

Campus Rio de Janeiro

Mestrado Profissional em Ciência
e Tecnologia de Alimentos

Selma Francisco Luiz

Quantificação de
glúten através de
ensaio
imunoenzimático
em alimentos
rotulados como
isentos de glúten,
comercializados na
cidade do Rio de
Janeiro

Rio de Janeiro

2020

Selma Francisco Luiz

QUANTIFICAÇÃO DE GLÚTEN ATRAVÉS DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO EM ALIMENTOS ROTULADOS COMO ISENTOS DE GLÚTEN, COMERCIALIZADOS NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - *Campus* Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Rosane
Perdomo Azeredo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Julia Siqueira
Simões

Rio de Janeiro

2020

Selma Francisco Luiz

QUANTIFICAÇÃO DE GLÚTEN ATRAVÉS DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO EM ALIMENTOS ROTULADOS COMO ISENTOS DE GLÚTEN, COMERCIALIZADOS NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - *Campus* Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Data da aprovação: 25 de novembro de 2020.

Prof^a. Dr^a. Denise Rosane Perdomo Azeredo (Orientadora)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - IFRJ

Prof^a. Dr^a. Julia Siqueira Simões (Orientadora)
Centro Universitário Serra dos Órgãos - UNIFESO

Prof. Dr. Felipe Reis Rodrigues
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - IFSP

Prof^a. Dr^a. Luciana Cardoso Nogueira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - IFRJ

Rio de Janeiro

2020

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que, durante todos os meus anos de estudos, me permitiu alcançar meus objetivos.

Posteriormente, agradeço ao meu pai Simeão Francisco Luiz que, mesmo não estando comigo neste momento, sempre me incentivou a ir mas longe, à minha mãe Orany Lopes Luiz pelas suas orações, aos meus filhos Paula Francisco Mourão e Mateus Francisco Mourão, ao meu esposo Paulo Cesar Mourão pela paciência e parceria, e à minha amiga Rejane Baptista Teles Carpenter por me incentivar nos momentos difíceis.

Agradeço também à minha orientadora Denise Rosane Perdomo Azeredo pelas correções, ensinamentos e paciência, à minha orientadora Julia Simões, à banca que aceitou avaliar meu trabalho e às pessoas com quem convivi ao longo desses anos de curso, que me incentivaram e que certamente tiveram grande impacto na minha formação acadêmica.

Muito obrigada!

*“Que seu remédio seja seu alimento,
e que seu alimento seja seu remédio”
(Hipócrates).*

LUIZ, S. F. *QUANTIFICAÇÃO DE GLÚTEN ATRAVÉS DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO EM ALIMENTOS ROTULADOS COMO ISENTOS DE GLÚTEN, COMERCIALIZADOS NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO*. 62 f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2020.

RESUMO

A doença celíaca (DC) evidencia uma intolerância e hipersensibilidade ao glúten ingerido. Ela é uma doença crônica inflamatória, autoimune, multifatorial com conjugação de fatores ambientais e genéticos, que afetam o intestino delgado de indivíduos geneticamente predispostos. O único tratamento existente até o momento consiste na manutenção de uma dieta isenta de glúten. Assim sendo, torna-se imperativo dispor de metodologias analíticas capazes de detectar e quantificar o teor de glúten em alimentos rotulados “sem glúten”. Entretanto, os portadores de DC podem apresentar dificuldades em aderir a este tipo de dieta, porque o glúten faz parte de uma grande diversidade de alimentos da dieta habitual, sendo necessário um exame minucioso dos rótulos, e mesmo assim pode encontrar glúten nos alimentos processados, que apresenta na sua rotulagem como não contem glúten. Por este motivo, foram coletados pela Vigilância Sanitária 127 produtos disponíveis no comércio varejista do Rio de Janeiro, apresentando a descrição “não contém glúten”. O ensaio utilizado foi o ELISA Sanduíche baseado no anticorpo monoclonal para ω -gliadinas, com limite de detecção de 0,5 mg/kg de gliadina e 1 mg/kg para glúten. No Brasil, a Lei nº 10.674/2003 que dispõe sobre a obrigatoriedade dos rótulos dos produtos industrializados informarem sobre a presença de glúten foi um fato marcante que ocorreu, ela obriga as inscrições “CONTEM GLÚTEN” ou “NÃO CONTEM GLÚTEN”, porém a simples expressão mostra-se insuficiente para proteger os celíacos, ela não esclarece acerca do prejuízo que causa o produto com glúten aos portadores DC, e esta Lei também não define limites para um alimento ser considerado livre de glúten. O conhecimento do panorama da doença celíaca no Brasil se justifica pela necessidade de fundamentar as ações da política de alimentação e nutrição fundamentado no conceito de alimentação saudável com ênfase na dieta isenta de glúten por programas conduzidos pela Vigilância Sanitária. Verificou-se que 33,63% dos alimentos apresentavam contaminação por glúten, o que indica a necessidade e importância de quantificação de glúten em alimentos industrializados no município de Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Glúten. ELISA. Vigilância Sanitária.

LUIZ, S. F. *QUANTIFICATION OF GLUTEN THROUGH IMMUNOENZYMATIC TESTING IN FOODS LABELED AS GLUTEN FREE, COMMERCIALIZED IN THE CITY OF RIO DE JANEIRO*. 62 f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus* Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2020.

ABSTRACT

Celiac disease (CD) shows an intolerance and hypersensitivity to the ingested gluten. It is a chronic inflammatory, autoimmune, multifactorial disease with a combination of environmental and genetic factors, which affect the small intestine of genetically predisposed individuals. The only treatment available to date is maintaining a gluten-free diet. Therefore, it is imperative to have analytical methodologies capable of detecting and quantifying the gluten content in foods labeled “gluten free”. However, people with CD may have difficulties in adhering to this type of diet, because gluten is part of a wide variety of foods in the usual diet, requiring a thorough examination of the labels, and even then you can find gluten in processed foods, that it presents on its labeling as gluten free. For this reason, 127 products available in the retail trade of Rio de Janeiro were collected by the Health Surveillance, presenting the description “does not contain gluten”. The assay used was the Sandwich ELISA based on the monoclonal antibody for ω -gliadins, with a detection limit of 0.5 mg/kg of gliadin and 1 mg/kg for gluten. In Brazil, Law nº 10,674/2003, which provides for the mandatory labels of industrialized products to inform about the presence of gluten, was a remarkable fact that occurred, it requires the inscriptions “CONTÉM GLÚTEN” or “NÃO CONTÉM GLÚTEN”, however the simple expression shows if it is insufficient to protect celiacs, it does not clarify about the damage that the product with gluten causes to DC carriers, and this Law also does not define limits for a food to be considered gluten free. The knowledge of the panorama of celiac disease in Brazil is justified by the need to base the actions of the food and nutrition policy based on the concept of healthy eating with an emphasis on a gluten-free diet by programs conducted by the Health Surveillance. It was found that 33.63% of the foods had gluten contamination, which indicates the need and importance of quantifying gluten in processed foods in the city of Rio de Janeiro.

Keywords: Gluten. ELISA. Health Surveillance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Composição do grão do trigo.	14
Figura 2 – Representação esquemática das interações moleculares do glúten.	15
Figura 3 – Desordens relacionadas ao glúten.	16
Figura 4 – Mucosa do intestino delgado normal e comprometida com DC.	17
Figura 5 – Fatores etiológicos na doença celíaca.	21
Figura 6 – Representação da patogenia da DC.	22
Figura 7 – Fluxograma do algoritmo para diagnóstico da DC.	23
Figura 8 – Método de Extração.	33
Figura 9 – Leitora de microplacas e lavadora.	34
Figura 10 – Curva padrão de gliadina.	36
Figura 11 – Quantificação de glúten em amostras rotuladas como livres de glúten.	37
Figura 12 – Amostras com resultados ≥ 5 mg/kg.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características das prolaminas em termos de composição e peso molecular.	14
Tabela 2 – Legislação brasileira sobre DC.	26
Tabela 3 – Métodos qualitativos e quantitativos para detecção de glúten.	28
Tabela 4 – Amostras analisadas contaminadas com glúten (≥ 5 mg/kg).	39
Tabela 5 – Principais medidas de controle a serem adotadas com base na gestão de glúten na elaboração de produtos industrializados.	40
Tabela 6 – Teor de glúten em amostras de biscoitos.	54
Tabela 7 – Teor de glúten em amostra de iogurtes.	55
Tabela 8 – Teor de glúten em amostras de leites fermentados.	56
Tabela 9 – Teor de glúten em amostras de cereais.	57
Tabela 10 – Teor de glúten em amostras de bebidas lácteas.	58
Tabela 11 – Teor de glúten em amostras variadas.	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGA	Anticorpos antigliadina
AT	Alergia ao trigo
ATG	Antitransglutamina
CD	Célula dendrítica
CODEX	<i>Codex Alimentarius</i>
CPA	Célula apresentadora de antígeno
DC	Doença celíaca
DSG	Dieta sem glúten
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosobent assay</i>
EMA	Antiendomísio
HLA	Antígeno leucocitário humano
IEL	Linfócito intra-epitelial
IgA	Imunoglobulina A
IgA-EMA	Antiendomísio IgA
IgAtTg	Antitransglutaminase IgA
IL	Interleucina
Inos	Óxido nítrico sintetase
Ma _b	Anticorpo monoclonal
NKG ₂ D	Proteína transmembranar
OMS	Organização Mundial de Saúde
SGNC	Sensibilidade ao glúten não celíaca
SUS	Sistema Único de Saúde
TGI	Trato gástrico intestinal
TTG	Transglutaminase de tecido ou tissular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	O TRIGO E AS PROTEÍNAS DO GLÚTEN	13
2.2	DOENÇA CELÍACA E DEMAIS DESORDENS RELACIONADAS AO GLÚTEN (DRG)	16
2.3	FORMAS DE APRESENTAÇÃO DA DC	17
2.3.1	DC clássica	18
2.3.2	DC não clássica	18
2.3.3	DC assintomática	18
2.4	DERMATITE HERPETIFORME (DH).....	19
2.5	ALERGIA AO TRIGO (AT)	19
2.6	SENSIBILIDADE AO GLÚTEN NÃO CELÍACA (SGNC)	19
2.7	ATAXIA AO GLÚTEN.....	20
2.8	PRINCIPAIS FATORES ENVOLVIDOS NA PATOGENIA DA DC.....	21
2.9	TRATAMENTO DAS DESORDENS RELACIONADAS AO GLÚTEN	22
2.10	O DIAGNÓSTICO DA DC E DAS DESORDENS RELACIONADAS AO GLÚTEN	23
2.11	VALORES LIMITES PARA A INGESTÃO DIÁRIA DE GLÚTEN PARA PACIENTES CELÍACOS	24
2.12	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE GLÚTEN E DC	25
2.13	MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO GLÚTEN EM ALIMENTOS	27
2.14	ALTERNATIVA DA INDÚSTRIA PARA ALIMENTOS ISENTOS DE GLÚTEN	28
3	OBJETIVOS	30
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4	MATERIAL E MÉTODO	31
4.1	COLETA DAS AMOSTRAS	32
4.2	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	32
4.3	EXTRAÇÃO DA AMOSTRA	33
4.4	ANÁLISE DAS AMOSTRAS PELO MÉTODO ELISA.....	34
4.5	REAGENTES.....	35
4.6	EQUIPAMENTOS.....	35
4.7	PREPARO DOS REAGENTES	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42
	Apêndices	53
	Anexos	60

1 INTRODUÇÃO

O trigo é um dos cereais mais consumidos na alimentação humana, fornecendo nutrientes indispensáveis para o organismo. O grão de trigo contém 8 a 15% de proteína, dos quais 10 a 15% são albuminas e globulinas, e 85 a 90% representam as proteínas do glúten que se dividem em prolaminas e gluteninas, e conferem propriedades de elasticidade e extensibilidade que são essenciais para a funcionalidade da farinha de trigo (BIESIEKIERSKI, 2017; VERHOECKX *et al.*, 2015). Proteínas semelhantes à prolamina do trigo (gliadina) podem ser encontradas no centeio (secalina), cevada (hordeína), aveia (avenina) e em híbridos como triticale, malte. Entretanto, o trigo é o único cereal que tem as frações das referidas proteínas em proporções favoráveis para indústria (BIESIEKIERSKI, 2017).

As prolaminas são as principais proteínas presentes no endosperma dos grãos, apresentando significativo percentual de resíduos de glutamina e aminoácido prolina em sua estrutura primária. Geralmente, são classificadas como ricas em enxofre, pobres em enxofre e de alto peso molecular. O trigo, o centeio e a cevada contêm 70 a 80% de prolaminas ricas em enxofre em sua composição. As proteínas do glúten são bastante resistentes a hidrólise por proteases no trato gastrointestinal, desencadeando as desordens relacionadas ao glúten (BALAKIREVA; ZAMYATNIN, 2016). Estes distúrbios podem ser assim agrupados: autoimunes (doença celíaca, ataxia de glúten, dermatite herpetiforme), alérgicos (alergia respiratória, alergia alimentar e urticária de contato e não autoimunes e não alérgicos (sensibilidade ao glúten não celíaca). De forma resumida, na doença celíaca o intestino delgado é o principal órgão afetado, na dermatite herpetiforme há o comprometimento da pele e na ataxia os danos são cerebrais (SHARMA *et al.*, 2020; WATKINS; ZAWAHIR, 2017).

As desordens relacionadas ao glúten afetam cerca de 10% da população (FALCOMER *et al.*, 2020), enquanto a doença celíaca (DC) acomete, aproximadamente, 1% de indivíduos; embora estime-se que a prevalência desta doença seja maior, especialmente no Brasil devido ao subdiagnóstico (MUNIZ; SDEPANIAN; NETO, 2016). A DC hoje tem proeminência global (TOVOLI *et al.*, 2015). Apesar das peculiaridades das manifestações clínicas o tratamento para todas as desordens relacionadas ao glúten consiste na exclusão da proteína da dieta (FARAGE *et al.*, 2017).

Tem sido reportado na literatura que os alimentos rotulados como livres de glúten e assim destinados a população celíaca, apresentam teores consideráveis da proteína, contribuindo para a recorrência dos sintomas e agravamento da patologia (GOUVEIA, 2014; LAUREANO, 2010; LOSIO *et al.*, 2017; MORAIS *et al.*, 2014; PIRES, 2013; SILVA, 2010).

A indústria deve adotar diretrizes relacionadas as Boas Práticas, promovendo a aquisição de matérias-primas e ingredientes certificados como *gluten-free* ou adquirindo kits de testes qualitativos para testagem rápida na recepção de mercadorias, além de buscar estratégias relacionadas ao transporte, recebimento e armazenamento. Segundo as diretrizes do Guia nº 05/2018 da Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2018) na elaboração do produto, deve-se validar métodos direcionados a higienização de equipamentos, utensílios, ambiente. Deve-se atentar para a adoção de práticas que resultem em uma rotulagem correta e evitar, sobretudo, a contaminação cruzada.

Os órgãos reguladores também devem implementar o monitoramento destes alimentos, de modo a proteger a saúde do consumidor, conforme preconizado no Código de Defesa do Consumidor, de acordo com a Lei nº 8.078/1990 (BRASIL, 1990). Cabe esclarecer que no Brasil, de acordo com a Lei nº 10.674/2003 é obrigatório que os rótulos dos alimentos exponham a advertência “contém glúten” ou “não contém glúten” e fica a cargo das vigilâncias sanitárias municipais e estaduais a fiscalização do cumprimento desta lei (BRASIL, 2003a).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a contaminação por glúten em produtos industrializados rotulados como isentos de glúten, comercializados na cidade do Rio de Janeiro. Os resultados encontrados visam direcionar os setores da indústria e órgãos reguladores a promover práticas de mitigação de riscos à saúde pública.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O TRIGO E AS PROTEÍNAS DO GLÚTEN

O trigo é um dos principais cereais cultivados em todo o mundo. Estima-se que a produção mundial deste cereal até 2021 seja, aproximadamente, 768 milhões (t) sendo a União Europeia, China e Índia os maiores produtores (ABITRIGO, 2020). Em 2019, o Brasil importou cerca de 6 milhões (t) dessa matéria-prima (ABITRIGO, 2019). Dados da FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) indicam que o trigo é a commodity mais consumida no mundo, possuindo valor energético essencial para as dietas humana e animal (FAO, 2016). Cerca de 90% do trigo é utilizado para consumo humano como pães, biscoitos e massas alimentícias, sendo de sua importância a sua composição nutricional, em termos de compostos bioativos do grão, as fibras dietéticas, minerais e vitaminas, especialmente as do complexo B (SHEWRY; HEY, 2015) e a sua qualidade tecnológica (HERNÁNDEZ-ESPINOSA *et al.*, 2018).

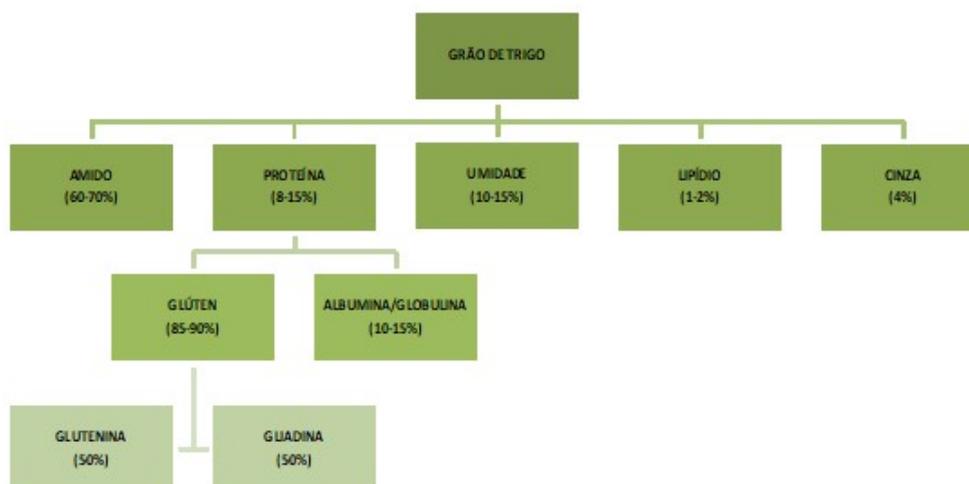
A espécie *Triticum aestivum L.* é comumente utilizada para descrever outras espécies e genótipos de trigo. O grão do trigo é uma matriz proteica, sendo composto por 8 a 15% de proteína das quais 10 a 15% são albumina e globulina¹ e 85 a 90% são glúten, proteínas de armazenamento do grão, representadas pelas frações monoméricas de gliadina e poliméricas de glutenina. As proteínas gliadina e glutenina são referidas como prolaminas insolúveis em meio aquoso e solúveis em extrato alcohólico, caracterizando-se pelo alto teor de resíduos dos aminoácidos glutamina (38%) e prolina (20%) presentes em sua estrutura primária (BIESIEKIERSKI, 2017; CAPILI; CHANG; ANASTASI, 2014), conforme mostra a Figura 1.

As prolaminas são definidas como a fração do glúten que pode ser extraída com 40 a 70% de etanol. De acordo com o cereal, as prolaminas recebem diferentes denominações: no trigo a gliadina, no centeio a secalina, na cevada a hordeína e na aveia² a avenina (CODEX ALIMENTARIUS, 2008). Observa-se assim, que as prolaminas apresentam diferenças entre si, porém em relação à estrutura podem ser subdivididas em três grupos: prolaminas ricas em enxofre (*S-rich*), pobres em enxofre (*S-poor*) e prolaminas de alto peso molecular (*HMW*) (BALAKIREVA; ZAMYATNIN, 2016), como demonstrado na Tabela 1.

¹ As albuminas são solúveis em água e as globulinas solúveis em solução salina (WANG *et al.*, 2017).

² As proteínas da avenina apresentam menor teor de prolina do que a gliadina do trigo. Isso pode contribuir para a sua baixa toxicidade (REAL *et al.*, 2012). Deve-se atentar também que a aveia é utilizada em cultivo rotacional com o trigo, podendo haver contaminação da mesma (ROVEDO, 2018).

Figura 1 – Composição do grão do trigo.



Fonte: Adaptada de Biesiekierski (2017).

Tabela 1 – Características das prolaminas em termos de composição e peso molecular.

Espécies de Grãos	Componentes	Peso molecular (% total)	Polímeros ou monômeros
Prolaminas HMW			
Trigo	HMW substitutos do glúten	65-90 kDa (6-10%)	Polímeros
Cevada	Hordeína	>100 kDa (2-4%)	Polímeros
Centeio	Secalina HMW	>100 kDa (2%)	Polímeros
Prolaminas ricas em Sulfeto			
	Gliadina γ	-	Monômeros
	Gliadina α	30-45 kDa (70-80%)	Monômeros
	Tipo B e C LMW substitutos da gluteína	-	Polímeros
Cevada	Hordeína β e Hordeína γ	32-45 kDa (50%)	Tipo agregado, monômeros ou polipeptídeo de cadeia simples
Centeio	Secalinas γ	40-45 kDa (80%)	Polímeros
Prolaminas pobres em Sulfeto			
Trigo	Gliadina ω	-	Monômeros
	Tipo D LMW substitutos da gluteína	30-75 kDa (10-20%)	Tipo agregado, Polímeros
Cevada	Hordeína C	40-72 kDa (10-15%)	Monômeros
Centeio	Secalinas ω	48-55 kDa (10-15%)	Monômeros
Outras prolaminas de glúten			
Aveia	Aveninas	18,5-23,5 kDa (10%)	Monômeros

Nota: HMW (em inglês) - alto peso molecular. LMW (em inglês) - baixo peso molecular.

Fonte: Adaptada de Balakireva e Zamyatin (2016).

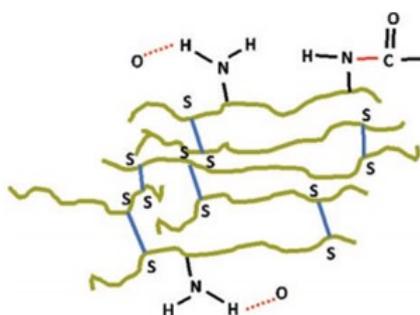
A gliadina é subdividida, conforme sua sequência de aminoácidos na porção N-terminal, nos tipos α -, β -, γ -, ω -gliadinas e de acordo com sua mobilidade em pH

ácido, em gel de eletroforese bidimensional; a α - e a β -gliadina possuem estruturas bem próximas, entretanto, a α -gliadina apresenta efeito tóxico³ e imunodominante, devido à significativa resistência à digestão gástrica e pancreática, com base no alto teor dos aminoácidos prolina e glutamina⁴ (KAUR; SHIMONI; WALLACH, 2017), levando indivíduos susceptíveis geneticamente a reações imunológicas mediadas por células T, que induzem à resposta autoimune causada pela exposição da gliadina no intestino (QI *et al.*, 2013).

As gluteninas são classificadas em alto peso molecular (HMW) e baixo peso molecular (LMW). A estrutura espiral β das gluteninas de alto peso molecular está relacionada à sua elasticidade. O grupamento sulfidríla (-S-) desempenha um papel especial na composição destas proteínas, sendo também utilizado como critério de classificação: Proteínas do glúten ricas em -S- consistem em α -, β - e γ -gliadinas e gluteninas de baixo peso molecular. As proteínas do glúten pobres em -S- correspondem a ω -gliadinas e gluteninas de alto peso molecular (KUKTAITE; RAVEL, 2020).

As proteínas do glúten apresentam propriedades viscoelásticas únicas, distintas em seus aspectos funcionais. As gluteninas conferem elasticidade e tenacidade ao glúten, enquanto as gliadinas conferem viscosidade. As proteínas do glúten podem facilmente formar polímeros complexos, de baixa solubilidade. Algumas interpretações sobre as interações moleculares sugerem que as gluteninas de alto peso molecular e de baixo peso molecular interagem por meio das pontes dissulfeto, dando origem a uma estrutura rígida, com outras interações não covalentes, como a Van der Waals, como mostra a Figura 2 (KUKTAITE; RAVEL, 2020).

Figura 2 – Representação esquemática das interações moleculares do glúten.



Nota: As linhas em azul se referem às pontes dissulfeto, a linha sólida em vermelho representa os peptídeos e a linha pontilhada em vermelho se refere as pontes de hidrogênio.

Fonte: Kuktaite e Ravel (2020).

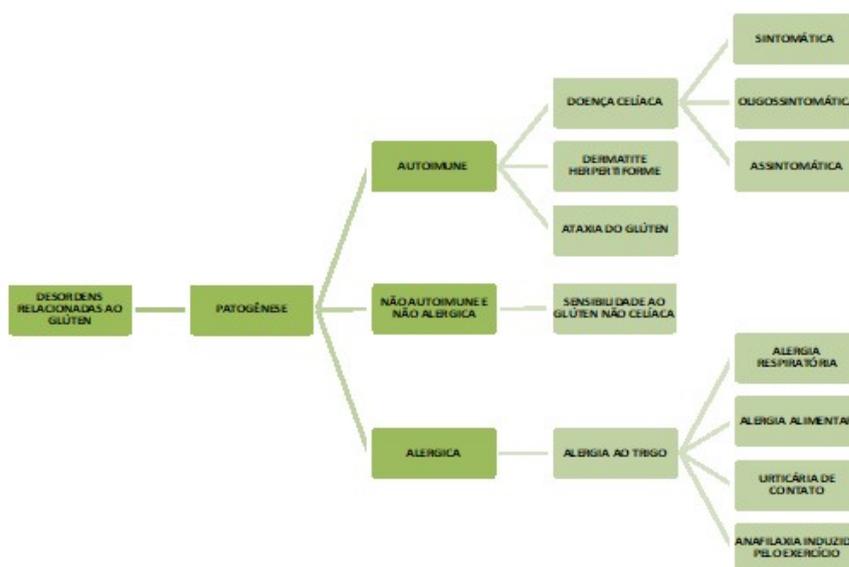
³ O efeito tóxico relatado é a indução à doença celíaca.

⁴ É interessante pontuar que as prolaminas de cereais como milho, milheto e arroz apresentam baixo percentual dos aminoácidos glutamina e prolina, porém apresentam alto teor de leucina e alanina, não induzindo aos efeitos tóxicos observados na doença celíaca (KAUR; SHIMONI; WALLACH, 2017).

2.2 DOENÇA CELÍACA E DEMAIS DESORDENS RELACIONADAS AO GLÚTEN (DRG)

A Doença Celíaca (DC) consiste em uma enteropatia crônica imunomediada desencadeada pelo consumo de glúten, em indivíduos geneticamente predispostos (SAPONE *et al.*, 2012), com repercussão na mucosa do intestino delgado através de lesões inflamatórias com atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas intestinais (FASANO *et al.*, 2008), em consequência da ingestão de glúten, proteína presente em cereais como trigo, cevada, centeio e aveia⁵ (CAVINATTO, 2017). Inicialmente apresentada como forma rara, a DC hoje tem prevalência global (TOVOLI *et al.*, 2015). Além da DC, as definições de Oslo (*The Oslo Definitions of Celiac Disease and related terms*) (LUDVIGSSON *et al.*, 2013) se referem a outras desordens relacionadas ao glúten, que podem ser assim agrupadas: autoimunes (doença celíaca, ataxia de glúten, dermatite herpetiforme), alérgicas (alergia respiratória, alergia alimentar e urticária de contato) e não autoimunes e não alérgicas (sensibilidade ao glúten não celíaca), como mostra a Figura 3. De forma resumida, na doença celíaca, o intestino delgado é o principal órgão afetado, na dermatite herpetiforme, há o comprometimento da pele, e na ataxia, os danos são cerebrais (SHARMA *et al.*, 2020; WATKINS; ZAWAHIR, 2017). Apesar das peculiaridades das manifestações clínicas, o tratamento para todas as desordens relacionadas ao glúten consiste na exclusão da proteína da dieta (FARAGE *et al.*, 2017).

Figura 3 – Desordens relacionadas ao glúten.



Fonte: Silva (2017).

⁵ Em alguns países, a aveia pode ser incluída na dieta de celíacos. No Brasil, devido às dificuldades de se obter aveia isenta de glúten, a exclusão da dieta torna-se necessária (SILVA, 2017).

As desordens relacionadas ao glúten afetam cerca de 10% da população (FALCOMER *et al.*, 2020), enquanto a DC acomete aproximadamente 1% dos indivíduos; embora estime-se que a prevalência desta doença seja maior, especialmente no Brasil, devido ao subdiagnóstico (MUNIZ; SDEPANIAN; NETO, 2016).

No Brasil, estima-se que a DC afete cerca de 2 milhões de pessoas. Estudos conduzidos nas cidades de São Paulo, Ribeirão Preto e Brasília estimam que a incidência da doença ocorre na proporção de 1:214, 1:273 e 1:681 indivíduos, respectivamente. Estes dados seguem o patamar da população europeia, onde a população é bastante afetada (YOSHIDA, 2014).

2.3 FORMAS DE APRESENTAÇÃO DA DC

A manifestação clínica da DC pode variar bastante entre adultos e crianças, com sinais e sintomas diferentes; geralmente, na infância a doença se apresenta com baixa estatura, puberdade tardia, diarreia crônica, esteatorréia, distensão abdominal e anemia. Em adultos, podem surgir casos assintomáticos ou clássicos da doença, podem apresentar diarreia crônica, distensão abdominal e dor, fraqueza e má absorção (TJON; BERGEN; KONING, 2010). Pode também apresentar uma manifestação dermatológica incomum da pele, a dermatite herpetiforme, que é uma apresentação única da DC, predominantemente detectada em adultos, e afeta cerca de 10 a 20% dos pacientes (PARZANESE *et al.*, 2017). Entretanto, uma boa parte dos adultos com DC não apresenta sinais e sintomas não relacionados ao sistema digestivo. No entanto, podem apresentar anemia, perda de densidade óssea (osteoporose), fadiga, função reduzida do baço e outras deficiências nutricionais, como vitamina D, folato, zinco, vitamina B12 e B6, são frequentes também no adulto, perda de memória e ataxia (AL-BAWARDY *et al.*, 2017; NIJHAWAN; GOYAL, 2015). A Figura 4 representa a mucosa do intestino delgado normal e a mucosa comprometida pela DC.

Figura 4 – Mucosa do intestino delgado normal e comprometida com DC.



Fonte: BENEVIDES *et al.* (2013).

2.3.1 DC clássica

A DC clássica é caracterizada por sintomas gastrointestinais, surge geralmente entre o primeiro e terceiro ano de vida, com a introdução dos alimentos e bolachas, entre outros alimentos industrializados contendo glúten. O início da doença vai variar da sensibilidade individual e do efeito protetor do aleitamento materno. Em crianças menores de cinco anos, ocorre predomínio de sintomas intestinais, já em crianças mais velhas, adolescente e adultos, são comuns os sintomas extra intestinais (SILVA *et al.*, 2006). Os pacientes apresentam comprometimento do crescimento, má absorção intestinal, diarreia crônica, esteatorréia, inapetência, palidez por anemia ferropriva não curável, falta de apetite, distensão abdominal (barriga inchada), perda de massa muscular com pernas e braços finos, apatia e desnutrição aguda (HILL *et al.*, 2016).

2.3.2 DC não clássica

A DC não clássica ou atípica se manifesta em crianças na faixa etária de 5 a 6 anos de idade, apresentando um quadro mono ou oligossintomático, não promovendo desordem digestiva significativa quando presente. Esta forma se caracteriza por anemia resistente a terapia com ferro, irritabilidade, fadiga, baixo ganho de peso e estatura, constipação intestinal crônica, manchas e alteração do esmalte dental, esterilidade, osteopenia, puberdade tardia, sintomas neurológicos, incluindo distúrbios de déficit de atenção, hiperatividade, dificuldades de aprendizado, falta de coordenação, convulsões e deficiência de ácido folio e vitamina B12 (AL-BAWARDY *et al.*, 2017).

2.3.3 DC assintomática

A forma assintomática ou silenciosa acomete geralmente familiares de primeiro grau de pacientes reconhecidamente celíacos. Nestes casos, os exames (marcadores sorológicos específicos) são os indicados para o diagnóstico da doença celíaca, já que os sinais e sintomas geralmente não são suficientes para provar uma suspeita clínica. Os marcadores sorológicos específicos, como o anticorpo antigliadina e antiendomísio, estão sendo utilizados cada vez mais para o diagnóstico da DC assintomática (ARAÚJO *et al.*, 2010).

As manifestações digestivas geralmente são ausentes ou, se presentes, ocupam um plano secundário. Os portadores podem apresentar manifestações isoladas, como, por exemplo, baixa estatura, anemia por deficiência de ferro refratária à reposição de ferro por via oral, anemia por deficiência de folato e vitamina B1, infertilidade, abortos recorrentes, osteopenia e osteoporose (NIEWINSKI, 2008).

2.4 DERMATITE HERPETIFORME (DH)

Trata-se da manifestação cutânea da DC, acomete geralmente na idade adulta, caracterizada por papulovesículas, que formam crostas quando secam, com sensação de queimadura e intensamente pruriginosa. Na prática da DC, não é frequente encontrá-la; peculiarmente, atinge os cotovelos de 90% dos doentes, podendo ocorrer também nas nádegas, joelhos, couro cabeludo, pescoço e tronco, estas lesões só melhoram com a retirada do glúten da alimentação (LUDVIGSSON *et al.*, 2013).

Geralmente, nesta patologia os sintomas gastrointestinais são inexistente, e quando presentes, são normalmente ligeiros. Apenas 10% dos doentes têm sintomas gastrointestinais e 70% apresentam as vilosidades do intestino delgado atrofiadas, e o soro destes doentes apresentam autoanticorpos (anti-TTG / anti-EMA / antigliadina) (FERREIRA; INÁCIO, 2018).

2.5 ALERGIA AO TRIGO (AT)

A AT normalmente surge nos primeiros anos de vida, sendo definida como uma reação imunológica adversa às proteínas do trigo. Estudos citam que a alergia ao trigo pode desaparecer em cerca de 20% das crianças aos 4 anos, 52% aos 8 anos, 66% aos 12 anos e 76% aos 18 anos (SAVAGE; JOHNS, 2015). A alergia ao trigo (AT) é mediada pela IgE, e se manifesta clinicamente por urticárias, angioedema e anafilaxia; a mista, que é mediada por IgE e a nível celular (linfócitos, eosinófilos e outros mediadores), onde surge a dermatite atópica, gastroenterite e esofagite eosinofílica; e a não mediada por IgE, que está associada à enterocolite (BOM *et al.*, 2013). A AT afeta aproximadamente 1% da população mundial (SCHERF; KOEHLER; WIESER, 2016). Dependendo da via de exposição ao alérgeno e dos mecanismos imunológicos, pode atingir o trato gastrointestinal ou o trato respiratório, podendo levar à anafilaxia induzida por exercício e dependente de trigo, asma ocupacional (asma de padeiro) e rinite. Existem vários fatores que podem influenciar a alergia alimentar: hábito alimentar, amamentação, alimentação complementar, forma de preparo dos alimentos e fatores individuais como: sexo, carga genética, idade, etnia, uso de antibiótico, etilismo e inibidores gástricos (ANVISA, 2017).

2.6 SENSIBILIDADE AO GLÚTEN NÃO CELÍACA (SGNC)

A SGNC é uma patologia de natureza não alérgica e não autoimune, que pode ser denominada como uma intolerância ao glúten. Neste caso, estão presentes os sintomas intestinal e extraintestinal, contudo, sem a caracterização dos marcadores

sorológicos. O diagnóstico é bastante complexo, e se confirma a partir de resultados negativos da DC ou da alergia alimentar (CATASSI, 2015).

Esta patologia apresenta histologista normal para biopsia do sistema gastrointestinal, eliminando assim a possibilidade de ser DC, e ainda se têm observado que pacientes com SGNC apresentam permeabilidade intestinal mais reduzida que pacientes com DC, após a exposição às gliadinas presentes no glúten (HOLLON *et al.*, 2015).

Os sintomas são semelhantes à síndrome do intestino irritável, levando à dor abdominal, inchaço, diarreia, constipação, manifestações sistêmicas como confusão mental, dor de cabeça, fadiga, dor nas articulações e músculos, dormência nas pernas ou braços, dermatite, depressão e anemia (CATASSI, 2015).

A incidência desta patologia relacionada à ingestão de glúten é de 5%, em termos mundiais, e vem apresentando aumento ao longo dos anos (ELLI *et al.*, 2015).

2.7 ATAXIA AO GLÚTEN

A ataxia é a expressão mais comum de problemas neurológicos por sensibilidade ao glúten. Esta definição foi baseada em testes sorológicos disponíveis na época (AGA), realizados em 500 pacientes com ataxia progressiva no período de 13 anos em Sheffield, Reino Unido, onde 101 pacientes tiveram sorologia positiva para sensibilidade ao glúten (HADJIVASSILIOU; SANDERS; AESCHLIMANN, 2015).

A ataxia de glúten usualmente se apresenta com complicações cerebelar pura ou combinação com mioclonia e tremor palatino (HADJIVASSILIOU; SANDERS; AESCHLIMANN, 2015).

A ataxia ao glúten tem início geralmente na idade adulta, e menos de 10% dos pacientes irão ter sintoma gastrointestinal, mais de um terço terá indício de enteropatia na biópsia, em apenas 22% dos pacientes são detectados os anticorpos antiendomísio, e os anticorpos anti-TG2 IgA 38%, porém em títulos mais baixos do que aqueles observados em pacientes com doença celíaca (HADJIVASSILIOU *et al.*, 2008).

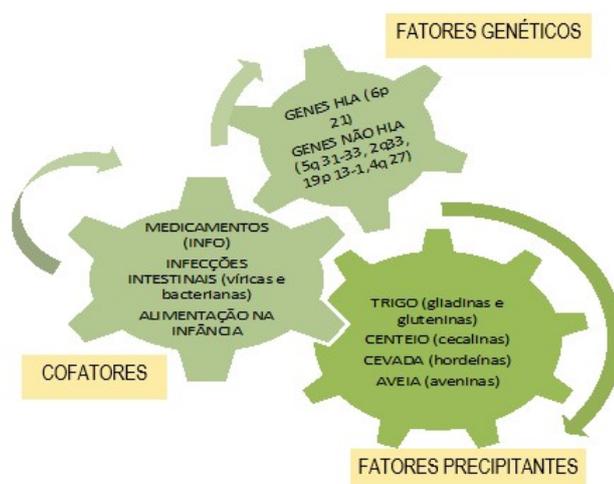
A retirada do glúten da dieta é tramento irreversível e imediato, e tem maior probabilidade de uma melhora ou estabilização da doença (HADJIVASSILIOU *et al.*, 2010).

Os anticorpos antigliadina, reconhecem antígenos (proteínas) encontrados nas células de Purkinje (células do cerebelo) (HADJIVASSILIOU *et al.*, 2008).

2.8 PRINCIPAIS FATORES ENVOLVIDOS NA PATOGENIA DA DC

Em condições fisiológicas normais, o epitélio intestinal não permite a passagem de macromoléculas. A patogênese da DC resulta da interação entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais, desencadeada pela presença de glúten e outras proteínas de certos cereais, ocorrendo um comprometimento na permeabilidade intestinal, permitindo assim, a passagem de macromoléculas como o glúten e seus componentes nas junções celulares do epitélio intestinal (LIONETTI; CATASSI, 2011).

Figura 5 – Fatores etiológicos na doença celíaca.



Fonte: Adaptada de Sabatino e Corazza (2009).

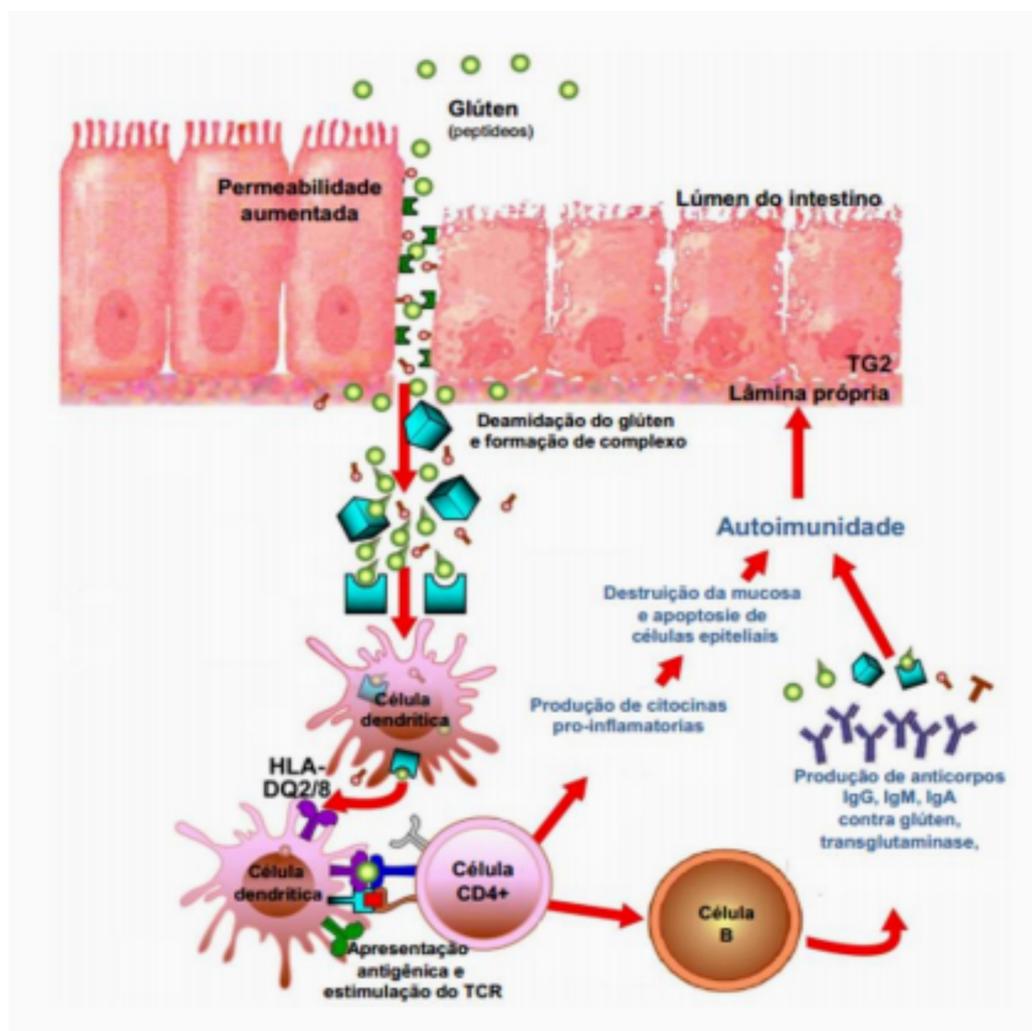
A DC é manifestada, em indivíduos geneticamente predispostos, como uma resposta imune ao glúten ingerido. O glúten, ao ser hidrolisado, transforma-se em gliadina, que se liga à Transglutaminase Tecidual (TG2), e este complexo desencadeia uma resposta imune, apresenta uma parte inata, que é efeito tóxico direto do glúten sobre o epitélio e o efeito adaptativo, que ocorre através de linfócitos T CD4+ da lâmina própria⁶ (SCHUPPAN; JUNKER; BARISANI, 2009). Neste processo, a TG2 retira radicais amino da gliadina, transformando em ácido glutâmico, que apresenta afinidade pelas moléculas DQ2 e DQ8, presentes na superfície de Células Apresentadoras de Antígeno (Antigen Presenting Cells - APCs) (CATASSI, 2015). Esse complexo induz alterações fenotípicas em várias células envolvidas na resposta imune, causando dano histológico na mucosa intestinal, levando ao desaparecimento de microvilos e achatamento do epitélio intestinal (CATASSI, 2015).

A vulnerabilidade genética para DC está associada aos heterodímeros HLA-DQ2 e HLA-DQ8, que estão envolvidos na patogênese (ABADIE *et al.*, 2011), como

⁶ Conjunto formado pelo epíteto e pelo tecido conjuntivo que recobre internamente a superfície úmida do trato gastrointestinal.

mostrado na Figura 6.

Figura 6 – Representação da patogenia da DC.



Fonte: Rocha (2016).

2.9 TRATAMENTO DAS DESORDENS RELACIONADAS AO GLÚTEN

O tratamento é basicamente dietético e consiste na modificação da alimentação, eliminando o glúten da dieta, permitindo que o intestino se regenere das lesões, no caso da DC (ARAÚJO *et al.*, 2010). Cabe mencionar que a retirada dessa proteína da dieta pode encontrar diversas barreiras: dificuldade dos celíacos em encontrar alimentos isentos de glúten, contaminação cruzada dos alimentos e a presença de glúten nos medicamentos (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Entretanto, destaca-se que se o glúten for reintroduzido na dieta os sintomas retornam (ARAÚJO *et al.*, 2010). Terapias como a suplementação oral com uma enzima de clivagem pós-prolina, administrada após ou em conjunto com a ingestão do alimento fonte de glúten, já foi testada, porém o

uso desta enzima por si só, apresentou algumas deficiências como a inativação em pH baixo e na presença de pepsina. Com o objetivo de ultrapassar este contratempo, surgiu uma terapia combinada: o uso da enzima cisteína-endoprotease EP-B2, que é ativada a pH ácido e resistente à degradação pela pepsina com a PEP (fosfoenolpiruvato) (SOLLID; KHOSLA, 2005).

O acetato de larazotide é uma outra terapia em estudo, baseada na inibição do aumento da permeabilidade intestinal. Esta droga impede que o glúten atravesse a barreira epitelial e chegue à lâmina própria. Entretanto, este mecanismo ainda não está totalmente elucidado (KHALEGHI *et al.*, 2016).

2.10 O DIAGNÓSTICO DA DC E DAS DESORDENS RELACIONADAS AO GLÚTEN

O diagnóstico da DC não mudou nos últimos vinte anos, entretanto, a DC durante este tempo passou de doença enteropática incomum para um distúrbio multiorgânico. O diagnóstico avançou, disponibilizando testes de anticorpos específicos para DC, baseados principalmente em anticorpos para antitransglutaminase, antiendomísio, antigliadina e genotipagem molecular para identificar a presença dos genes HLA-DQ2 e HLA-DQ8 (HUSBY *et al.*, 2012).

O exame histopatológico precisa conter pelo menos quatro fragmentos, como: amostra de bulbo e das porções mais distais de duodeno. As alterações histológicas características incluem um número aumentado de linfócitos intraepiteliais (IELs), alongamento das criptas, atrofia vilosa parcial a total e uma diminuição da relação vilosidade:cripta (LUDVIGSSON *et al.*, 2014), como mostra a Figura 7.

Figura 7 – Fluxograma do algoritmo para diagnóstico da DC.

Pacientes sintomáticos	Populações de alto risco		Endoscopia e achados histológicos incidentais	
↓ SOROLOGIA	↓ SOROLOGIA		↓ SOROLOGIA	
Sorologia negativa → <u>Outro diagnóstico?</u>	Sorologia negativa → <u>Doença celiaca improvável</u>		Sorologia positiva → <u>Doença celiaca</u>	
Sorologia positiva → BIOPSIA	Sorologia positiva → BIOPSIA		Sorologia negativa → Teste HLA-DQ2 e -DQ8	
Biopsia positiva → <u>Doença celiaca</u>	Biopsia negativa → <u>Doença celiaca improvável</u>	Biopsia positiva → <u>Doença celiaca</u>	Teste HLA negativo → <u>Outro diagnóstico?</u>	Teste HA positivo ↓
Biopsia negativa ↓ — Reavaliação — HLA-DQ2 e -DQ8 — Outro diagnóstico?				— Reavaliação — Considerar outros testes sorológicos

Fonte: Kelly *et al.* (2015).

Para confirmação do diagnóstico, pode-se utilizar o teste de anticorpos IgA antiendomísio (IgA-EMA). Atualmente, tem sido utilizada também, a dosagem de anticorpos antigliadina desaminada da classe IgG, geralmente em casos de crianças menores de 3 anos e indivíduos com deficiência de IgA (SAPONE *et al.*, 2012). A especificidade do anticorpo da classe IgA (71 a 97% nos adultos e 92 a 97% nas crianças) é maior do que da classe IgG (50%), sendo a sensibilidade extremamente variável em ambas as classes (HILL *et al.*, 2005). O anticorpo antiendomísio (EMA) da classe IgA apresenta alta sensibilidade em adultos (87 a 89%) e em crianças maiores de dois anos (88 a 100%), e alta especificidade (91 a 100% nas crianças e 99% em adultos) (CATASSI *et al.*, 2007).

A enzima transglutaminase (TTG) da classe IgA, tem elevada sensibilidade (92 a 100% em crianças e adultos) e especificidade (91 a 100%) (HILL *et al.*, 2005). A dosagem sérica dessa enzima se tornou o teste sorológico de escolha para avaliação inicial dos indivíduos com suspeita de intolerância ao glúten (BRASIL, 2009). Indica-se como testes diagnósticos ainda a dosagem da IgA. A avaliação sorológica deve ser feita em vigência de dieta com glúten (LUDVIGSSON *et al.*, 2014). Importa esclarecer que o protocolo antigliadina (mais sensível) e o antiendomísio (menos sensível e muito específico), podem ser usados como indicadores sorológicos, por ajudarem a caracterizar o quadro clínico, porém não são cobertos pelo SUS - Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2009).

O exame histopatológico do intestino delgado não é substituído pelos marcadores sorológicos. A biópsia intestinal deve ser requisitada: nos casos de deficiência de IgA, na suspeita clínica e nos parentes de primeiro grau de doentes celíacos, mesmo tendo sorologia negativa (LUDVIGSSON *et al.*, 2014).

2.11 VALORES LIMITES PARA A INGESTÃO DIÁRIA DE GLÚTEN PARA PACIENTES CELÍACOS

A toxicidade e a imunogenicidade da prolamina não é idêntica para todos os pacientes celíacos, o que não permite o estabelecimento de limites aceitáveis de traços de glúten em amostras livres de glúten (QUINTANA, 2011).

A quantidade de glúten prejudicial ao paciente com DC é difícil de determinar, porque a sensibilidade a esta proteína varia por indivíduo. Entretanto, estudos indicaram que 10 mg/kg de glúten diariamente são bem tolerados. Neste sentido, uma ingestão diária menor do que 10 mg/kg não deve causar alterações histológicas significativas (HISCHENHUBER *et al.*, 2006). Cabe ressaltar, que o *Codex Alimentarius* estabelece o valor de 20 mg/kg como margem de segurança para pacientes que não podem ingerir glúten (CODEX ALIMENTARIUS, 2008). Este limite foi adotado para alimentos

rotulados como “sem glúten” pelos órgãos reguladores da União Européia, Estados Unidos e Canadá. Entretanto, na Austrália e na Nova Zelândia, há uma reivindicação de que a denominação “sem glúten” para alimentos, seja relacionada a ausência da proteína (ANZFA, 2012; EC, 2009; FDA, 2013; HEALTH CANADA, 2012). A legislação japonesa é bem rígida, sendo parametrizado o valor de 10 $\mu\text{g/g}$ de glúten (AKIYAMA; IMAI; EBISAWA, 2011).

No Brasil, a quantidade aceitável de glúten não está regulamentada. A empresa produtora é a responsável pela declaração de que o produto contém ou não contém glúten, considerando os ingredientes e os processos produtivos (ANVISA, 2017). Cabe acrescentar que a legislação brasileira não permite as expressões “traços” ou “contém baixo teor de glúten” (ANVISA, 2018). A Lei nº 10.674/2003 (BRASIL, 2003a) não prevê a possibilidade de contaminação cruzada.

Uma dieta completamente livre de glúten é bem difícil de ser estabelecida pelo paciente celíaco. Observa-se que não somente a concentração de glúten no produto final é relevante, mas o total de glúten ingerido ao longo do dia, considerando-se a quantidade consumida, a frequência de consumo e o risco à exposição (AKOBENG; THOMAS, 2008).

2.12 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE GLÚTEN E DC

O arcabouço legislativo no Brasil sobre glúten (Tabela 2) representa um avanço na rotulagem dos alimentos, permitindo à população celíaca o acesso aos alimentos com maior segurança, constituindo o rótulo, um importante instrumento de proteção ao consumidor celíaco.

Com o objetivo de complementar o estudo das legislações apresentadas, é importante mencionar o Código de Defesa do Consumidor (CDC), aprovado no Brasil através da Lei nº 8.078 de 11 de setembro de 1990. O papel do referido código é o de proteger a parte mais frágil nas relações de consumo, que no caso é o consumidor. O inciso I do referido código, artigo 6º trata do direito à “proteção da vida, saúde e segurança contra os riscos provocados por práticas no fornecimento de produtos e serviços considerados perigosos ou nocivos” (BRASIL, 1990). O propósito desse dispositivo foi proteger a integridade física dos consumidores, partindo dos princípios da segurança e da prevenção. Dessa forma, esse direito se traduz não só no dever por parte dos fornecedores de dispor de produtos e serviços de qualidade e adequados, como também que este possa garantir a segurança do consumidor (JORGENSEN, 2015). Neste sentido, o rótulo dos produtos representa a primeira comunicação entre o consumidor e o fabricante (MACHADO, 2015), desempenhando papel fundamental na comunicação de risco, daí a necessidade da veracidade das informações ali contidas.

Tabela 2 – Legislação brasileira sobre DC.

Lei nº/Ano	Âmbito de ação	Órgão Regulador	Objetivo
8.543/1992 (BRASIL, 1992)	Federal	ANVISA	Determina a impressão de advertência em rótulos e embalagens de alimentos industrializados que contêm glúten, a fim de evitar a doença celíaca.
10.674/2003 (BRASIL, 2003a)	Federal	ANVISA	Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca.
RDC nº 137/2003 * (BRASIL, 2003b)	Federal	ANVISA	Exige advertência específica que terá que constar nas bulas e embalagens, de fácil leitura, frases com advertência ao uso do produto por conter glúten.
RDC nº 26/2015 * (BRASIL, 2015)	Federal	ANVISA	Estabelece os requisitos para rotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergia alimentar.
4.840/2006 (RIO DE JANEIRO, 2006)	Estadual (RJ)	ANVISA	Lei de assistência ao portador da doença celíaca, assegurando gratuitamente a realização de exames específicos e cestas básicas com produtos sem glúten.
17.254/2006 (RECIFE, 2006)	Municipal (Recife/PE)	ANVISA	Autoriza o poder executivo a manter alimentação diferenciada às crianças portadoras de diabetes, doença celíaca e intolerância à lactose na merenda escolar das escolas e creches municipais.
971/2006 (SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, 2006)	Municipal (São José dos Pinhais/PR)	ANVISA	Dispõe sobre a obrigatoriedade da distribuição de merenda diferenciada para alunos diabéticos, hipoglicêmicos e celíacos matriculados nas escolas municipais.
7.013/2007 (VITÓRIA, 2007)	Municipal (Vitória/ES)	ANVISA	Institui no Município de Vitória, o programa de assistência aos portadores de doença celíaca.
16.496/2010 (PARANÁ, 2010)	Estadual (PR)	ANVISA	Dispõe que os estabelecimentos que específica, deverão acomodar, para exibição em espaço único, produtos recomendados para pessoas com diabetes, intolerantes à lactose e doença celíaca.
11.116/2018 (BELO HORIZONTE, 2018)	Municipal (Belo Horizonte/MG)	ANVISA	Estabelece a obrigatoriedade do estabelecimento comercial apresentar a informação sobre a presença de glúten, lactose e açúcar em alimentos preparados.
6.159/2017 (RIO DE JANEIRO, 2017)	Municipal (Rio de Janeiro/RJ)	ANVISA	Estabelece obrigatoriedade aos estabelecimentos comerciais em informar a presença de glúten em alimentos preparados.

Nota (*): RDC - Resolução da Diretoria Colegiada, e não Lei.
Fonte: A autora (2020).

2.13 MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO GLÚTEN EM ALIMENTOS

Para quantificar o teor de glúten presente nos alimentos, é necessário primeiro, separá-lo de outros interferentes. Como a solubilização do glúten é difícil, a etapa de extração se torna crítica. A escolha do método adequado deve ser baseada no teor, na matriz alimentar e nos recursos disponíveis (HARASZI *et al.*, 2020). Os principais métodos utilizados para quantificação de glúten em alimentos são baseados na detecção de gliadina ou de seus peptídeos. O método imunoenzimático ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) é bastante aplicado na detecção de traços de glúten, entretanto, requer tempo e pessoas treinadas para a sua execução. Este método é baseado em um anticorpo monoclonal contendo o epítopo⁷ QQPFP (glutamina-glutamina-prolina-fenilalanina-prolina) presente nas proteínas tóxicas aos celíacos, sendo validado pelo *Codex*, que preconiza que o método de detecção a ser utilizado deva ter um limite de pelo menos 10 mg/kg (CODEX ALIMENTARIUS, 2008). Um inconveniente do teste ELISA se refere à baixa eficiência para amostras altamente processadas e no caso de amostras com chocolate, pois reage com as protoantocianidinas (PACs) presentes nessa matriz (MALVANO *et al.*, 2017; SATSUKI-MURAKAMI *et al.*, 2018). Neste caso, o desenvolvimento de um método de extração com PVP (polivinilpirrolidona) demonstrou ser eficiente para amostras de chocolate contaminadas com glúten durante o processamento ou produtos contendo cacau (SATSUKI-MURAKAMI *et al.*, 2018). A espectroscopia de fluorescência também foi testada em amostras contendo glúten e os resultados obtidos permitiram prever baixos níveis de glúten com erro relativo <10% (AHMAD; NACHE; HITZMANN, 2017). A técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é uma alternativa aos ensaios imunobiológicos, fornecendo boa correlação entre os ensaios de proteína em trigo, centeio, aveia e cevada, com limites de detecção entre 0,01 e 0,1%. É ainda ideal para identificar os cereais contaminantes quando da detecção de glúten em produtos rotulados como isentos de glúten (PIRES, 2013; PUTRA *et al.*, 2020). As técnicas de eletroforese são muito específicas e amplamente utilizadas para estudar as proteínas do glúten, com base no seu peso molecular (HARASZI *et al.*, 2020). A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é extensivamente utilizada, são exemplos: HPLC com fase reversa (RP-HPLC), HPLC por exclusão de tamanho (SE-HPLC), HPLC com ionização por *eléktron spray* (ESI), HPLC acoplada a espectrometria de massas em série (HPLC-MS) (MALVANO *et al.*, 2017).

Na Tabela 3, observam-se as metodologias mais frequentemente utilizadas para a detecção de glúten em cereais e outros alimentos, objetivando a segurança do

⁷ Epítopo é a menor porção de antígenos capaz de gerar a resposta imune.

alimento.

Tabela 3 – Métodos qualitativos e quantitativos para detecção de glúten.

Método	Objetivo	Teor de glúten na amostra	Metodologia aplicada
Qualitativo Monitoramento da segurança do alimento	Monitorar a presença/ausência de glúten; especificação na rotulagem (p.ex. não contém glúten)	Qualquer	Eletroforese em gel, PCR, HPLC-MS*
	Teste da presença de glúten quando utilizado como ingrediente do produto	Qualquer	ELISA, HPLC-MS
Quantitativo Aplicado à segurança do alimento e rotulagem	Rotulagem do alimento (alimentos livres de glúten <20 mg/kg)	Baixo	ELISA, HPLC-MS
	Amostras com quantidades “bem baixas” de glúten (21 a 100 mg/kg)	Baixo	ELISA, HPLC-MS
	Quantificação de glúten parcialmente ou totalmente hidratado	Baixo	ELISA, HPLC-MS
	Validação do procedimento de higienização da linha de produção	Baixo	ELISA

Nota: HPLC-MS: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência aplicada a Espectrometria de Massas.
Fonte: Adaptada de Haraszi *et al.* (2020).

Destaca-se ainda que Taylor e colaboradores avaliaram um dispositivo portátil para os consumidores testarem os níveis de glúten nos alimentos. Após a contaminação das amostras com concentrações de glúten conhecidas, e comparando o equipamento com outras metodologias, como o método ELISA, os pesquisadores observaram que o dispositivo funcionou com maior confiabilidade, conforme os níveis de glúten nos alimentos aumentaram (TAYLOR *et al.*, 2018).

2.14 ALTERNATIVA DA INDÚSTRIA PARA ALIMENTOS ISENTOS DE GLÚTEN

Existe uma preocupação mundial para substituir o trigo, visando atender à população hipersensível ao glúten, entre elas os celíacos. Uma forte tendência é o desenvolvimento de novos produtos de panificação sem esta proteína no mercado nacional e internacional, entretanto, alguns sem apelo funcional e de baixa qualidade sensorial (FERREIRA *et al.*, 2009). No entanto, atualmente a indústria de alimentos tem se esforçado no desenvolvimento de alimentos isentos de glúten, através da adição de

ingredientes funcionais (RAHAIE *et al.*, 2014). A farinha de coco é uma alternativa de ingrediente funcional e sem glúten, rica em fibras, proteínas, lipídios e sais minerais, ademais é pobre em triglicerídeos e colesterol ruim (COPRA, 2020). A substituição total ou parcial do trigo pode ser feita pela farinha de soja, esta mistura de farinha melhora a textura do produto, favorece o cozimento e melhora a qualidade nutricional (SCHMIELE *et al.*, 2013). A fécula de mandioca adicionada a preparações sem glúten contribui para a crocância e coloração clara dos produtos, esta mistura apresenta grande aceitação (VIEIRA *et al.*, 2010). Ao serem adicionados a produtos isentos de glúten, quinoa e amaranto aumentam o valor nutritivo das formulações, apresentando um elevado teor proteico, em particular dos aminoácidos lisina e histidina; de fibras, sais minerais e vitaminas (CAPRILES; ARÊAS, 2011; GIOVANELLA; SCHLABITZ; SOUZA, 2013). A substituição do glúten por hidrocolóides, como a hidroxipropilmetilcelulose, permite a aquisição de pães com maior volume, devido à sua capacidade de reter gás (COLLA *et al.*, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o teor de glúten em produtos industrializados rotulados como “isentos de glúten”, comercializados no município do Rio de Janeiro.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o teor de glúten através do método de ensaio imunoenzimático ELISA;
- Propor ações a serem delineadas, por parte da indústria e dos órgãos reguladores que impulsionem a mitigação de riscos à saúde pública;
- Relacionar as possibilidades de contaminação cruzada nos alimentos rotulados como “isentos de glúten”.

4 MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal exploratório quantitativo, dividido em quatro etapas: (I) coletas das amostras pela Subvisa; (II) preparo das amostras; (III) extração das amostras e (IV) análise das amostras pelo método ELISA.

A técnica utilizada para detecção do glúten nos produtos alimentícios foi o teste ELISA sanduíche, esta técnica é baseada no emprego de dois anticorpos monoclonais (MAbs) como anticorpos de revestimento e um terceiro MAb conjugado à peroxidase. No presente trabalho, foi utilizado o Kit RIDASCREEN Gliadin (R-Biopharma), ensaio imunoenzimático para a detecção de glúten nos produtos industrializados. As pesquisas de detecção e quantificação de glúten nos alimentos foram realizadas na Vigilância Sanitária do Rio de Janeiro. O método é validado e certificado pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists) sob a licença nº 120.601 e método oficial do *Codex Alimentarius*. Todos os reagentes necessários para o ensaio imunoenzimático, incluindo os padrões, estão contidos no Kit. O R5-ELISA foi capaz de identificar gliadinas, hordeínas e secalinas com sensibilidades de ensaio de 0,78, 0,39 e 0,39 ng/mL, respectivamente. O limite de detecção do ensaio foi de 0,5 mg/kg de gliadinas ou 1 mg/kg de glúten e de quantificação de 2,5 mg/kg de gliadina e 5 mg/kg de glúten. Esse limite de detecção é ainda melhor do que o exigido na recomendação mais recente do *Codex*, 20 mg/kg, sendo portanto conveniente para este trabalho.

O ELISA garante uma alta reatividade cruzada com a maioria das famílias potencialmente tóxicas das proteínas gliadina, hordeína, secalina e avenina, e também é capaz de detectá-las em produtos não processados termicamente.

O fundamento do teste é uma reação onde o antígeno fica entre dois anticorpos conjugados por enzima. Esse complexo se liga ao antígeno-anticorpo posteriormente formado, e adiciona-se um substrato e um cromogênio que passa do incolor para o azul, e depois coloca-se uma solução de parada transformando o azul em amarelo. A intensidade desta coloração amarela, medida pelo leitor de microplacas ELISA modelo Polares a 450 nm, é proporcional à quantidade de gliadina na amostra, como visto na Figura 10.

Traça-se uma curva com os 6 padrões de gliadina de concentrações conhecidas, apresentando uma relação entre a absorbância e a concentração. As concentrações de glúten das amostras foram determinadas por interpolação da média das absorbâncias dos padrões de gliadina do Kit.

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Para a condução do presente estudo, foram adquiridos produtos que substituam na dieta de portadores da DC. As amostras foram coletadas pelos fiscais da Subvisa, em supermercados e lojas especializadas em produtos dietéticos na cidade do Rio de Janeiro, levando em consideração a advertência da rotulagem, “não contém glúten”, e composição baseada em ingredientes naturalmente sem glúten. As embalagens, contendo os produtos, foram colocadas individualmente dentro de um saco plástico próprio da vigilância sanitária para alimentos, previamente identificados e lacrados. Essa coleta faz parte do programa da Subvisa de monitoramento de produtos rotulados como isentos de glúten. Não foram coletadas amostras a granel, com o objetivo de evitar contaminações oriundas do ambiente ou do manuseio. A amostra constou de 127 produtos de variadas marcas, distribuídos da seguinte maneira: Biscoitos (n=37), leite e derivados (n=54), farinhas (n=15), barra de cereais (n=2), pão, macarrão e bolo (n=8), snacks (n=7), geléia de mocotó (n=1), açúcar demerara (n=1), mostarda (n=2).

4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas em triplicatas, duas foram encaminhadas à recepção de amostras do Laboratório de Análise de Saúde Pública do Rio de Janeiro (LASP), e a terceira ficou no estabelecimento para uma possível contraprova. No LASP, foi verificada a temperatura e efetuou-se o cadastro das amostras no sistema *Harpya*¹. Logo após, as amostras foram entregues no setor de físico química (FQ); uma a ser analisada e outra como testemunha, que ficará lacrada.

Considerando a possibilidade de contaminação cruzada, foi reservada uma área segregada para análise de glúten no laboratório de FQ, espaço físico onde não há risco de partículas em suspensão que possam contaminar as amostras que serão analisadas.

Antes e após a manipulação de cada ensaio, todo material e superfície da bancada onde se manipula as amostras foram higienizados com detergente, água e solução de álcool a 60% (v/v). No fluxo laminar, as amostras sólidas foram trituradas em um multiprocessador até virar pó, homogeneizadas e armazenadas em tubo estéril. As amostras em pó e líquida, antes do uso, foram homogeneizadas e utilizadas diretamente, e às que contêm tanino e polifenol (chocolate, café, cacau, farinha de castanha, trigo sarraceno, painço e temperos), foi adicionado leite em pó desnatado sem glúten.

¹ Armazenador de dados da Subvisa.

4.3 EXTRAÇÃO DA AMOSTRA

As frações protéicas do glúten foram extraídas com 2-mercaptoetanol e solução aquosa de etanol 80% (v/v), de acordo com o seguinte procedimento, também demonstrado na Figura 8:

1. Pesar 0,25 g ou medir 0,25 mL da amostra moída e homogeneizada em tubo de polipropileno, e se tiver taninos ou polifenol, adicionar 0,25 g de leite desnatado sem glúten;
2. Adicionar 2,5 mL do cocktail (2-mercaptoetanol);
3. Homogeneizar por 30 segundos em homogeneizador (vórtex);
4. Incubar a 50 °C por 40 min em banho-maria;
5. Esfriar e adicionar 7,5 mL de álcool a 80%;
6. Homogeneizar em agitador orbital a 50 rpm por 1 hora;
7. Filtrar em papel-filtro.

O filtrado pode ser armazenado por até 7 dias, já o filtrado diluído deve ser utilizado no mesmo dia.

Figura 8 – Método de Extração.



Fonte: A autora (2020).

4.4 ANÁLISE DAS AMOSTRAS PELO MÉTODO ELISA

As pesquisas de detecção e quantificação de glúten nos alimentos foram feitas através do Kit RIDASCREEN Gliadin (R-Biopharma), após a recuperação das gliadinas extraídas. Para a realização do ensaio, foram adicionados 100 μL de cada solução padrão de gliadina em triplicata nos poços da placa, e 100 μL dos filtrados das amostras diluídos em tampão na proporção de 1:5. A placa foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente, para permitir a formação do complexo Antígeno-Anticorpo (Ag-Ac) entre o anticorpo monoclonal R5 imobilizado na placa e os padrões e os antígenos das amostras. Logo após este tempo, os poços foram drenados e lavados com tampão de lavagem em lavadora automática de placas por 3 vezes, removendo todo resíduo não fixado, como mostra a Figura 8. Após a lavagem, foi adicionado 100 μL de conjugado (anticorpo marcado com peroxidase) a cada poço, misturados, e a placa foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente. Esse procedimento é feito para ligar o conjugado ao complexo Ag-Ac com gliadina, que está fixado na placa (formando Ac-Ag-Ac-Enzima). Novamente, a placa foi lavada com tampão de lavagem e drenada por 3 vezes. Depois, foram adicionados 50 μL de substrato e 50 μL de cromógeno em cada poço. A placa foi incubada durante 30 minutos à temperatura ambiente, no escuro. Ao se ligar à peroxidase, as amostras apresentam uma coloração azul. Por fim, foram adicionados 100 μL de solução de parada (1N de ácido sulfúrico) para interrupção da reação em cada poço, desenvolvendo uma coloração amarela. A placa foi lida em leitora de placas (mostrada na Figura 9), utilizando a absorbância a 450 nm, de acordo com a intensidade da cor.

Figura 9 – Leitora de microplacas e lavadora.



Fonte: A autora (2020).

4.5 REAGENTES

- Placa com poços de microtitulação, revestidos com anticorpos antigliadina;
- Padrões de Gliadina 1,3 mL (concentração conhecida do analito com controle negativo): 0 ppb (padrão zero), 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 40 ppb, 80 ppb de gliadina em solução aquosa pronto para uso;
- Conjugado – Concentrado de anticorpo conjugado com peroxidase;
- Substrato – Contém peróxido de ureia-tetrametilbenzidina (TMB);
- Cromógeno (tetrametilbenzina);
- Solução de Parada (1 N de ácido sulfúrico).

4.6 EQUIPAMENTOS

- Leitor ELISA – Marca Nova Instrumente NI 1720;
- Mesa agitadora – Marca Nova Técnica;
- Multiprocessador - All in one 2 Marca Philco;
- Banho-maria (50 °C/ 122 °F).

4.7 PREPARO DOS REAGENTES

- Diluente da amostra
Diluir na proporção de 1:5 com água destilada;
- Anticorpos conjugados
Diluir na proporção de 1:10 com água destilada;
- Solução de lavagem
Diluir na proporção de 1:9 com água destilada.

A interpretação quantitativa foi realizada pela inserção dos micropoços em um leitor de placa, o qual mede precisamente a densidade ótica de todas as amostras e padrões ao mesmo tempo, usando o *software* fornecido com o leitor.

A concentração de gliadina, em $\mu\text{g kg}^{-1}$, é determinada por meio da equação obtida a partir de uma curva de calibração, apresentada na Figura 10. Os padrões e

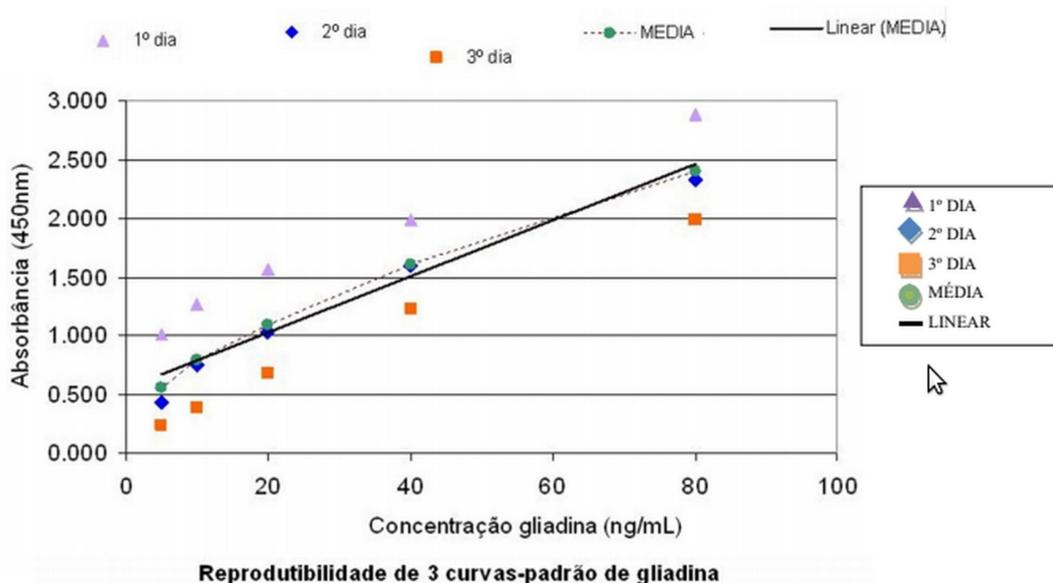
amostras foram analisados em triplicata e as concentrações de glúten das amostras foram determinadas por interpolação da média das absorvâncias obtidas através da curva padrão pré-estabelecida com os padrões de gliadina. O conteúdo de glúten foi calculado de acordo com a Equação 4.1:

$$\text{mg/kg de glúten} = C \times F \times 2, \quad (4.1)$$

onde C representa concentração de gliadina obtida na curva padrão, F representa o fator de diluição do extrato (500), e 2 porque o kit identifica gliadina, que representa cerca de 50% do glúten.

A curva constituída com soluções padrões de gliadina nas concentrações de 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 40 ppb e 80 ppb, com resposta linear ($r^2=0,9736$), pode ser observada na Figura 10.

Figura 10 – Curva padrão de gliadina.



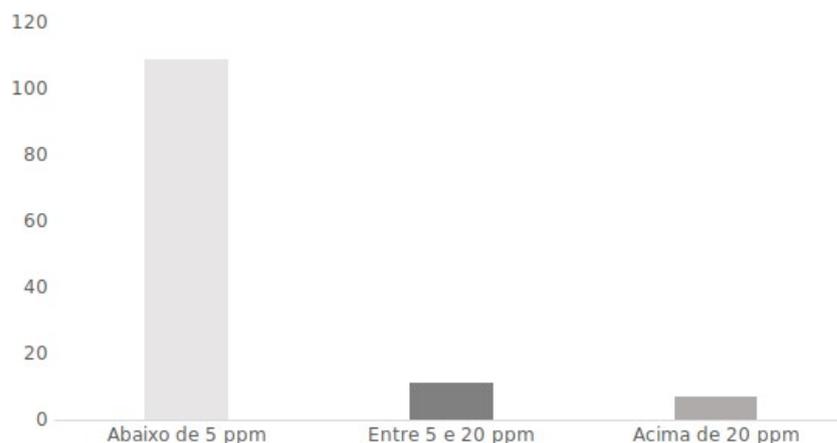
Fonte: Kit RIDASCREEN® Gliadin (R Biopharm - Art. N R7001).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 127 amostras, rotuladas como livres de glúten, e assim, destinadas à população celíaca. Desde a Tabela 6 até a Tabela 11, nos Apêndices, apresenta-se a quantificação de glúten em amostras rotuladas como isentas de glúten, comercializadas na cidade do Rio de Janeiro.

Das 127 amostras analisadas, rotuladas como livres de glúten e assim destinadas à população específica, observou-se que 7 amostras (5,5%) apresentaram resultados superiores a 20 mg/kg; em 11 amostras (8,7%) verificou-se que os valores de glúten estavam entre 5 e 20 mg/kg e nas restantes (85,8%) os resultados se encontravam abaixo do limite de quantificação do método, como se vê na Figura 11.

Figura 11 – Quantificação de glúten em amostras rotuladas como livres de glúten.

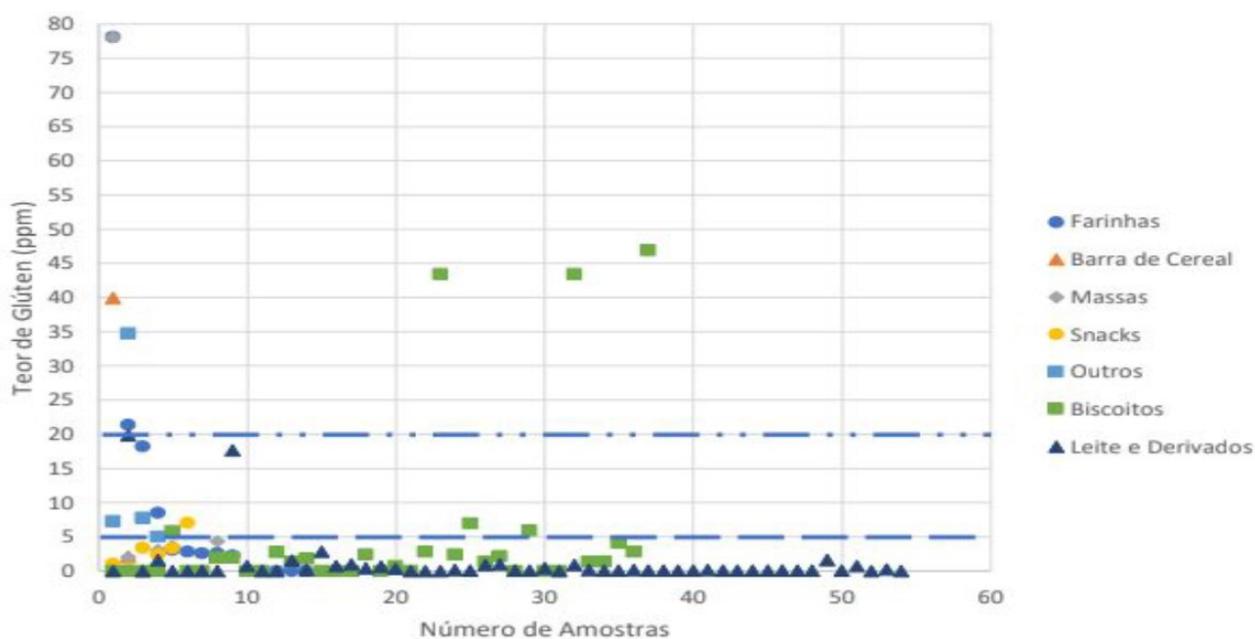


Fonte: A autora (2020).

Os resultados obtidos não devem ser interpretados de forma isolada, pois o efeito cumulativo que pode ser alcançado através da dieta necessita ser levado em consideração. É reconhecido que essa tolerância é bastante variável para cada indivíduo (FALCOMER *et al.*, 2020). Neste sentido, cabe observar que segundo a recomendação do *Codex*, os valores até 20 mg/kg são considerados aceitáveis para o consumo de alimentos sem glúten por pacientes celíacos (CODEX ALIMENTARIUS, 2008). Neste contexto, a legislação europeia se baseia nesta diretiva do *Codex* e ainda admite a menção no rótulo “teor muito baixo de glúten” para os alimentos que contiverem até 100 mg/kg (COMISSÃO EUROPEIA, 2014). No Brasil, a quantidade aceitável de glúten não está regulamentada. A empresa produtora é a responsável pela declaração de que o produto contém ou não contém glúten, considerando os ingredientes e os processos produtivos (ANVISA, 2017). De acordo com esta diretriz, 18 amostras (14,2%) se encontravam contaminadas (acima da linha de 5 mg/kg), como

visto na Figura 12.

Figura 12 – Amostras com resultados ≥ 5 mg/kg.



Fonte: A autora (2020).

Dentre o grupo de amostras contaminadas, mostradas na Tabela 4, encontravam-se alimentos panificados como pão, biscoitos e ainda farinhas, com destaque para a amostra de pão light, cujo resultado foi de 78,150 mg/kg de glúten.

A composição dos biscoitos e das farinhas analisadas era representada pelas matérias-primas arroz, milho, soja e mandioca, que apresentam significativa chance de contaminação, com exceção da mandioca (SILVA, 2010). Entretanto, no presente estudo, para o produto chips de mandioca, o resultado encontrado foi de 7,056 mg/kg. De fato, com a exclusão do trigo da dieta, é comum buscar alternativas com base em outras fontes de amido. Estudos desenvolvidos por Kim, Yun e Jeong (2015) e Nogueira *et al.* (2020) destacaram que o milho, a batata, o feijão, o arroz e a mandioca são comumente adicionados a produtos industrializados sem glúten. Hager *et al.* (2012) também sugeriram outros cereais como amaranto, trigo sarraceno, chia, quinoa, sorgo, teff e milheto. O mais importante é que independente do cereal utilizado, as matérias-primas sejam certificadas como *gluten free* ou testadas através de kits qualitativos na recepção. Este ponto de vista é reforçado pelo resultado obtido na análise da amostra de açúcar demerara, cujo resultado foi 34,74 mg/kg de glúten. O açúcar, normalmente, é um dos principais ingredientes de produtos panificados e somente a sua adição, poderia contribuir para ultrapassar os limites de quantificação dos métodos analíticos.

Segundo Rovedo (2018), muitos são os processos inerentes à cadeia produtiva de alimentos, que podem permitir a contaminação cruzada. A começar no plantio,

através da adoção de técnicas de rotação de culturas ou mesmo na eleição de substratos à base de trigo; na colheita pelo compartilhamento das máquinas agrícolas, no armazenamento em silos, onde a estocagem não ocorre de forma seletiva, assim como durante o transporte.

Tabela 4 – Amostras analisadas contaminadas com glúten (≥ 5 mg/kg).

Amostras analisadas	Teor de glúten (mg/kg)
Pão light	78,15
Biscoito sequilho sabor abacaxi	46,93
Biscoito integral de café com cobertura de chocolate	43,46
Barra de cereal sabor banana	40,00
Açúcar demerara	34,74
Farinha sem glúten	21,40
Bebida láctea sabor chocolate	19,84
Farinha sem glúten	18,24
Bebida láctea sabor graviola	17,69
Farinha sem glúten	8,531
Mostarda amarela	7,800
Geleia de mocotó sabor natural	7,345
Chips de mandioca	7,056
Biscoito sequilho sabor laranja	6,948
Biscoito linhaça dourada	5,938
Biscoito de arroz integral	5,870
Mostarda amarela	5,000

Fonte: A autora (2020).

Ademais, essa contaminação pode surgir em qualquer estágio da fabricação. O uso de áreas exclusivas para fabricação dos produtos é uma prática essencial. No entanto, em situações onde tal fato não é possível, a separação de áreas por barreiras físicas deve ser implementada (ANMAT, 2018; ANVISA, 2018). Considerando-se as etapas básicas de qualquer processo produtivo, a Tabela 5 demonstra as principais medidas de controle a serem estabelecidas no controle da contaminação por glúten.

Reforça-se a necessidade de elaboração dos documentos operacionais, com consequente registro dos controles efetuados, que servirão de base para os procedimentos de rastreabilidade e auditorias.

Observa-se que a implementação de um programa de gestão voltado à mitigação de riscos de contaminação por glúten no processo produtivo, exigirá investimentos e sobretudo o comprometimento de todos os envolvidos.

Tabela 5 – Principais medidas de controle a serem adotadas com base na gestão de glúten na elaboração de produtos industrializados.

Principais medidas de controle	
Etapas	
Recepção de matérias-primas, ingredientes e insumos	<ul style="list-style-type: none"> • Implementar um programa de qualificação de fornecedores com base nos critérios de análises laboratoriais e auditorias. • Identificar os lotes recebidos, através de observação visual dos dizeres do rótulo (livre de glúten). • Verificar a integridade das embalagens. • Atentar para que o veículo de transporte seja específico para alimentos sem glúten.
Armazenamento	<ul style="list-style-type: none"> • Separar e identificar as matérias-primas, ingredientes e insumos. O local de armazenamento deve ser específico. • Utilizar a limpeza a seco, evitando a suspensão de partículas. • Utilizar codificação diferenciada para matérias-primas, ingredientes e insumos sem glúten.
Pesagem	<ul style="list-style-type: none"> • Descrever detalhadamente a formulação para que não haja erros na etapa. • Utilizar uma balança com leitor de código de barras, para facilitar o fluxo de informações. • Sugere-se que essa seja uma área de acesso restrito.
Processo Produtivo	<ul style="list-style-type: none"> • Disponibilizar uma linha específica para a produção, não compartilhando equipamentos. • Se não for possível ter uma linha específica de produção, realizar o planejamento, priorizando os alimentos livres de glúten. Validar a higienização da linha antes da produção. • Controlar as partículas em suspensão, evitando o uso de equipamentos de higienização que promovam aerossóis. • Separar e identificar os utensílios através de cores. • Trocar diariamente de uniformes. Avaliar a necessidade de retirada do uniforme antes da ida ao refeitório ou implementar o uso de uniforme descartável. • Evitar o uso de luvas vinílicas, à base de látex e nitrílicas que contenham amido para facilitar o calçamento. • Validar os procedimentos de higienização de equipamentos, através do uso de kits. • Capacitar os colaboradores.

Fonte: Adaptada de ANMAT (2018), ANVISA (2018), Cantanhede (2015, 2018), Magalhães *et al.* (2017).

6 CONCLUSÃO

No presente estudo, 14% das amostras analisadas apresentaram contaminação por glúten, levando-se em consideração o limite de quantificação (5 mg/kg) da metodologia utilizada.

A técnica ELISA demonstrou eficiência na detecção de baixos teores de glúten nas amostras analisadas.

Os resultados apresentados indicaram possíveis falhas na cadeia produtiva, envolvendo inclusive práticas que propiciam a contaminação cruzada.

Destaca-se que o rótulo dos alimentos deve subsidiar o consumidor com informações fidedignas, de forma que a sua saúde não seja colocada em risco.

Vigilância Sanitária é a parcela do poder de polícia do Estado destinada à proteção e promoção da saúde, que tem como principal finalidade impedir que a saúde humana seja exposta a riscos ou, em última instância, combater as causas dos efeitos nocivos que lhe forem gerados, em razão de alguma distorção sanitária.

Este trabalho teve como objetivo, junto com a Vigilância Sanitária, melhorar a vida das pessoas que têm a doença celíaca ou algum agravo ao glúten, diminuindo os efeitos negativos e impedindo que essas pessoas sejam expostas a riscos.

Quanto aos órgãos reguladores, faz-se necessária a adoção de políticas de monitoramento contínuo dos alimentos rotulados como livres de glúten, com o objetivo de proteger a população vulnerável.

REFERÊNCIAS

ABADIE, V. *et al.* Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annual review of immunology*, Annual Reviews, v. 29, p. 493–525, 2011.

ABITRIGO. *Brasil. Importação de trigo por estado*. 2019. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/wp-content/uploads/2019/09/1.TRIGO-IMPORT-2019.xlsxAgrupar-1.pdf>>. Acesso em: 01 set 2020.

ABITRIGO. *Produção mundial de trigo*. 2020. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/wp-content/uploads/2019/09/PRODU%C3%87%C3%83OMUNDIAL-DE-TRIGO-USDA-2020.pdf>>. Acesso em: 01 set 2020.

AHMAD, M. H.; NACHE, M.; HITZMANN, B. Potential of fluorescence spectroscopy in detection of low-levels of gluten in flour: A preliminary study. *Food Control*, Elsevier, v. 73, p. 401–405, 2017.

AKIYAMA, H.; IMAI, T.; EBISAWA, M. Japan food allergen labeling regulation—history and evaluation. In: *Advances in food and nutrition research*. [S.l.]: Elsevier, 2011. v. 62, p. 139–171.

AKOBENG, A. K.; THOMAS, A. G. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Wiley Online Library, v. 27, n. 11, p. 1044–1052, 2008.

AL-BAWARDY, B. *et al.* Celiac disease: a clinical review. *Abdominal Radiology*, Springer, v. 42, n. 2, p. 351–360, 2017.

ANMAT. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Guía de Buenas Prácticas de Manufactura - Establecimientos Elaboradores de Alimentos Libres de Gluten. Ministerio de Salud, Argentina, 2018. Disponível em: <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Guia_BPM_ALG_formato_Web.pdf>. Acesso em: 14 set 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Perguntas e respostas – Rotulagem de alimentos alergênicos. Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia para alegações. Gerência Geral de Alimentos. 2017. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/2810640/rotulagem+de+Alerg%C3%Aanicos/283b1a22-d923-4eb1-95fa-cb1a662b7846>>. Acesso em: 09 set 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia sobre Programa de Controle de Alergênicos. Guia n.05/2018. Versão n.2. 16 de out. 2018. 2018. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2779039/%281%29Guia+Programa+Controle+de+Alergenicos+versao+2.pdf/69af35f5-cc11-412e-ade5-4d47fef14f5e>>. Acesso em: 15 mar 2019.

ANZFA. *Australian New Zealand Food Standards Code: Standard 1.2.1 – Labelling and other information requirements; Standard 1.2.8 – Nutrition information requirements*. Australia: Australia New Zealand Food Agency, Government of Australia, 2012.

ARAÚJO, H. M. C. *et al.* Doença celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 23, n. 3, p. 467–474, 2010.

BALAKIREVA, A. V.; ZAMYATNIN, A. A. Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 8, n. 10, p. 644, 2016.

BELO HORIZONTE. Minas Gerais. Lei Municipal nº 11.116, de 21 de junho de 2018 de Belo Horizonte - MG. Dispõe sobre informação nutricional ao consumidor, nas formas que menciona. *Câmara Municipal de Belo Horizonte*, 2018.

BENEVIDES, C. M. J. *et al.* Fatores antinutricionais em vegetais. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 24, n. 3, p. 321–327, 2013.

BIESIEKIERSKI, J. R. What is gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, Wiley Online Library, v. 32, p. 78–81, 2017.

BOM, A. T. *et al.* *Alergia Alimentar*. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2013.

BRASIL. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 1990.

BRASIL. Lei nº 8.543, de 23 de dezembro de 1992. Determina a impressão de advertência em rótulos e embalagens de alimentos industrializados que contenham glúten, a fim de evitar a doença celíaca ou síndrome celíaca. *Diário Oficial da União*, 1992.

BRASIL. Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. *Diário Oficial da União*, 2003a.

- BRASIL. Resolução RDC nº 137, de 29 de maio de 2003. Determina a impressão de advertência em bulas e embalagens que contém glúten. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 2003b. Disponível em: <http://www.cff.org.br/userfiles/file/resolucao_sanitaria/137.pdf>. Acesso em: 29 mar 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria MS/SAS nº 307, de 17 de setembro de 2009. (Republicada em 26/05/2010). Protocolo Clínico da Doença Celíaca. *Diário Oficial da União*, 2009. Disponível em: <http://www.fenacelbra.com.br/arquivos/protocolo_clinico_do_SUS_para_Doenca_Celiaca_2010.pdf>. Acesso em: 03 mar 2019.
- BRASIL. Resolução RDC nº 26, de 02 de julho de 2015. Dispõe sobre os requisitos para rotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergias alimentares. *Diário Oficial da União*, 2015.
- CANTANHEDE, V. *Látex na indústria de alimentos. Afinal, ele é permitido?* Food Safety Brazil, Conteúdo para a Segurança de Alimentos, 2015. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/latex-na-industria-de-alimentos-afinal-e-e-permitido>>. Acesso em: 13 mai 2020.
- CANTANHEDE, V. *Uniforme nas indústrias de alimentos – preciso tirá-lo antes das refeições?* Food Safety Brazil, Conteúdo para a Segurança de Alimentos, 2018. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/uniforme-nas-industrias-de-alimentos-preciso-tira-lo-ante-das-refeicoes>>. Acesso em: 05 ago 2020.
- CAPILI, B.; CHANG, M.; ANASTASI, J. K. A clinical update: Nonceliac gluten sensitivity—is it really the gluten? *The Journal for Nurse Practitioners*, Elsevier, v. 10, n. 9, p. 666–673, 2014.
- CAPRILES, V. D.; ARÊAS, J. A. G. Avanços na produção de pães sem glúten: aspectos tecnológicos e nutricionais. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 29, n. 1, 2011.
- CATASSI, C. Gluten sensitivity. In: *Annals of Nutrition and Metabolism*. Switzerland: Karger Publishers, 2015. v. 67, n. Suppl. 2, p. 16–26.
- CATASSI, C. *et al.* A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Oxford University Press, v. 85, n. 1, p. 160–166, 2007.
- CAVINATTO, J. N. Doença celíaca e introdução do glúten na dieta infantil: avaliação dos riscos e benefícios. *International Journal of Nutrology*, Thieme Revinter Publicações Ltda, v. 10, n. S 01, p. S294–S297, 2017.

CODEX ALIMENTARIUS. Padrão para alimentos para uso em dietas especiais para pessoas com intolerância ao glúten. Adotado em 1979. Alteração: 1983 e 2015. Revisão: 2008. *CODEX STAN 118-1979*, 2008.

COLLA, L. M. *et al.* Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, Elsevier, v. 98, n. 7, p. 1489–1493, 2007.

COMISSÃO EUROPEIA. Regulamento de Execução (UE) n. 828/2014 da Comissão, de 30 de Julho de 2014, relativo aos requisitos de prestação de informações aos consumidores sobre a ausência ou a presença reduzida de glúten nos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia, 2014. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0828&from=PT>>. Acesso em: 14 set 2020.

COPRA. *Farinha de coco*. Copra Alimentos, 2020. Disponível em: <<https://www.copraalimentos.com.br/nossosprodutos/farinha-de-coco/>>. Acesso em: 27 dez 2020.

EC. *Commission regulation (EC) n° 41/2009 of January 2009 concerning the composition and labelling of foodstuffs suitable for people intolerant to gluten*. European Commission. 2009.

ELLI, L. *et al.* Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, Baishideng Publishing Group Inc, v. 21, n. 23, p. 7110, 2015.

FALCOMER, A. L. *et al.* Gluten contamination in food services and industry: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Taylor & Francis, v. 60, n. 3, p. 479–493, 2020.

FAO. *Food and Agriculture Organization of the United Nation. World food situation*. 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en>>. Acesso em: 31 ago 2020.

FARAGE, P. *et al.* Content validation and semantic evaluation of a check-list elaborated for the prevention of gluten cross-contamination in food services. *Nutrients*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 9, n. 1, p. 36, 2017.

FASANO, A. *et al.* Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition consensus report on celiac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, LWW, v. 47, n. 2, p. 214–219, 2008.

FDA. *Food labelling; Gluten-free labelling of foods*. USA: Food and Drug Administration Agency, Federal Register/Rules and Regulations, v. 78, n. 150, 2013.

FERREIRA, F.; INÁCIO, F. Patologia associada ao trigo: Alergia IgE e não IgE mediada, doença celíaca, hipersensibilidade não celíaca, FODMAP. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, Lisboa, v. 26, n. 3, p. 171–187, 2018.

FERREIRA, S. M. R. *et al.* Cookies sem glúten a partir da farinha de sorgo. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, José Félix Chávez Pérez, v. 59, n. 4, p. 433, 2009.

GIOVANELLA, C.; SCHLABITZ, C.; SOUZA, C. F. V. de. Caracterização e aceitabilidade de biscoitos preparados com farinha sem glúten. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 7, n. 01, p. 965–976, 2013.

GOUVEIA, P. F. d. *Avaliação de contaminação por glúten em alimentos isentos de glúten comercializados em panificadoras*. 57 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) — Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

HADJIVASSILIOU, M.; SANDERS, D. D.; AESCHLIMANN, D. P. Gluten-related disorders: gluten ataxia. *Digestive Diseases*, Karger Publishers, v. 33, n. 2, p. 264–268, 2015.

HADJIVASSILIOU, M. *et al.* Gluten sensitivity: from gut to brain. *The Lancet Neurology*, Elsevier, v. 9, n. 3, p. 318–330, 2010.

HADJIVASSILIOU, M. *et al.* Gluten ataxia. *The Cerebellum*, Springer, v. 7, n. 3, p. 494–498, 2008.

HAGER, A.-S. *et al.* Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *European Food Research and Technology*, Springer, v. 235, n. 2, p. 333–344, 2012.

HARASZI, R. *et al.* Gluten analysis. In: IGREJAS, G.; IKEDA, T. M.; GUZMÁN, C. (Ed.). *Wheat Quality For Improving Processing And Human Health*. Switzerland: Springer, 2020. p. 109–143. ISBN 978-3-030-34163-3.

HEALTH CANADA. *Health Canada's Position on Gluten-Free Claims*. Canada: Health Canada, 2012. Disponível em: <https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/fn-an/alt_formats/pdf/securit/allerg/cel-coe/gluten-position-eng.pdf>. Acesso em: 03 set 2020.

HERNÁNDEZ-ESPINOSA, N. *et al.* Milling, processing and end-use quality traits of CIMMYT spring bread wheat germplasm under drought and heat stress. *Field Crops Research*, Elsevier, v. 215, p. 104–112, 2018.

HILL, I. D. *et al.* Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the north american society for pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, LWW, v. 40, n. 1, p. 1–19, 2005.

HILL, I. D. *et al.* NASPGHAN clinical report on the diagnosis and treatment of gluten-related disorders. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, LWW, v. 63, n. 1, p. 156–165, 2016.

HISCHENHUBER, C. *et al.* Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, Wiley Online Library, v. 23, n. 5, p. 559–575, 2006.

HOLLON, J. *et al.* Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity. *Nutrients*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 7, n. 3, p. 1565–1576, 2015.

HUSBY, S. *et al.* European society for pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, LWW, v. 54, n. 1, p. 136–160, 2012.

JORGENSEN, S. K. *O direito do consumidor como instrumento de proteção à saúde no contexto da segurança de alimentos*. 71 p. Monografia (Especialização em Segurança Alimentar e Qualidade Nutricional) — Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

KAUR, A.; SHIMONI, O.; WALLACH, M. Celiac disease: from etiological factors to evolving diagnostic approaches. *Journal of Gastroenterology*, Springer, v. 52, n. 9, p. 1001–1012, 2017.

KELLY, C. P. *et al.* Advances in diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*, Elsevier, v. 148, n. 6, p. 1175–1186, 2015.

KHALEGHI, S. *et al.* The potential utility of tight junction regulation in celiac disease: focus on larazotide acetate. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, SAGE Publications, London, v. 9, n. 1, p. 37–49, 2016.

KIM, M.; YUN, Y.; JEONG, Y. Effects of corn, potato, and tapioca starches on the quality of gluten-free rice bread. *Food Science and Biotechnology*, Springer, v. 24, n. 3, p. 913–919, 2015.

KUKTAITE, R.; RAVEL, C. Wheat gluten protein structure and function: Is there anything new under the sun? In: *Wheat Quality For Improving Processing And Human Health*. [S.l.]: Springer, 2020. p. 9–19.

LAUREANO, Á. M. *Análise da presença de glúten em alimentos rotulados como livres de glúten através de ensaio imunoenzimático e de fitas imunocromatográficas*. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Gastroenterologia) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

LIONETTI, E.; CATASSI, C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *International Reviews of Immunology*, Taylor & Francis, v. 30, n. 4, p. 219–231, 2011.

LOSIO, M.-N. *et al.* A survey study on safety and microbial quality of “gluten-free” products made in Italian pasta factories. *Food Control*, Elsevier, v. 73, p. 316–322, 2017.

LUDVIGSSON, J. F. *et al.* Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut*, BMJ Publishing Group, v. 63, n. 8, p. 1210–1228, 2014.

LUDVIGSSON, J. F. *et al.* The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*, BMJ Publishing Group, v. 62, n. 1, p. 43–52, 2013.

MACHADO, R. L. P. *Manual de rotulagem de alimentos*. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos - Documentos (INFOTECA-E), n. 119, 2015. 24 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/142308/1/DOC-119.pdf>>. Acesso em: 17 ago 2020.

MAGALHÃES, J. P. *et al.* Riscos de contaminação por glúten em um restaurante universitário com preparações para indivíduos celíacos: um estudo de caso. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA), v. 37, n. 1, p. 165–170, 2017.

MALVANO, F. *et al.* A new label-free impedimetric aptasensor for gluten detection. *Food Control*, Elsevier, v. 79, p. 200–206, 2017.

MORAIS, C. M. Q. d. J. *et al.* Avaliação das informações referentes à presença ou não de glúten em alguns alimentos industrializados. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 73, n. 3, p. 259–263, 2014.

MUNIZ, J. G.; SDEPANIAN, V. L.; NETO, U. F. Prevalence of genetic susceptibility for celiac disease in blood donors in São Paulo, Brazil. *Arquivos de Gastroenterologia*, SciELO Brasil, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 267–272, 2016.

NASCIMENTO, K. d. O. do *et al.* Teff: Suitability for Different Food Applications and as a Raw Material of Gluten-free, a Literature Review. *Journal of Food and Nutrition Research*, v. 6, n. 2, p. 74–81, 2018.

NIEWINSKI, M. M. Advances in celiac disease and gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, Elsevier, v. 108, n. 4, p. 661–672, 2008.

NIJHAWAN, S.; GOYAL, G. Celiac disease review. *J Gastrointest Dig Syst*, v. 5, n. 6, p. 350, 2015.

NOGUEIRA, M. E. M. *et al.* Biscoitos sem glúten versus com glúten: composição nutricional, ingredientes e custo. *Revista Higiene Alimentar*, v. 34, n. 290, 2020.

PARANÁ. Lei Estadual nº 16.496, de 12 de maio de 2010 do Paraná. Dispõe que os estabelecimentos que especifica deverão acomodar, para exibição em espaço único, específico e de destaque, produtos alimentícios recomendados para pessoas com diabetes, intolerantes à lactose e com doença celíaca. *Diário Oficial do Paraná*, 2010.

PARZANESE, I. *et al.* Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, Baishideng Publishing Group Inc, v. 8, n. 2, p. 27, 2017.

PIRES, B. A. D. *Análise qualitativa de glúten em alimentos: métodos imunoquímicos e moleculares*. 82 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) — Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

PUTRA, L. A. G. *et al.* A Review of the Development of Polymerase Chain Reaction Technique and Its Uses in Scientific Field. *Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, v. 2, n. 1, p. 14–30, 2020.

QI, P.-F. *et al.* The molecular diversity of α -gliadin genes in the tribe *Triticeae*. *Genetica*, Springer, v. 141, n. 7-9, p. 303–310, 2013.

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

RAHAIE, S. *et al.* Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. *Journal of Food Science and Technology*, Springer, v. 51, n. 11, p. 2896–2906, 2014.

REAL, A. *et al.* Molecular and immunological characterization of gluten proteins isolated from oat cultivars that differ in toxicity for celiac disease. *PLOS one*, Public Library of Science, v. 7, n. 12, p. e48365, 2012.

RECIFE. Pernambuco. Lei Municipal nº 17.254, de 15 de setembro de 2006 de Recife - PE. Autoriza o poder executivo a manter alimentação diferenciada às crianças portadoras de diabetes, doença celíaca e intolerância à lactose na merenda escolar das escolas e creches municipais. *Câmara Municipal de Recife*, 2006.

RIO DE JANEIRO. Lei Estadual nº 4.840, de 05 de setembro de 2006 do Rio de Janeiro. Institui no Estado do Rio de Janeiro, o programa de assistência aos portadores de doença celíaca. *Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro*, 2006.

RIO DE JANEIRO. Rio de Janeiro. Lei Municipal nº 6.159, de 04 de maio de 2017 do Rio de Janeiro - RJ. Dispõe sobre a obrigatoriedade de informar quanto a presença de glúten e seus derivados nos alimentos preparados e servidos nos restaurantes, bares e afins, no Município do Rio de Janeiro. *Câmara Municipal do Rio de Janeiro*, 2017.

ROCHA, A. C. A. *Comparação entre as metodologias analíticas ELISA e quimioluminescência para dosagem de anti-transglutaminase IgA para diagnóstico sorológico de doença celíaca*. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

ROVEDO, M. Contaminação cruzada por glúten na indústria de alimentos: Quais os riscos e como proteger os celíacos. In: *Anais do VII Congresso Internacional de Nutrição Especializada*. Rio de Janeiro: FENACELBRA, 2018. Disponível em: <https://www.riosemgluten.com/contaminacao_cruzada_gluten_mariane_rovedo_2018.pdf>. Acesso em: 29 mar 2019.

SABATINO, A. D.; CORAZZA, G. R. Coeliac disease. *The Lancet*, Elsevier, v. 373, n. 9673, p. 1480–1493, 2009.

SAPONE, A. *et al.* Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC medicine*, BioMed Central, v. 10, n. 13, p. 1–12, 2012.

SATSUKI-MURAKAMI, T. *et al.* An optimized extraction method for gluten analysis in cacao-containing products using an extraction buffer with polyvinylpyrrolidone. *Food Control*, Elsevier, v. 84, p. 70–74, 2018.

SAVAGE, J.; JOHNS, C. B. Food allergy: epidemiology and natural history. *Immunology and Allergy Clinics*, Elsevier, v. 35, n. 1, p. 45–59, 2015.

SCHERF, K. A.; KOEHLER, P.; WIESER, H. Gluten and wheat sensitivities—an overview. *Journal of Cereal Science*, Elsevier, v. 67, p. 2–11, 2016.

SCHMIELE, M. *et al.* Massa alimentícia sem glúten com elevado teor proteico obtida por processo convencional. *Ciência Rural*, SciELO Brasil, v. 43, n. 5, p. 908–914, 2013.

SCHUPPAN, D.; JUNKER, Y.; BARISANI, D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*, Elsevier, v. 137, n. 6, p. 1912–1933, 2009.

SHARMA, N. *et al.* Pathogenesis of celiac disease and other gluten related disorders in wheat and strategies for mitigating them. *Frontiers in Nutrition*, Frontiers Media SA, v. 7, 2020.

SHEWRY, P. R.; HEY, S. J. The contribution of wheat to human diet and health. *Food and energy security*, Wiley Online Library, v. 4, n. 3, p. 178–202, 2015.

SILVA, J. C. C. da. *Fragilidades no cuidado em saúde às pessoas com Desordens Relacionadas ao Glúten (DRG)*. 102 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) — Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

SILVA, P. C. *et al.* Doença Celíaca: Revisão. *Clínica Pesquisa Odontológica*, Curitiba, v. 2, n. 5/6, p. 401–406, 2006.

SILVA, R. P. d. *Detecção e quantificação de glúten em alimentos industrializados por técnica de ELISA*. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Gastroenterologia Clínica) — Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS. Paraná. Lei Municipal nº 971, de 20 de dezembro de 2006 de São José dos Pinhais - PR. Dispõe sobre a obrigatoriedade da distribuição de merenda diferenciada para alunos diabéticos, hipoglicêmicos e celíacos matriculados nas escolas municipais. *Câmara Municipal de São José dos Pinhais*, 2006.

SOLLID, L. M.; KHOSLA, C. Future therapeutic options for celiac disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, Nature Publishing Group, v. 2, n. 3, p. 140–147, 2005.

TAYLOR, S. L. *et al.* Evaluation of a handheld gluten detection device. *Journal of Food Protection*, International Association for Food Protection, v. 81, n. 10, p. 1723–1728, 2018.

TJON, J. M.-L.; BERGEN, J. van; KONING, F. Celiac disease: how complicated can it get? *Immunogenetics*, Springer, v. 62, n. 10, p. 641–651, 2010.

TOVOLI, F. *et al.* Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*, Baishideng Publishing Group Inc, v. 3, n. 3, p. 275–284, 2015.

VERHOECKX, K. C. M. *et al.* Food processing and allergenicity. *Food and Chemical Toxicology*, Elsevier, v. 80, p. 223–240, 2015.

VIEIRA, J. C. *et al.* Qualidade física e sensorial de biscoitos doces com fécula de mandioca. *Ciência rural*, SciELO Brasil, v. 40, n. 12, p. 2574–2579, 2010.

VITÓRIA. Espírito santo. Lei Municipal nº 7.013, de 24 de julho de 2007 de Vitória - ES. Autoriza a instituir, no município de Vitória, o programa de assistência aos portadores de doença celíaca. *Câmara Municipal de Vitória*, 2007.

WANG, Z. *et al.* New insight into the function of wheat glutenin proteins as investigated with two series of genetic mutants. *Scientific reports*, Nature Publishing Group, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017.

WATKINS, R. D.; ZAWAHIR, S. Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity. *Pediatric Clinics*, Elsevier, v. 64, n. 3, p. 563–576, 2017.

YOSHIDA, J. G. M. *Prevalência da predisposição genética para doença celíaca nos doadores de sangue em São Paulo-Brasil*. 80 p. Dissertação (Mestrado em Pediatria e Ciências Aplicadas à Pediatria) — Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela 6 – Teor de glúten em amostras de biscoitos.

Produto	Amostra	Nome Comercial	Glúten (mg/kg)
Biscoito	332	Biscoito de sequilho zero	2,450
Biscoito	849	Biscoito fino sem glúten	2,450
Biscoito	878	Sequilho de coco zero	2,232
Biscoito	894	Biscoito integral de café com chocolate	43,461
Biscoito	895	Biscoito integral de café	4,108
Biscoito	1162	Cookies de maça e canela	2,833
Biscoito	1166	Biscoito de arroz integral	2,833
Biscoito	1932	Biscoito sabor abacaxi	46,930
Biscoito	4140	Biscoito sabor torta de limão	0,022
Biscoito	4144	Biscoito sem glúten	0,002
Biscoito	4287	Biscoito de arroz integral	0,010
Biscoito	4300	Biscoito tabletitos de chia	0,010
Biscoito	4303	Biscoito de arroz integral	5,870
Biscoito	4392	Biscoito de maracujá	0,010
Biscoito	4466	Biscoito sabor ervas finas	0,001
Biscoito	4470	Biscoito sem glúten	1,992
Biscoito	4472	Biscoito de limão	1,992
Biscoito	4557	Biscoito de arroz integral	0,001
Biscoito	4743	Sequilho sabor laranja	6,948
Biscoito	4744	Biscoito linhaça dourada	5,938
Biscoito	4747	Snacks sabor calabresa com pimenta	0,001
Biscoito	4824	Biscoito sabor bacon	0,001
Biscoito	4825	Biscoito sabor calabresa	0,001
Biscoito	4827	Rosquinha de cacau	0,001
Biscoito	4828	Sequilho sabor laranja	1,391
Biscoito	4969	Biscoito polvilho sabor queijo	2,781
Biscoito	4970	Biscoito de polvilho	1,390
Biscoito	5067	Biscoito sabor cebola e salsa	1,789
Biscoito	5248	Biscoito sabor cebola e salsa	0,001
Biscoito	5438	Biscoito de mel com cobertura de chocolate amargo	0,702
Biscoito	5563	Biscoito de arroz integral	0,001
Biscoito	6052	Biscoito de arroz com cúrcuma	0,035
Biscoito	6053	Biscoito de limão	0,001
Biscoito	6087	Biscoito doce sequilho de coco	43,46
Biscoito	6088	Biscoito de polvilho	1,390
Biscoito	6153	Biscoito cookies de limão	1,417
Biscoito	6227	Biscoito de arroz integral	0,001

Fonte: A autora (2020).

APÊNDICE B

Tabela 7 – Teor de glúten em amostra de iogurtes.

Produto	Amostra	Nome Comercial	Glúten (mg/kg)
logurte	1793	logurte com poupa de frutas	0,001
logurte	3733	logurte desnatado sabor doce de leite	0,194
logurte	3738	logurte desnatado de frutas	0,102
logurte	3844	logurte desnatado sabor baunilha	0,914
logurte	3879	logurte natural integral	1,000
logurte	4006	logurte de frutas vermelhas	0,071
logurte	4051	logurte com preparo de morango	0,071
logurte	4054	logurte desnatado de ameixa	0,443
logurte	4261	logurte desnatado com restrição de lactose	0,001
logurte	4280	logurte com preparo de mamão e laranja	0,874
logurte	4361	logurte desnatado com preparo de frutas	0,116
logurte	4517	logurte natural desnatado	0,116
logurte	4593	logurte desnatado com morango e banana	0,094
logurte	4595	logurte desnatado sabor banana	0,160
logurte	4655	logurte desnatado com poupa de café	0,102
logurte	4656	logurte desnatado com poupa de baunilha	0,115
logurte	4657	logurte desnatado com poupa de açaí	0,112
logurte	4744	logurte desnatado sabor baunilha	0,112
logurte	4745	logurte com preparo de morango	0,162
logurte	4746	logurte desnatado de tangerina	0,120
logurte	4780	logurte com creme e calda de frutas	0,120
logurte	4805	logurte com preparo de frutas	0,134
logurte	4871	logurte sabor de coco	0,109
logurte	4927	logurte fermentado de morango	0,132
logurte	5002	logurte desnatado de poupa de frutas	0,123
logurte	4928	logurte de soja sabor morango	0,117

Fonte: A autora (2020).

APÊNDICE C

Tabela 8 – Teor de glúten em amostras de leites fermentados.

Produto	Amostra	Nome Comercial	Glúten (mg/kg)
Leite fermentado	1794	Leite fermentado com poupa de morango	1,609
Leite fermentado	1919	Leite fermentado com poupa de morango	0,779
Leite fermentado	3737	Leite fermentado com bífido bacterium	0.002
Leite fermentado	4787	Leite fermentado desnatado com sabor de morango	0,119

Fonte: A autora (2020).

APÊNDICE D

Tabela 9 – Teor de glúten em amostras de cereais.

Produto	Amostra	Nome Comercial	Glúten (mg/kg)
Cereal	1165	Barra de cereal de amendoim e uva passas	2,159
Cereal	1652	Cereal para alimentos infantil com probiótico	18,240
Cereal	1868	Cereal para alimentação infantil	0,001
Cereal	1922	Cereal de farinha láctea	8,531
Cereal	1975	Flocos de três cereais	21,40
Cereal	6336	Barra de cereal	0,001
Cereal	6341	Barra de cereal banana	40,00

Fonte: A autora (2020).

APÊNDICE E

Tabela 10 – Teor de glúten em amostras de bebidas lácteas.

Produto	Amostra	Nome Comercial	Glúten (mg/kg)
Bebida láctea	1428	Bebida láctea fermentada sabor morango	0,001
Bebida láctea	1574	Bebida láctea fermentada com poupa de frutas	1,617
Bebida láctea	1575	Bebida láctea sabor chocolate	0,001
Bebida láctea	1651	Bebida láctea fermentada com poupa de morango	0,001
Bebida láctea	1792	Bebida láctea fermentada com poupa de morango	0,001
Bebida láctea	1795	Bebida láctea fermentada com poupa de morango	0,001
Bebida láctea	1832	Bebida láctea fermentada com poupa de graviola	17,69
Bebida láctea	1867	Bebida láctea fermentada com poupa de graviola	0,001
Bebida láctea	1919	Bebida láctea fermentada com poupa de morango	0,779
Bebida láctea	1920	Bebida láctea fermentada com poupa de ameixa	0,001
Bebida láctea	1977	Bebida láctea fermentada com poupa de frutas	1,574
Bebida láctea	1978	Bebida láctea fermentada com poupa de frutas	0,187
Bebida láctea	2142	Bebida láctea de chocolate	2,856
Bebida láctea	2905	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,436
Bebida láctea	3027	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,771
Bebida láctea	3028	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,001
Bebida láctea	3670	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,998
Bebida láctea	3671	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,422
Bebida láctea	3672	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,684
Bebida láctea	3734	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,298
Bebida láctea	4279	Bebida láctea fermentada com preparo de mamão	0,001
Bebida láctea	4782	Bebida láctea UHT sabor chocolate	0,001

Fonte: A autora (2020).

APÊNDICE F

Tabela 11 – Teor de glúten em amostras variadas.

Produto	Amostra	Nome Comercial	Glúten (mg/kg)
Pão	750	Pão light	78,150
Massa alimentícia	847	Massa alimentícia tipo penne	3,695
Pão	848	Pão de mel	2,018
Torrada	850	Torrada com abóbora	4,375
Salgadinho	851	Salgadinhos glúten free	2,451
Palitinhos salgadinhos	852	Palitinhos salgadinhos de linhaça	3,351
Salgadinho	853	Mandioca chips	7,056
Macarrão	893	Penne sem glúten	3,068
Mistura para bolo	1163	Mistura para bolo sabor limão	0,001
Mistura à base de milho	1831	Mistura à base de milho para mingau	0,001
Mistura à base de milho	2138	Cremogema tradicional	3,057
Amido de milho	2146	Amido de milho	0,358
Farinha de arroz	2168	Farinha de arroz enriquecida com vitaminas	2,812
Farinha de arroz	2907	Farinha de arroz enriquecida com vitaminas	0,001
Amido de milho	3029	Amido de milho	0,001
Requeijão	4409	Requeijão cremoso	0,234
Batata	5337	Batata frita ondulada	0,001
Leite	5359	Leite em pó integral rico em vitaminas A/D	0,001
Açúcar	5361	Açúcar natural demerara	34,740
Farinha	5446	Farinha de arroz	2,603
Fécula de mandioca	5448	Fécula de mandioca	0,001
Mostarda	5565	Mostarda amarela	7,800
Tapioca	5566	Farinha de tapioca	2,601
Mostarda	5572	Mostarda	5,000
Geléia	5678	Geléia de mocotó natural	7,345
Massa alimentícia	6151	Farinha alimentícia	0,001
Torrada	6152	Torrada de arroz integral	0,001
Batata	6246	Batata chips	0,264
Salgadinho	6249	Salgadinho extrusado	1,107
Batata	6274	Batata chips	3,428
Beringela	6339	Beringela desidratada em pó	2,262

Fonte: A autora (2020).

ANEXOS

ANEXO A - ARTIGO PUBLICADO



ANÁLISE DE GLÚTEN EM PRODUTOS INDUSTRIALIZADOS ROTULADOS COMO ISENTOS DE GLÚTEN

Selma Francisco Luiz^{a,b}, Rejane Baptista Teles Carpenter^{a,b}, David Oliveira Barboza^a,
Júlia Siqueira Simões^a, Camila Alva Valente^a, Denise R. Perdomo Azeredo^b

a Subsecretaria de Vigilância, Fiscalização Sanitária e Controle de Zoonoses –
Subvisa – Rio de Janeiro – RJ

b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ),
Rio de Janeiro – RJ

RESUMO

O glúten representa uma fração da proteína do trigo, centeio, cevada e aveia e suas espécies hibridizadas. As desordens relacionadas ao glúten compreendem manifestações autoimunes, alérgicas e não autoimunes e não alérgicas. A exclusão desta proteína da dieta é a medida de controle mais efetiva para evitar o agravamento das patologias relacionadas. O objetivo do presente estudo foi analisar o teor de glúten em alimentos rotulados como livres de glúten, através do Kit Ridascreen[®] Gliadin, com limite de quantificação de 5 ppm. As amostras coletadas no comércio da cidade do Rio de Janeiro pela Subvisa, foram analisadas como parte do programa de monitoramento de alimentos sem glúten. Das 127 amostras analisadas, observou-se que 7 amostras (5,5%) apresentaram resultados superiores a 20 ppm; em 11 amostras (8,7%) verificou-se que os valores de glúten estavam entre 5 e 20 ppm e nas restantes (85,8%) os resultados se encontravam abaixo do limite de quantificação do método. O Codex estabelece um valor aceitável de até 20 ppm de glúten para alimentos naturalmente livres de glúten. No Brasil, a quantidade aceitável de glúten não está regulamentada. Os resultados encontrados visam direcionar os setores da indústria e órgãos reguladores a promover práticas de mitigação de riscos à saúde pública.

Palavras-chave: glúten; desordens relacionadas ao glúten; contaminação cruzada; quantificação; método imunoenzimático.

ANEXO B - CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO NO 13º SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS (13º SLACA)



13 SLACA

Simposio Latino Americano
de Ciência de Alimentos

O FUTURO DOS ALIMENTOS

Certificado

10 a 12 de Novembro de 2019

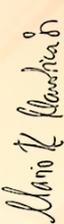
Certificamos que o trabalho intitulado

**QUANTIFICAÇÃO DE GLÚTEN ATRAVÉS DE ENSAIO
IMUNOENZIMÁTICO EM ALIMENTOS ROTULADOS COMO ISENTOS DE
GLÚTEN, COMERCIALIZADOS NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO**

de autoria de

Selma Francisco Luiz, Rejane Baptista Teles Carpenter, Roberta de Oliveira Resende Ribeiro, Júlia Siqueira Simões, Camila Alva Valente, Denise Perdomo Azeredo

foi apresentado na categoria Pôster no **13º SLACA - Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos: "O Futuro do Alimento"**, realizado de 10 a 12 de novembro de 2019, Campinas - São Paulo - Brasil.



Dr. Mario Roberto Maróstica Jr.
Coordenador do Comitê de Programação



Dr. Juliano Lemos Bicas
Coordenador do Comitê Científico



Dra. Glaucia Maria Pastore
Presidente do Evento






Certification by Galoá

