

ANÁLISES IMUNOCROMATOGRÁFICAS DA PRESENÇA DE GLÚTEN EM ALIMENTOS ROTULADOS COMO LIVRES DE GLÚTEN

STHEFANY ALVES PEREIRA; LAURA MARTINS PIRES; MARIA PAULA OLIVEIRA SILVA; MARIA SYLVIA CHALUPPE MELLO

RESUMO

O glúten é um complexo proteico, em que predominam as proteínas glutenina e gliadina, sendo que a gliadina é considerada como a fração tóxica do composto, pois quando é consumida por indivíduos predispostos geneticamente, é parcialmente digerida, mas não absorvida, desencadeando reações imunológicas como a intolerância, reação autoimune (doença celíaca) e reação de hipersensibilidade. O objetivo do trabalho foi realizar uma investigação laboratorial em produtos industrializados prontos para consumo que possuem o rótulo de “Não contém glúten”, e desenvolver uma discussão sobre os riscos da rotulagem inadequada de alimentos para esses indivíduos com susceptibilidade inflamatória a apresentar “reações alimentares”. O preparo das amostras foi realizado em laboratório seguindo o manual do teste de imunocromatografia AgraStrip® Gluten G12 produzido pela Romer Labs®, caracterizado como teste rápido em tiras qualitativas, com limite de detecção de 5,10 e 20 ppm. A leitura dos resultados foi feita com base na observação da região analítica da tira reagente após o tempo determinado, sendo considerados válidos aqueles em que a zona de controle aparece demarcada, dessa forma, dos seis alimentos testados, todos foram válidos e “não reagentes”. O teste apresentou-se sensível à análise dos alimentos, mostrando a necessidade da rotulagem e da maior atenção no processo de coleta e fabricação da matéria, já que pode haver uma contaminação cruzada, gerando em indivíduos propícios um agravamento em seus supostos quadros inflamatórios. Concluímos que são necessários mais estudos sobre os mecanismos imunológicos envolvidos nas desordens relacionadas ao glúten, além da realização de mais testes para confirmar a eficiência da rotulagem.

Palavras-chave: Doenças inflamatórias intestinais. Glúten. Imunocromatografia.

ABSTRACT

Gluten is a protein complex, in which glutenin and gliadin proteins predominate, and gliadin is considered as the toxic fraction of the compound, because when it is consumed by genetically predisposed individuals, it is partially digested but not absorbed, triggering immunological reactions such as intolerance, autoimmune reaction (celiac disease) and hypersensitivity reaction. The objective of this project was to carry out a laboratory investigation on ready-to-eat products labeled “Gluten free”, and to develop a discussion about the risks of inadequate food labeling for individuals with inflammatory susceptibility who present “food reactions”. The samples were prepared in the laboratory following the AgraStrip® Gluten G12 immunochromatography test manual (Romer Labs®), characterized as a qualitative fast test, with a detection limit of 5, 10 and 20 ppm. The results were obtained by observing the analytical region on the reagent strip, and those in which the control zone appears demarcated are considered valid. Therefore, of the six foods tested, all were valid and “non-reactive”. The test proved to be sensitive to food analysis, showing the need for labeling and especial attention in the process of collecting and manufacturing materials, as there may be cross-contamination, generating in propitious individuals a possible worsening of their inflammatory conditions. It is concluded that more studies are needed on the immunological mechanisms involved in gluten-related

disorders, in addition to carrying out more tests to confirm the efficiency of labeling.

Keywords: Inflammatory bowel diseases. Gluten. Immunochromatography.

INTRODUÇÃO

Cada indivíduo possui o direito de consumir alimentos apropriados e de boa qualidade, que não apresentem riscos à saúde. Os riscos apresentados pelo consumo de alimentos inapropriados, podem ocasionar danos a pessoas que possuem algum tipo de distúrbio intestinal associado à intolerância ou alergia alimentar. Nos últimos anos, observou-se um gradativo aumento nos casos dessas patologias relacionadas ao consumo do glúten (ANVISA et al., 2006).

O glúten é um componente que possui em sua estrutura, principalmente duas proteínas, presente nos grãos de trigo (gliadina e glutenina), porém, também pode ser encontrado dentro de grãos de aveia, centeio, cevada e malte. Esse composto é amplamente utilizado na indústria alimentícia por suas propriedades que atribuem grande elasticidade e auxiliam no crescimento da massa, além de tornar os alimentos mais apetitosos (BIESIEKERSKI, 2017).

Quando o glúten passa por um processo de digestão no estômago, ocorre sua quebra gerando proteínas como a gliadina, a qual possui uma sequência de aminoácidos que confere demasiada resistência ao processo de digestão proteolítica gástrica, pancreática e intestinal, ou seja, sendo parcialmente digerida, porém não absorvida em alguns indivíduos. No intestino delgado de pessoas predispostas geneticamente, a proteína gliadina, composta por 33 aminoácidos, é alojada entre as vilosidades intestinais estimulando reações imunológicas no local, levando a atrofia da mucosa intestinal. Nos indivíduos que não possuem predisposição, o sistema gastrointestinal realiza o processo digestivo do glúten por meio da ação enzimática, fragmentando as proteínas em pequenas frações incapazes de promover uma reação imunológica (ACELBRA, 2018; FRITSCH, 2016).

De acordo com Bricks (1994), uma reação adversa aos alimentos, pode se caracterizar por qualquer tipo de resposta que ocorra no organismo após a ingestão de um determinado alimento, podendo ocasionar diversos sinais e sintomas, relacionados a fatores externos e internos. Segundo Pereira et al. (2008), a mucosa gastrointestinal é composta por uma grande quantidade de células de defesa do organismo, como macrófagos, linfócitos B secretores de anticorpos, linfócitos T e células dendríticas, sendo o local onde ocorre a absorção de nutrientes e entrada de antígenos alimentares. O alto conteúdo de aminoácidos do glúten, pode induzir o sistema imunológico a desencadear um processo inflamatório mediado pelas células

T (KONING, 2015).

Deste modo, a ingestão de glúten pode ocasionar diferentes tipos de disfunções em cada indivíduo, como intolerância, reação autoimune e reação de hipersensibilidade.

Na intolerância ao glúten, o indivíduo não é capaz de realizar a digestão de todas as frações da proteína, mantendo esses peptídeos em contato com a mucosa intestinal. Dentro de duas a três horas ou até mesmo no intervalo de alguns dias, de acordo com o indivíduo, haverá a irritação e inflamação do local, levando a uma alteração da forma e função da mucosa, costumeiramente gerando sintomas intestinais, como dor abdominal, diarreia, vômitos, enjoos e gases. As causas da intolerância ao glúten não são bem definidas, mas é amplamente considerada a predisposição genética e a combinação de fatores ambientais, possibilitando seu surgimento desde a infância até as fases mais tardias da vida. Portanto, pode variar na forma como se manifesta em cada pessoa, sendo possível a alteração da mucosa sem a apresentação de nenhum sintoma. Dessa forma, o único tratamento eficaz para indivíduos intolerantes é a dieta de exclusão de alimentos que contenham glúten (BARBOSA; LEMOS; FERRAZA, 2017; FALLAVENA, 2015).

A doença celíaca (DC) é uma reação autoimune que acomete a mucosa do intestino delgado, diretamente relacionada à intolerância ao glúten, com suas diversas manifestações clínicas podendo ocorrer não só no trato gastrointestinal, mas em vários órgãos e sistemas. Na doença celíaca, há uma reação imunológica desencadeada pelo consumo do glúten em indivíduos predispostos geneticamente, dentre os sintomas mais comuns, pode-se ressaltar: inchaço e dor abdominal, diarreia ou prisão de ventre crônica, falta de apetite, perda ou ganho de peso e anemia, tendo potencial para afetar outros sistemas do corpo. Entretanto, os sintomas são relativos para cada paciente, havendo possibilidade da ausência dos mesmos (ROVEDO, 2018; SILVA; FURLANETTO, 2010).

A alergia ao glúten pode ser caracterizada pela reação de hipersensibilidade do tipo I que induz respostas imediatas mediadas pela produção de IgE, quando os linfócitos reconhecem a proteína do glúten como um antígeno, sendo usualmente um padrão de resposta inflamatória de células T-helper do tipo 2 (Th2), definida pela produção de anticorpos específicos por meio dos linfócitos B. Esse evento pode ocasionar manifestações clínicas em diversas regiões do corpo e pode ser iniciado com a exposição a quantidades mínimas da proteína, podendo variar de moderadas a graves, ou até mesmo ocasionar a morte. As manifestações clínicas geralmente surgem após minutos ou até duas horas da ingestão do alérgeno, sendo principalmente caracterizada pelo surgimento de sintomas cutâneos (pele e

mucosas), ou até mesmo vômito, dores abdominais e diarreia, assim como dificuldades respiratórias (KENNEDY; DIXIT, 2016; NUNES et al., 2012).

Considerando-se a amplitude do espectro de reações inflamatórias, e consequentemente, de manifestações clínicas; bem como as discordâncias quanto às informações sobre os mecanismos fisiopatológicos, genéticos e ambientais que podem tornar uma pessoa suscetível às “doenças alimentares”; assim como as informações confusas que os consumidores têm acesso em relação a composição dos alimentos processados por atividade industrial, e como esse fato representa riscos potenciais à saúde dos indivíduos com reações inflamatórias severas relacionadas ao espectro de desordens associadas ao glúten, este trabalho tem como objetivo realizar uma investigação laboratorial em produtos industrializados prontos para consumo que possuem o rótulo de “Não contém glúten”, e desenvolver uma discussão sobre os riscos da rotulagem inadequada de alimentos para esses indivíduos com susceptibilidade inflamatória a apresentar “reações alimentares”.

METODOLOGIA

O preparo das amostras foi realizado em laboratório seguindo o manual do teste de imunocromatografia AgraStrip® Gluten G12 (Romer Labs®), com anticorpo monoclonal altamente específico, ou seja, desenvolvido a partir de um único linfócito B, para reconhecer a gliadina, o fragmento tóxico do glúten e que é resistente à digestão. O teste consiste em um dispositivo de fluxo lateral (LFD), caracterizado como teste rápido em tiras qualitativas, que permite a coloração e a visualização da zona de controle e zona teste por meio do uso do anticorpo marcado com ouro coloidal, com limite de detecção de 5, 10 e 20 ppm (partes por milhão).

Critério de seleção das amostras

Foram utilizados produtos caracterizados como seguros para o consumo de indivíduos portadores da DC, alérgicos e/ou intolerantes ao glúten, adquiridos em supermercados e lojas com mercadorias direcionadas para dietas específicas. A seleção dos produtos seguiu o critério de inclusão da rotulagem “NÃO CONTÉM GLÚTEN”, além daqueles em que a informação estava explícita apenas em informativos da loja, estando ausentes da embalagem. Os testes consistiram no uso de nove diferentes amostras de variadas marcas, sendo que destas, duas foram utilizadas como controle positivo - uma a matéria-prima (farinha de trigo) e outra um produto finalizado (biscoito cream cracker). Para o controle negativo, foi feito uso

também de um produto (biscoito tipo cookie), e as outras amostras foram utilizadas para o experimento – pipoca de cacau com coco, biscoito sabor coco, bolo de chocolate e cenoura funcional, mistura para bolo sabor chocolate, salgadinho de arroz e soja sabor queijo e macarrão de arroz.

Procedimento

Iniciou-se o procedimento moendo o alimento com auxílio de um almofariz e pistilo, em seguida colocando-o com uma espátula sobre um quadrado de papel manteiga, para pesagem em balança de precisão para obtenção de 0,2 g de amostra. O material foi transferido para um tubo de extração, e acrescentou-se a solução Extraction Buffer fornecida pelo fabricante para extração das proteínas, até aproximadamente a extremidade do tubo. Posteriormente, tampou-se o tubo agitando vigorosamente durante um minuto. Logo após, houve a substituição da tampa por outra do tipo conta gotas, e foram adicionadas três gotas (100 μ L) da substância em um tubo de diluição, preenchendo até o limiar de detecção de 10 ppm, presente no tubo, com a solução de diluição de proteínas Dilution Buffer, fechando-o com a tampa para assim agitá-lo vigorosamente por 15 segundos.

Por fim, após a retirada da tampa, foi inserida a fita reagente no líquido na posição vertical, sem a ultrapassagem da marcação limite para imersão, aguardando 45 segundos para difusão do líquido até o nível da linha. A fita foi removida e colocada sobre o suporte de tubo para posterior leitura dos resultados passado o tempo determinado de dez minutos. Os resultados devem ser lidos imediatamente após os dez minutos indicados para reação, garantindo uma maior confiabilidade, já que um tempo maior pode induzir a um resultado falso positivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

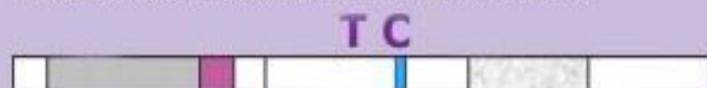
A leitura dos resultados foi feita com base na observação da região analítica após o tempo determinado, sendo considerados válidos aqueles em que a zona de controle aparece demarcada. Caso não houvesse a exibição dessa linha, o resultado seria considerado inválido.

Para resultados negativos (não reagentes), somente uma linha (C) de cor azul se destaca, representando o controle, e para os positivos (reagentes), há também o surgimento da linha controle, além da linha teste (T) em vermelho, em maior ou menor intensidade de coloração (figura 1).

Figura 1 – Leitura e interpretação dos resultados das tiras reagentes imunocromatográficas

Resultados negativos:

Somente a linha de controle (C, azul) aparece na área de resultados da tira de teste.



Resultados positivos:

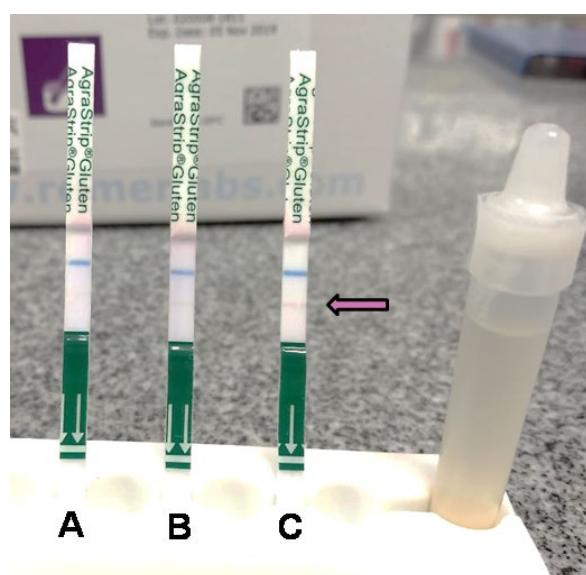
A linha de controle (C, azul) e a linha de teste (T, vermelho) aparecem na área de resultados da tira de teste. Mesmo uma linha fraca na zona de teste implica um positivo. A amostra contém glúten numa concentração superior ao valor de corte escolhido.



Para verificar a confiabilidade do teste, foram utilizadas duas amostras para controle positivo (farinha de trigo e biscoito cream cracker) havendo reação e o surgimento das linhas T e C. E para o controle negativo, utilizou-se o biscoito tipo cookie, não ocorrendo reação, apenas o aparecimento da linha C.

Dos seis alimentos testados, todos foram válidos e “não reagentes” (figura 2 e quadro 1).

Figura 2 – Resultados da imunocromatografia para pesquisa de glúten; (A) Controle negativo, (B) produto alimentar final e (C) Controle positivo, produto contendo glúten



Quadro 1 - Apresentação dos resultados obtidos através do método de imunocromatografia

Amostras	Resultados
Pipoca de cacau com coco	Válido e não reagente
Biscoito sabor coco	Válido e não reagente
Bolo de chocolate e cenoura funcional	Válido e não reagente
Mistura para bolo sabor chocolate	Válido e não reagente
Salgadinho de arroz e soja sabor queijo	Válido e não reagente
Macarrão de arroz	Válido e não reagente

Fonte: A AUTORA (2019).

Os resultados obtidos por meio da análise dos alimentos realizada pelo grupo, apresentaram-se como “não reagentes”, o que é algo positivo se comparado com os estudos realizados por Laureano, 2010; que desenvolveu uma tese baseada no método de imunocromatografia para pesquisa de glúten. Segundo esse estudo, 19 amostras obtiveram resultados reagentes, ou seja, continham glúten. Em contrapartida, o autor da dissertação utilizou uma amostragem maior, contando com 70 produtos, o que é muito em relação a quantidade utilizada no presente trabalho, sendo assim necessário utilizar mais alimentos para garantir uma maior reproduzibilidade dos resultados. Outro ponto a ser destacado, é que a tese em comparação recorreu ao método de ELISA para quantificar os valores de glúten presentes nas amostras, uma técnica mais sensível e específica em relação a imunocromatografia.

Os testes imunocromatográficos possuem algumas vantagens: são rápidos e de fácil manipulação, além de não haver necessidade da utilização de outros equipamentos mais complexos para ser feita a pesquisa desejada, apresentando eficiência em relação a análise de alimentos (LAUREANO, 2010).

O teste utilizado para realização desse trabalho, AgraStrip® Gluten G12 (Romer Labs®), pode ser reproduzido com facilidade por conta de seu procedimento simples, além da rápida apresentação dos resultados. O anticorpo presente detecta especificamente a fração do glúten, gliadina, e não outras proteínas, possibilitando uma menor quantidade de resultados falsos positivos e falsos negativos, garantindo a especificidade e sensibilidade do teste.

Entretanto, o teste por ser qualitativo, é mais indicado para a verificação inicial da

presença ou ausência de glúten nos alimentos, além de testar uma pequena quantidade de amostra, no qual há a possibilidade de uma má distribuição do glúten no material, assim como pode haver a presença do glúten em lotes variados, havendo a necessidade da repetição do teste com a mesma amostra e/ou com lotes diferentes, e utilização complementar de métodos quantitativos, como o de ELISA.

De acordo com as pesquisas realizadas na literatura, há poucos estudos que exploram a imunocromatografia como método para detecção de glúten em alimentos, dessa forma, nota-se que são necessários mais estudos sobre o tema, para que haja uma verificação adequada da segurança da rotulagem dos itens comercializados.

A rotulagem dos alimentos é necessária para maior esclarecimento do produto ao consumidor, e é através da marca, validade, composição nutricional, ingredientes e diversos outros fatores que serão passadas essas informações (FREITAS, 2018).

A ANVISA estabelece que a rotulagem de alimentos que causam reações alimentares é obrigatória, não se aplicando a mantimentos produzidos e embalados em lojas comerciais, como o bolo de chocolate e cenoura funcional utilizado no experimento, e alimentos não embalados durante a sua comercialização. É de extrema importância que a descrição de todas as substâncias que causam algum tipo de reação esteja explícita na embalagem. Em alguns países a utilização de símbolos se faz presente para melhor identificação dessas informações (ANVISA, 2015).

No Brasil, não há um valor determinado de glúten em alimentos rotulados como livres desse, apenas cabe a empresa relatar se há presença ou não, desempenhando um papel de prevenção e controle da DC, alergia e intolerância. Nos países estrangeiros, órgãos fiscalizadores como Codex Alimentarius Comission (referência mundial), Food and Drug Administration (EUA) e Food Standards Agency (UK), julgam os alimentos “livres de glúten” com valores até 20 ppm. Em outros casos, assim como na Austrália e Nova Zelândia, a Food Standards Code determina que o conteúdo deverá ser inferior à 5 ppm (Quadro 2), sendo considerados os países mais seguros para produção dessas substâncias (QUINTANA, 2011).

Quadro 2 – Valores de tolerância de glúten determinados por órgãos fiscalizadores de diferentes países

Órgão	Valor de glúten tolerado
Food and Drug Administration	≤ 20 ppm = livre de glúten
Food Standards Agency	≤ 20 ppm = livre de glúten

Codex Alimentarius Comission	$\leq 20 \text{ ppm} = \text{livre de glúten}$
Food Standard Code	$\leq 5 \text{ ppm} = \text{livre de glúten}$
ANVISA	0 = sem valor estabelecido

Fonte: LAUREANO (2010).

Nota: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

A rotulagem é necessária até mesmo em casos de possível contaminação cruzada, algo que representa um grande risco para os indivíduos que possuem algum tipo de reação adversa ao glúten, pois muitas vezes, essa contaminação ocorre nos produtos que seriam livres e seguros para esses indivíduos (ROVEDO, 2018).

Segundo Rovedo (2018), essa contaminação, que é quando há uma transferência de fragmentos de glúten para outro alimento, sendo direta ou indiretamente, pode ocorrer em alguns estágios do processo do produto, como ainda na agricultura, pois muitos desses mantimentos que não possuem glúten, como arroz, milho, soja e entre outros, são plantados juntamente com outros que possuem essa proteína, como o trigo, havendo o contágio através do solo onde foram plantados. Ocorre também através dos equipamentos de colheita e transporte, além de poder haver o contágio no momento da fabricação e na estocagem, já que algumas empresas produzem tanto alimentos com glúten, como sem.

Sendo assim, alguns cuidados são necessários para que não ocorra a contaminação cruzada, como uma boa higiene de todos os equipamentos que foram utilizados, desde o transporte até a fabricação, além da separação desses produtos em todo o procedimento, como no armazenamento e estocagem (ROVEDO, 2018).

A fiscalização adequada em todas as etapas de produção dos alimentos é de extrema importância, pois como apontado no decorrer do trabalho, indivíduos propensos podem desencadear uma reação inflamatória ao ingerir esses produtos. Essas reações variam de acordo com cada uma das desordens relacionadas ao consumo de glúten e citadas anteriormente: a intolerância, doença celíaca e alergia.

A intolerância ao trigo ainda é uma condição pouco estudada, frequentemente confundida com a doença celíaca. Há a utilização errônea do termo como sinônimo para a DC, visto que os indivíduos afetados de ambas as condições, portam os genes HLA-DQ2 e DQ8, além de ambas causarem manifestações clínicas muito parecidas. Os estudos dessa reação adversa são escassos, não havendo consenso em relação a intolerância possuir um padrão de resposta imunológica específica, diferente da alergia e DC que têm suas respostas bem definidas e amplamente estudadas. Desse modo, o único critério para diagnóstico da

intolerância tem sido a exclusão desses outros quadros clínicos (BARBOSA; LEMOS; FERRAZA, 2017; BRANQUINHO, 2016).

Os estudos realizados por Barbosa, Ferraza e Lemos (2017), teorizam que na intolerância ao glúten, o sistema imune faz o reconhecimento desse componente como um antígeno, desencadeando um processo inflamatório ocasionado pela ligação do anticorpo IgG com as frações do glúten, possivelmente formando imunocomplexos, de forma a estimular as células T a produzirem citocinas pró-inflamatórias IL-1 e IL-6, promovendo a inflamação e lesão ao tecido da mucosa intestinal. Conforme esses complexos se acumulam em grandes quantidades entre as vilosidades intestinais, podendo até mesmo adentrar a corrente sanguínea, há a frequente estimulação do sistema imunológico, que tentará realizar a fagocitose dessas partículas de forma adequada, provavelmente por meio dos neutrófilos, agravando ainda mais o quadro inflamatório. Desse modo, a repetição desse processo, tal como a ingestão excessiva de glúten por pacientes intolerantes, torna a intolerância persistente, acarretando um quadro de inflamação crônica na região frequentemente afetada. Se esta for a mucosa intestinal, é possível que o indivíduo se torne um doente celíaco, por conta da predisposição aos mesmos genes dessa patologia. Entretanto, na doença celíaca, também há um aumento do IgG, tornando difícil o desenvolvimento de um diagnóstico utilizando esse marcador.

Em celíacos, o glúten parcialmente digerido acarreta na liberação de frações de gliadina que promoverão a produção de zonulina, que é uma proteína relacionada à permeabilidade intestinal, ou seja, quanto maior a presença de zonulina, maior será o espaço entre as células do epitélio intestinal. Com isso, o glúten transpassa a barreira da mucosa intestinal, aglomerando-se no meio externo do órgão. Essa presença faz com que o sistema imunológico seja ativado, causando assim um processo inflamatório no local (CIB, 2017).

Os linfócitos T CD4+ identificam os fragmentos da gliadina que foram transformados em ácido glutâmico por um processo de desaminação - processo pelo qual o aminoácido libera seu grupo amina - sendo mediado por uma enzima catalisadora tecidual denominada transglutaminase do tipo 2 (tTG2), considerada como principal autoantígeno da DC. Essa identificação ocorre através da ligação do epítopo, menor fração do antígeno capaz de causar reação imune, nas moléculas HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 que estão presentes nas células apresentadoras de抗ígenos. Ao ocorrer esse reconhecimento por intermédio dos receptores das células, haverá uma liberação de citocinas através do subgrupo de células linfocitárias do tipo Th1 e Th2, que induzem à lesão da mucosa intestinal (ZANDONADI, 2009; FRITSCH,

2016).

Na resposta Th1, as células constituintes do tecido conjuntivo das vilosidades intestinais, denominadas fibroblastos, serão estimuladas pela citocina Interferon-gama (IFN- γ), fazendo com que secretem as metaloproteinases de matriz (MMPs), enzimas atuantes na degradação do colágeno e das glicoproteínas, importantes substâncias de suporte energético das células epiteliais do intestino, os enterócitos. A IFN- γ atua também na potencialização da capacidade citotóxica dos linfócitos T CD8+ intraepiteliais (IELs) e das células Natural Killers (NK), fazendo com que induzam frequentes apoptoses dos enterócitos, aumentando assim a permeabilidade intestinal e exercendo efeitos diretos na degradação das vilosidades (LAUREANO, 2010; RODRIGUES, 2013).

De modo simultâneo, haverá a liberação de citocinas pelas células linfocitárias Th2, promovendo a estimulação e ativação dos linfócitos B, fazendo com que eles se diferenciem em plasmócitos e produzam anticorpos da classe IgA contra a gliadina e a tTG. Quando o anticorpo produzido atua sobre ambas substâncias, serão produzidas citocinas inflamatórias, como a IL-15, que favorece a destruição dos enterócitos, e consequentemente, a atrofia das vilosidades intestinais (RODRIGUES, 2013; ZANDONADI, 2009).

Por fim, segundo Branquinho (2016), a resposta imunológica característica da alergia ocorre primeiramente através do mecanismo de sensibilização, para posteriormente ocorrer a reação alérgica efetiva. A sensibilização é iniciada quando o indivíduo com predisposição é exposto pela primeira vez à proteína do glúten, fazendo com que as células dendríticas reconheçam esse alérgeno como um antígeno, e o apresentem aos linfócitos T CD4+. A apresentação do alérgeno promove a diferenciação dos linfócitos em Th2, estes enviam sinais químicos para os linfócitos B produzirem anticorpos específicos do tipo IgE em grandes quantidades, tornando possível a incorporação aos mastócitos, presentes na mucosa do intestino, e basófilos, na corrente sanguínea, tornando o indivíduo sensível.

A exposição posterior a quantidades mínimas da substância, possibilita a ligação do alérgeno ao IgE produzido durante a sensibilização, esses se ligam aos mastócitos, desencadeando a degranulação destas células, ou seja, a liberação de pequenos grânulos contendo mediadores inflamatórios responsáveis pelos sinais e sintomas da reação, como a histamina, que leva a vasodilatação e afeta a permeabilidade da mucosa intestinal, permitindo que o alérgeno entre na circulação sanguínea para se ligar aos basófilos e mastócitos de outros tecidos, podendo causar reações inflamatórias em outras regiões do corpo. Exposições frequentes ao glúten causam alterações na funcionalidade da mucosa e até mesmo em sua

forma, podendo piorar as manifestações clínicas (BRANQUINHO, 2016).

Com base nos estudos e testes realizados, percebe-se que há uma necessidade da rotulagem adequada para garantir uma maior segurança para as pessoas afetadas por essas condições.

CONCLUSÃO

Tendo em vista os alimentos analisados pelo grupo, embora em pequena quantidade, assim como as reações inflamatórias ocasionadas em indivíduos predispostos, há a indicação de certa eficiência da rotulagem, mostrando que não houve contaminação cruzada em nenhuma parte da produção, podendo ser considerados seguros. O grupo observou que o teste imunocromatográfico é específico e sensível para a detecção de glúten, embora haja a necessidade de mais testes e uma maior quantidade de amostras para um estudo mais aprofundado sobre a importância da rotulagem adequada, assim como para devida indicação de contaminação cruzada.

O estudo foi de extrema importância para compreender os mecanismos envolvidos nas desordens relacionadas ao glúten, causadoras de manifestações clínicas em pessoas predispostas. Conclui-se que tais condições precisam de mais estudos sobre os mecanismos imunológicos envolvidos, principalmente no que diz respeito à intolerância, para que assim possa haver um consenso do assunto perante a comunidade científica, possibilitando uma maior compreensão da gravidade dessas reações alimentares na qualidade de vida dos indivíduos afetados, tornando possível entender a relevância da rotulagem na realização de uma dieta livre de glúten com produtos que devem ser confiáveis e seguros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO DOS CELÍACOS DO BRASIL – SÃO PAULO. **Dúvidas frequentes sobre doença celíaca.** São Paulo, 19 de nov de 2018. Disponível em: <https://www.riosemgluten.com/perguntas_frequentes.htm>. Acesso em: 1 de mai de 2019.

BARBOSA, J. S.; LEMOS, L. M.; FERRAZA, J. M. Intolerância alimentar por glúten, trigo e farelo de trigo – níveis de imunoglobulina G (IgG). In: XII EVINCI - EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2., 2017. Curitiba. Anais... Curitiba: UniBrasil, 2017. p. 34-41.

BIESIEKERSKI, J.K. What is gluten?. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 32,n.1,p.78–81, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.13703>>. Acesso em: 25 de abr de 2019.

BRANQUINHO, V. S. F. **Alergias e intolerâncias alimentares: leite e trigo – alimentos**

complexos?. 2016. 33 f. Monografia (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Comissão do Codex Alimentarius; Organização Mundial da Saúde; Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura; Organização Pan-Americana da Saúde. **Codex Alimentarius - Higiene dos alimentos textos básicos.** Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 26, de 2 de julho de 2015.** 2015.

BRICKS, L. F. Reações adversas aos alimentos na infância: intolerância e alergia alimentar – atualização. **Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, v. 16, n. 4, p. 176-185, 1994.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. Doença celíaca: biotecnologia ajuda quem é sensível ao glúten. São Paulo, 2017. Disponível em: <<https://cib.org.br/doenca-celiaca/>>. Acesso em: 25 de ago de 2019.

FALLAVENA, L. P. **O perfil do consumidor de produtos sem glúten: necessidade ou modismo?.** 2015. 90 f. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em Engenharia dos Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

FREITAS, F. F. **Rotulagem de alimentos.** Minas Gerais, Laborgene agrogenética, 2018. Disponível em <<https://www.laborgene.com.br/importancia-da-rotulagem/>>. Acesso em: 1 de out de 2019.

FRITSCH, P. M. **Efeito imunogênico de peptídeos da gliadina em modelo in vitro da doença celíaca.** 2016. 94 f. Tese de Doutorado (Programa de pós-graduação em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

KENNEDY, K.; DIXIT, T. **Imunologia para anestesistas – parte 2: reações de hipersensibilidade.** Florianópolis: ATOTW, 2016. 6 p.

KONING, F. Efeitos adversos do glúten de trigo. **Annales Nestlé**, v. 67, n. 2, p. 8-14, 2015.

LAUREANO, A. M. **Análise da presença de glúten em alimentos rotulados como livres de glúten através de ensaio imunoenzimático e de fitas imunocromatográficas.** 2010. 129 f. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências em Gastroenterologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

NUNES, M.; BARROS, R.; MOREIRA, P.; MOREIRA, A.; ALMEIDA, M. M. **Alergia Alimentar.** Universidade do Porto. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação. Governo de Portugal, Ministério da Saúde, 2012.

PEREIRA, A. C. S.; MOURA, S. M.; CONSTANT, P. B. L. Alergia alimentar: sistema imunológico e principais alimentos envolvidos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 189-200, 2008.

QUINTANA, A. P. P. **Uma análise sistemática das legislações vigentes no Brasil e no exterior referente a alimentos considerados isentos de glúten.** 2011. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Direito) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

RODRIGUES, A. S. M. **A doença celíaca: etiopatogenia, diagnóstico, aspectos clínicos e tratamento.** 2013. 75 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

ROMER LABS. **AgraStrip® Gluten G12 Quick Guide.** Romer Labs Division Holding, 2019.2 p. Disponível em:

https://www.romerlabs.com/shop/inter_en/romerlabs/msds/filedownload/file_id/DF0BA6C612524504B16E6BA41A2DA649/. Acesso em: 25 de abr de 2019.

ROVEDO, M. Contaminação cruzada por glúten na indústria de alimentos: quais os riscos e como proteger os celíacos?. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO ESPECIALIZADA E EXPO SEM GLÚTEN, 7., 2018, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: FENACELBRA, 2018. p. 8-14.

SILVA, T. S.; FURLANETTO, T. W.; Diagnóstico de doença celíaca em adultos. **Associação médica brasileira**, v. 56, n. 1, p. 122 – 126, 2010.

ZANDONADI, R. P. **Massa de banana verde: uma alternativa para exclusão do glúten.** 2009. 74 f. Tese (Pós-graduação em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 200