-up, method validation requirements, description of methods, and test reports.

CEN/TR 16338:2012
Foodstuffs - Detection of food allergens - Template for supplying information about ***immunological methods and molecular biological methods)***

deltalab
member of SCGP

Métodos oficiales

- **EN 15634-1:2009**

Foodstuffs. Detection of food allergens *by molecular biological methods*. General considerations

- **UNI CEN/TS 15634-2:2012**

Foodstuffs - Detection Of Food Allergens By Molecular Biological Methods - Part 2: Celery (Apium Graveolens) - Qualitative Determination Of A Specific Dna Sequence In Cooked Sausages By Real-Time Pcr

- **Nuevas normas UNI EEN para la deteccion de frutos secos en PCR (2016)**

deltalab
member of SCGP

SELECCIÓN DE LOS CRITERIOS DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

¿Cómo sería el método perfecto ...?

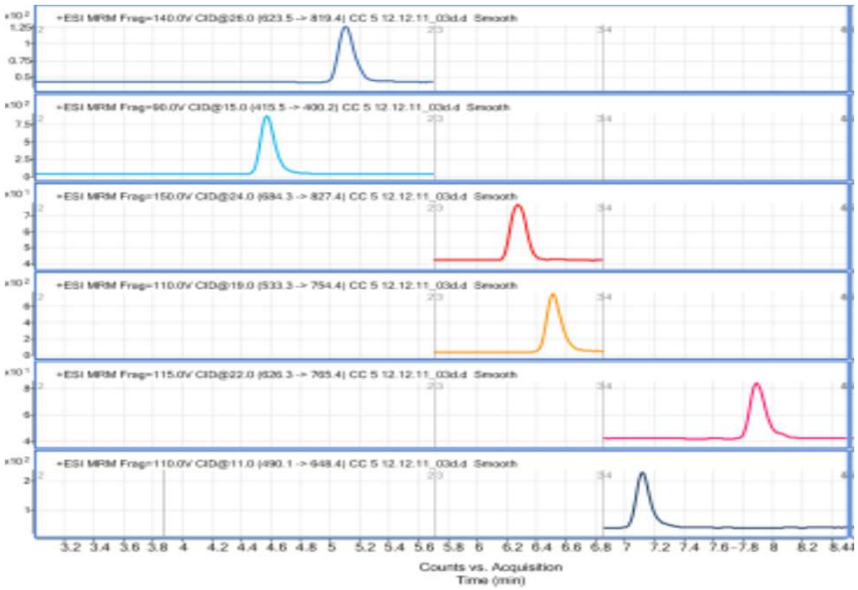
- Aplicable a todos los productos alimenticios procesados o no
- Altamente específico
- Cuantitativo
- Altamente sensibles
- Validado o internacionalmente reconocido.

deltalab
member of SCGP

LC-MS/MS

- El cribado multialergénico por LC-MS/MS permite la reducción de tiempo y coste.
- Cuantificación absoluta.
- Alta sensibilidad.
- No depende del plegamiento correcto de proteínas.
- Menos afectadas por la elaboración de alimentos (cocina).
- Además del estándar interno que proporciona una mayor precisión y fiabilidad.

- **Muy caro en términos de dinero (herramientas) y el tiempo necesario para la puesta en marcha.**



deltalab
member of SCGP

Dispositivos de flujo lateral (LFD)

- Anticuerpo, basado como métodos ELISA
- Normalmente se utiliza para el muestreo ambiental, verificación de limpieza y cribado de los alimentos
- Cualitativo (semi- cuantitativa con un lector)
- Disponible para muchos alérgenos alimentarios.
- El rápido análisis in situ (< 5 min)
- Más barato que el ELISA.
- Suficientemente sensible (LOD ~ 5 ppm)
- Algunos están diseñados solamente para el agua de enjuague pero no para matrices de alimentos.
- Requieren de los métodos de confirmación.

deltalab
member of SCGP

ELISA

ELISA sigue siendo el favorito para la industria alimentaria

- Específico para el alimento alergénico
- Diseños cuantitativos o cualitativos disponibles
- Sensible (LOD ~ 3-5 ppm)
- El tiempo de análisis de 30 minutos a 2 horas en total
- Ahorro de dinero.

deltalab
member of SCGP

PCR vs ELISA:Puntos principales

	ELISA, LFD	PCR
Especificidad	Posible reacción cruzada	Altamente específico
Rapidez	30 minutos	2 horas
Multiscreening	1 Target por placa\tira	Hasta 4 target por pocillo
Muestras complejas	Posibilidad de inhibicion	Inhibicion solucionable por columnas y dilucion
Variabilidad del ambiente	Tiempo y temperatura de ensayo.	Tiempo y temperatura controladas por el equipo
LOD\LOQ	3-5 ppm	0,5-2,5 ppm
Precio equipo	2000-5000 euro	7000-25000 euro
Inhibidores	Inhibidores pueden interferir con los anticuerpos	Matrices pueden llevar inhibidores de la PCR
Procesado	Proteinas desnaturalizadas	DNA mas estable
Estabilidad del extracto	1 dia	Varios años a –20°C
Estabilidad de reactivos	Varios meses a 4°C	Varios meses a –20°C

deltalab
member of SCGP

Problema con los ELISA

Hay ciertos casos en que el método ELISA no debe usarse.
Algunas matrices pueden interferir con el método o pueden causar reactividad cruzada como se ve entre los diferentes tipos de frutos secos.

ALMENDRA=ALBARICOQUE=MELOCOTÓN=CIRUELA

También, este método no es el más adecuado para los productos cocidos o calentados porque las moléculas de la proteína se desnaturalizan o descomponen y el contaminante ya no es detectable, pero puede aún causar problemas a las personas sensibles.

deltalab
member of SCGP

Cuantitativo?

Chocolate

Postre

Pimentón

Producto cárnico

Plato preparado

deltalab
member of SCGP

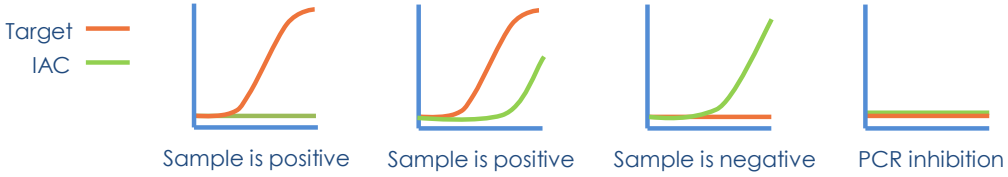
Ventajas PCR: Controles de proceso

- Es posible hacer un control de que se ha extraido ADN utilizando un fluorímetro portátil

- Es posible verificar la amplificación de ADN utilizando un marcador universal presente en los eucariotas

MODIfinder Real-Time PCR GMO detection kit
Universal eukaryotic reference gene (28S)

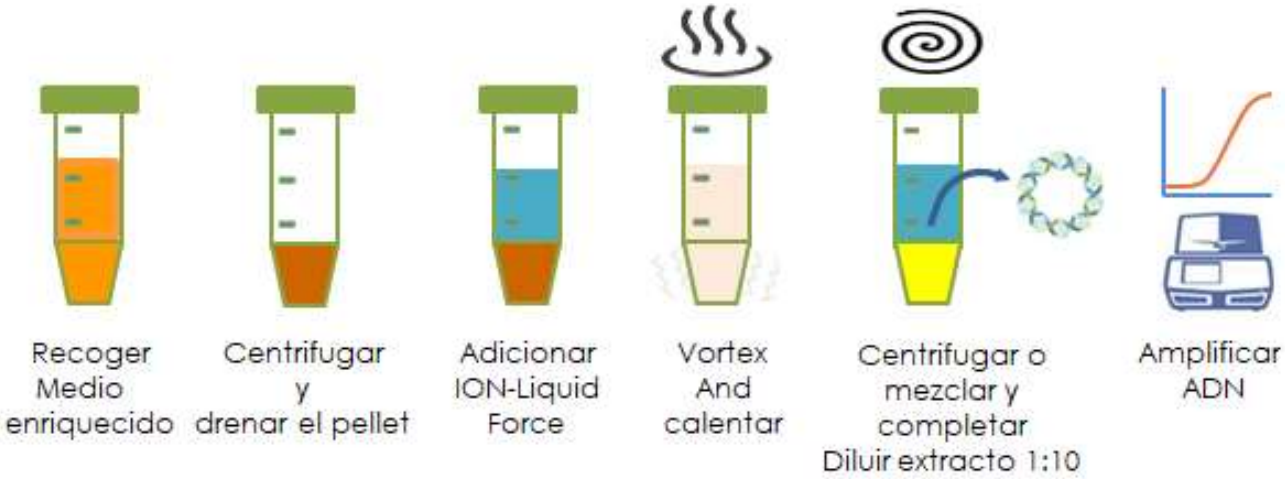
- Todos los kits contienen control interno de amplificación



GENERON
Food Safety in our Genes

deltalab
member of SCGP

ION-Force kit extracción



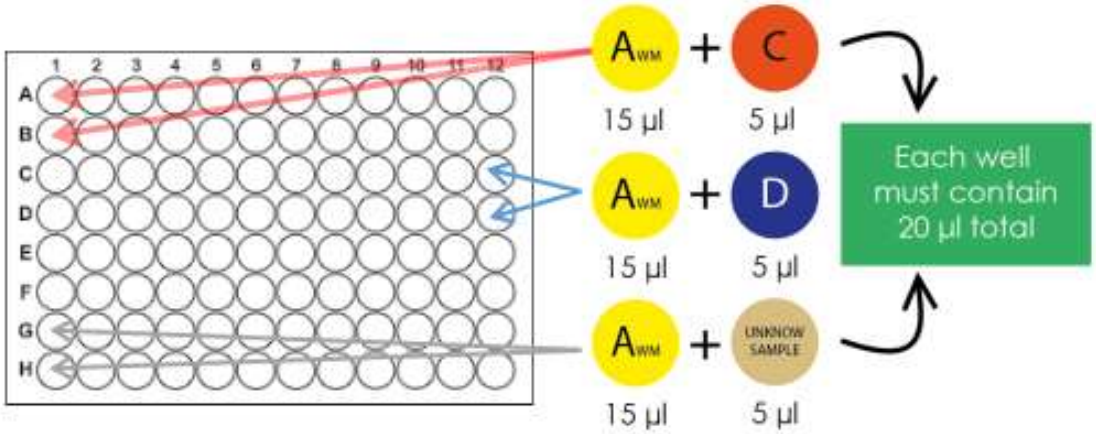
deltalab
member of SCGP

Kits para análisis de alérgenos Generon

Presentación: 50 reacciones (+5%*)

- **Primers and probe TARGET oligo-mix**
- **DNA polymerase (master-mix)**
- **Control positivo**

Assay Box 50 reactions content		N. vials
A	**SPECIALfinder** OLIGO Mix*	1
B	GENERase Mastermix*	1
C	Positive Control*	1
D	Negative Control	1
E	Diluent*	1



Disponible también en tiras y placas pre-alicuotadas

Suministrado con hielo seco pero estable a temperatura ambiente

Incluye Control Interno de Amplificación (IAC)

SpyX Controles de proceso

DigiCount estándar desarrollado de acuerdo con ISO17034

deltalab
member of SCGP

Kits para análisis de alérgenos Generon

Kits MC (Multi copias)

- PAV01M-50 MC Soy (Soia) kit
- PAV02M-50 MC Peanut (Arachide) Kit
- PAV03M-50 MC Hazelnut (Nocciola) Kit
- PAV05M-50 MC Pecan Nut (Noce di Pecan) Kit
- PAV06M-50 MC Walnut (Noce) kit
- PAV07M-50 MC Pistachio Nut (Pistacchio) Kit
- PAV08M-50 MC Cashew (Anacardo) Kit
- PAV09M-50 MC Almond (Mandorla) Kit
- PAV13M-50 MC Sesame (Sesamo) Kit
- PAV14M-50 MC Mustard (Senape) Kit
- PAV15M-50 MC Celery (Sedano) kit
- PAV16M-50 MC Brazil nut (Noce Brasiliana) Kit
- PAV18M-50 MC Lupin (Lupino) kit
- PAV21M-50 MC Macadamia Nut (Noce Macadamia) Kit
- PAV22M-50 MC Mollusks (Molluschi) Kit
- PAV26M-50 Tree Nuts and Peanut MC kit

Kits «genómicos»

- PAV02CEN-50 Peanut (Arachide) Acc. To DIN CEN/TS 15634-4 kit
- PAV03CEN-50 Hazelnut (Nocciola) Acc. To DIN CEN/TS 15634-3 kit
- PAV10A-50 Rye (Segale) kit
- PAV11A-50 Oats (Avena) kit
- PAV15A-50 Celery (Sedano) Acc. To DIN CEN/TS 15634-2 kit
- PAV17A-50 Gluten (Glutine) kit
- PAV19A-50 Crustaceans (Crostacei) kit
- PAV20A-50 Fish (Pesce) kit
- PAV24A-50 Buckwheat (Grano saraceno) kit
- PAV25A-50 Barley (Orzo) kit

deltalab
member of SCGP

SCGP
EVOLVE THE WAY OF LIFE