



Encuentros Sectoriales Universidad Empresa

SEGURIDAD ALIMENTARIA: DEL ORIGEN A LA MESA

Centro de Investigación Lascaray, Sala de Videoconferencias
Avda. Miguel de Unamuno, 3 – 01006 Vitoria-Gasteiz

9 de julio de 2012

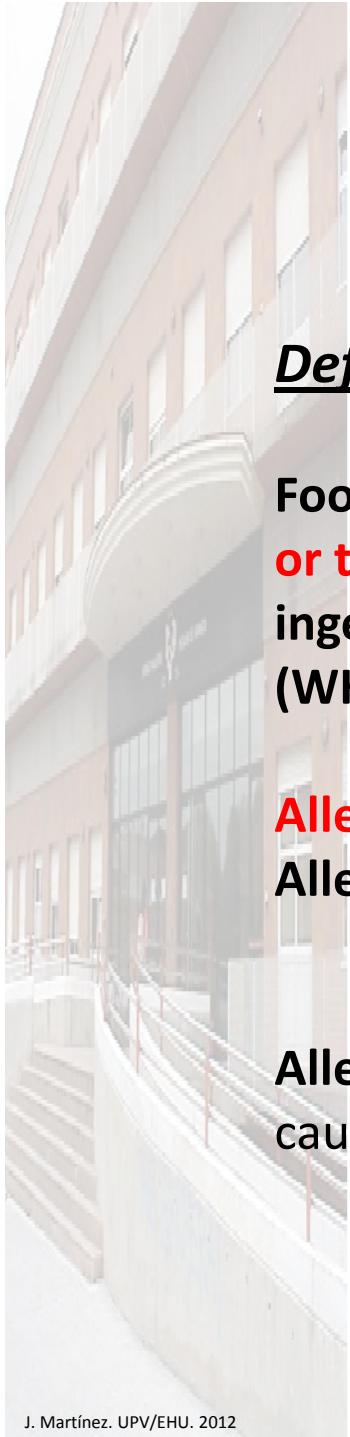
Jorge Martínez Quesada

Profesor Titular

Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología y
Laboratorio de Parasitología e Inmunoalergia. CIEA «Lucio Lascaray».
Facultad de Farmacia. UPV/EHU. Vitoria.

jorge.martinez@ehu.es

www.ehu.es



FOODBORNE ILLNESS

Definition of foodborne illness:

Foodborne illnesses are defined as diseases, usually either **infectious or toxic** in nature, caused by agents that enter the body through the ingestion of food. Every person is at risk of foodborne illness (WHO/OMS)

Allergens could also cause foodborne illness.

Allergic persons are at risk of foodborne illness (**caused by allergens**)

Allergens may be present in foods and can be identified as causes of foodborne illness

... An emergent field !



FOODBORNE ALLERGENS

- ✓ Food allergy have been consistently reported in developed and developing countries.
- ✓ The prevalence of allergy and atopy in developed countries has increased very significantly in the past two decades. Today we can estimate it in more than 20%.
- ✓ Misdiagnosis or poor diagnosis of allergy is not uncommon.
- ✓ Allergens from foods (BSA) and allergens from foods contaminant (Ani s 1)
- ✓ Molecular and immunological assays have been very helpful in foodborne investigations but still are limited. The allergens as a risk factor in safety food is still very emergent!.
- ✓ Elaboration of a resolute and clinical significant food allergen panel.
- ✓ New tools (reagents and methods) are necessary to identify allergens in foods.
Molecular diagnosis: transition from species to molecules.
- ✓ Detection limits, clinically relevant doses, reference material, extraction and recovery
- ✓ Automation and price for diagnosis and parasite detection will be more and more a must
- ✓ Authorities regulation of allergens in food or food products

From, S.J. Koppelman and S.L. Hefle. Eds. Detecting allergens in foods. CRC Press. 2006, modified

ALLERGY AN ALLERGENS



"Are you allergic to anything? I mean,
aside from whatever it was that bit you?"

Allergy : Allergy is a hypersensitivity reaction initiated by immunological mechanisms. Allergy can be antibody-or cell-mediated. In the majority of cases the antibody typically responsible for an allergic reaction belongs to the IgE isotype and these individuals may be referred to as suffering from an IgE-mediated allergy . Not all IgE associated 'allergic' reactions occur in 'atopic' subjects. In non-IgE-mediated allergy the antibody can belong to the IgG isotype, eg, anaphylaxis due to immune complexes containing dextran, and the classical, nowadays rare, serum sickness previously referred to as a Type III reaction. Both IgE and IgG antibodies are found in allergic bronchial pulmonary aspergillosis (ABPA). Allergic contact dermatitis is representative of allergic diseases mediated by lymphocytes .

Atopy: The condition to be allergic!



ALERGIA: DATOS EPIDEMIOLÓGICOS DE INTERÉS

La prevalencia de la atopía es de 25-30% y ha experimentado un aumento significativo en las últimas décadas.

Hipersensibilidad por alimentos: Aproximadamente 2.5% de la población general.

Un 8% de niños hasta 3 años están afectados de eczema, aunque la prevalencia puede llegar al 30%.

Un 2.5% de los niños tienen reacciones de hipersensibilidad a la leche de vaca en el primer año de vida y un 80% de ellos empeoran su alergia en los cinco primeros años.

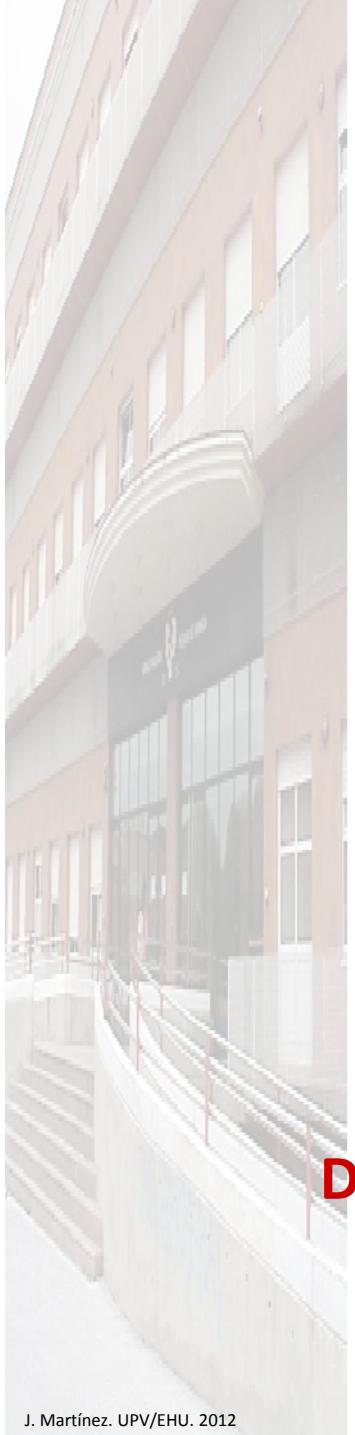
Un 60% de las reacciones a la leche de vaca están mediadas por IgE. El 25% de ellos retienen su sensibilización durante los 10 primeros años y el 35% pueden adquirir otros tipos de alergias alimentarias.

El 1.3 -1.5% y el 0.5% de los niños-jóvenes son alérgicos al huevo y al cacahuete respectivamente.

La alergia alimentaria es más común en niños con otro tipo de alergias. De los de los niños con eczema severo, el 35% es mediado por IgE.

El 6% de los niños con asma desarrollan sibilancias por alimentos.

Aproximadamente el 2% de los adultos tienen alergia alimentaria.



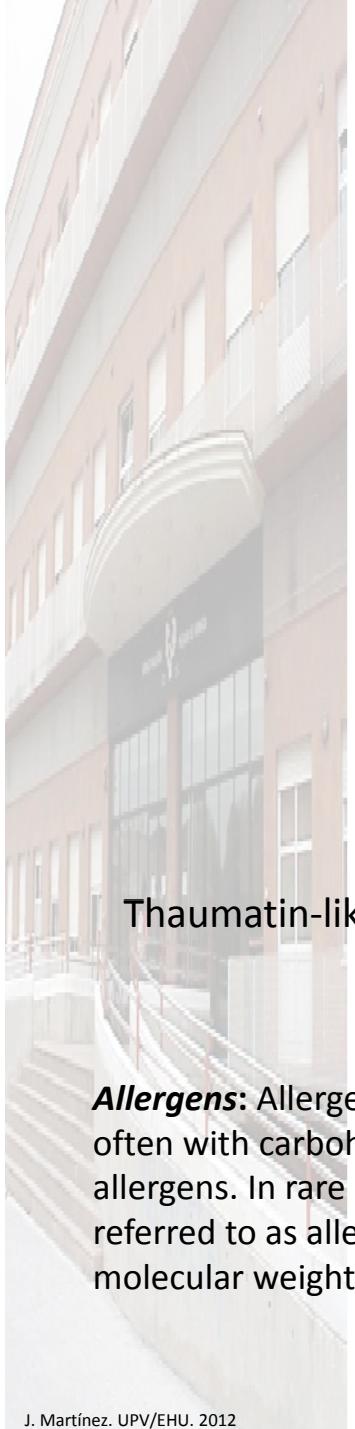
ALLERGY AN ALLERGENS



"I HOPE THIS IS GLUTEN-FREE! "

From the adverse reactions to foods ...

Do not confuse food allergy with food intolerance!!!



ALLERGY AN ALLERGENS



Jun a 3



Mal d 2



Cap a 1



Lyc e NP24



Pru av 2



Act c 2

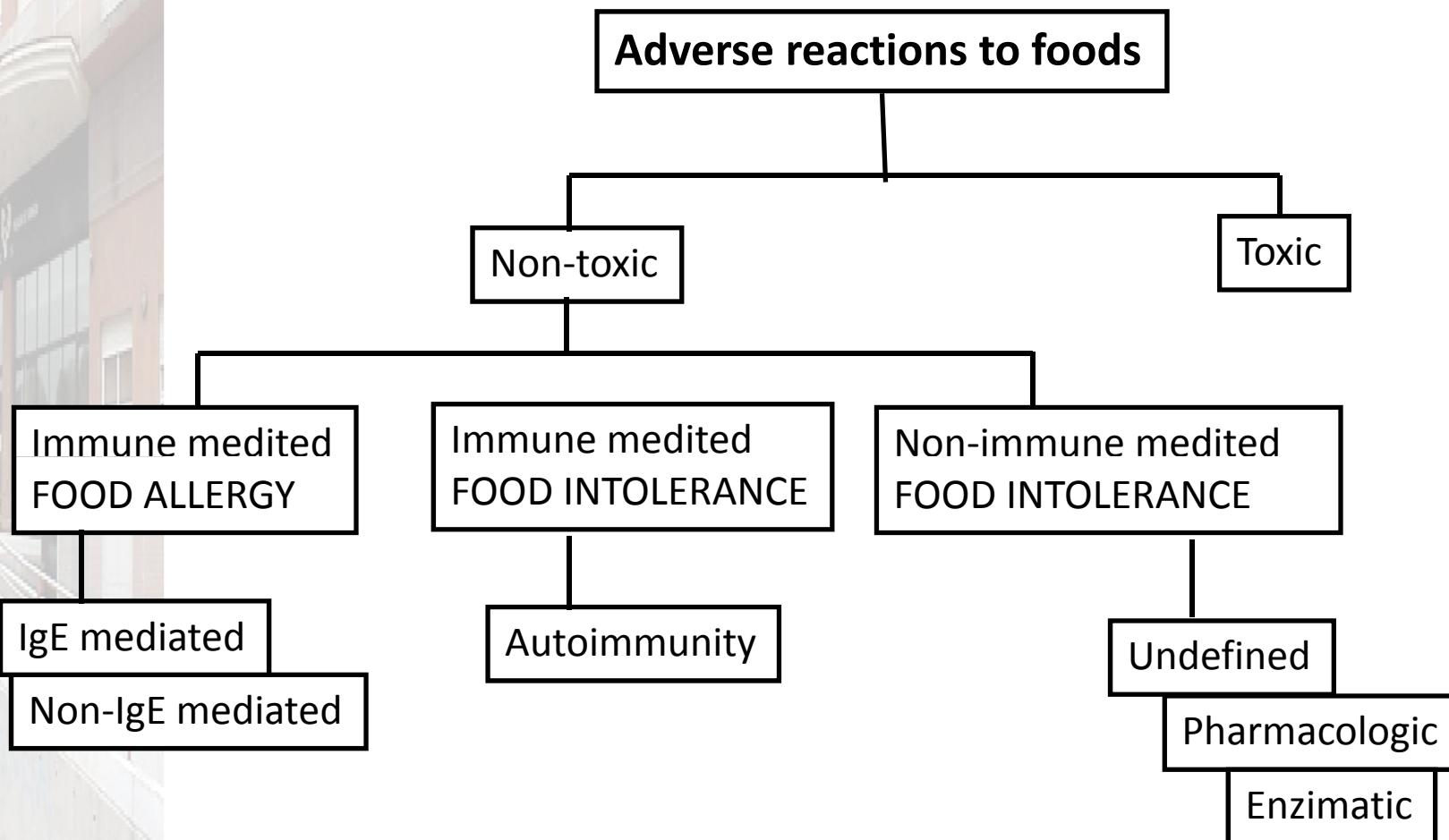
Thaumatin-like allergens

Allergens: Allergens are antigens which cause allergy. Most allergens reacting with IgE and IgG antibody are proteins, often with carbohydrate side chains, but in certain circumstances pure carbohydrates have been postulated to be allergens. In rare instances low molecular weight chemicals, eg, isocyanates and anhydrides acting as haptens, are still referred to as allergens for IgE antibodies. In the case of allergic contact dermatitis, the classical allergens are low molecular weight chemicals, eg, chromium, nickel and formaldehyde, reacting with T cells.



Classification of the adverse reactions to foods.

M. Fernández , S. Miles. Plant Food allergens. EN Clare and P Shewry Eds. Blackwell Pub. 2004. (modified)





Clinical manifestations of IgE-mediated reactions to foods reported in blinded challenges

General reactions.

Anaphylaxis

Food dependent exercise-induced anaphylaxis

Cutaneous reactions.

Acute urticaria and angioedema

Food dependent exercise-induced anaphylaxis

Atopic dermatitis

Gastrointestinal reactions

Oral allergy syndrome

Gastrointestinal anaphylaxis

Respiratory reactions

Rhinoconjunctivitis

Laringeal edema

Asthma



DIAGNÓSTICO

Historia clínica

Datos complementarios

- ✓ Pruebas cutáneas
- ✓ Pruebas funcionales
- ✓ Pruebas de laboratorio (IgE Total, IgE específica, otros datos generales e inmunológicos)
- ✓ Datos radiológicos (Imagen)

Datos medioambientales

- ✓ Aerobiología
- ✓ Detección de alérgenos medioambientales

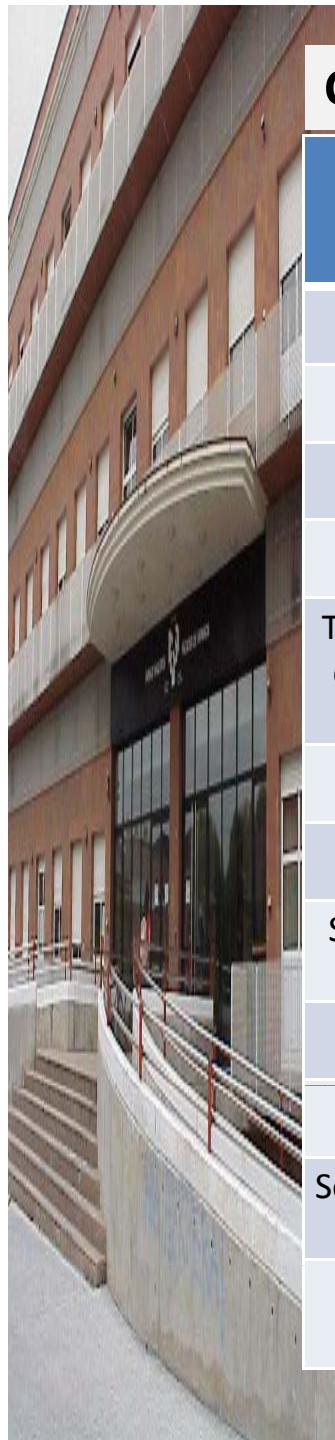
CONTROL

Tratamiento (Sintomático y específico)

Evitación

Detección y cuantificación de alérgenos causales en medioambiente y alimentos.





Common Food Allergens

Food	Infants/Young children	Older children and adults	Anaphylaxis
Milk (cow/goat)	•		•
Chicken egg	•		•
Soy	•		
Peanut	•	•	•
Tree nuts (walnut, hazel/filbert, cashew, pistachio, Brazil , pine nut, almond)		•	•
Wheat	•		
Fish		•	
Shellfish (shrimp, crab, lobster, oyster, scallops)		•	•
Fruit		•	•
Vegetables		•	•
Seeds (cotton, sesame, psyllium, mustard)		•	•
Spices		•	



Prevalencia (%) de alergias específicas a alimentos según edad y localización geográfica.

España				USA			
< 5 años		> 5 años		Niños (con DA y alergia alimentaria)		Adultos	
Alergológica		Alergológica		Sampson, 1997		Sampson, 1997	
Huevo	44	Frutas	37	Huevo	57	Crustáceos	50
Leche	44	F. secos	36	Leche	38	Cacahuete	20
Pescado	14	Pescado	12	Cacahuete	29	Huevo	10
Frutas	11	Marisco	12	Soja	16	Cerveza	10
F. secos	7	Huevo	10	Trigo	11	Zanahoria	10
Legumbres	7	Cereales	8				
		Legumbres	6				
		Leche	5				
		Hortalizas	5				



DATOS DE PREVALENCIA EN NUESTRO MEDIO

HUEVO

- ✓ Las reacciones adversas al huevo constituyen el 44% de las consultas por sospecha de alergia alimentaria en < de 5 años y sólo el 10 en > de 5 años.
- ✓ La prevalencia de alergia al huevo en la población general oscila entre el 0,5 y el 2,7, aunque la sensibilización cutánea (mediante pruebas cutáneas) puede alcanzar el 5%.
- ✓ En los adultos se describe una prevalencia de igE específica del 0,8%, con expresión clínica únicamente en la mitad.

LECHE

- ✓ la prevalencia de la alergia a la leche es del 2-3% (entre el 0,36 y el 1,9% en el primer año de vida).
- ✓ La aparición de la alergia a leche en la edad adulta es excepcional.



ALÉRGENOS

HUEVO

- ❖ Ovomucoide (Gal d 1) 28 kDa
- ❖ Ovoalbúmina (Gal d 2) 44 kDa
- ❖ Ovotransferrina (Gal d 3) 77 kDa
- ❖ Lisozima (Gal d 4) 14 kDa



LECHE

- ❖ Caseínas (α , β y κ) (Bos d 8) 23-25, 24,19 kDa
- ❖ α - Lactoalbúmina (Bos d 4) 14 kDa
- ❖ β – Lactoalbúmina (Bos d 5) 18 kDa
- ❖ BSA (Bos d 6) 66 kDa
- ❖ Otras (Igs, Transferrina, Lactoferrina, lipasa, ...)





DATOS DE PREVALENCIA EN NUESTRO MEDIO

CARNES

- ✓ La prevalencia de alergia a la carne es poco frecuente. Wütrich (1996) cita un 8,2% entre adultos alérgicos lo que supone un 0,25 % de la población general y Fiocchi (2000) refiere un 6,5% entre niños atópicos y un 0,3 en la población general.

PESCADOS

- ✓ Es la tercera causa de alergia en niños después del huevo y la leche. Es la causa del 30% de los diagnósticos de hipersensibilidad a alimentos en niños de nuestra población.
- ✓ Es el responsable del 12-14% de los casos de adultos con alergia a alimentos.
- ✓ Dada su prolongada persistencia es el segundo alérgeno alimentario más prevalente después del huevo.

MARISCO

- ✓ No se tienen datos globales de prevalencia en nuestro medio. Es mayor en adultos que en niños.
- ✓ 2,8-8% de las alergia alimentarias (Kanny, 2001).
- ✓ Castillo (1996)encuentra en Canarias una prevalencia del 0,7%.



ALÉRGENOS

CARNES

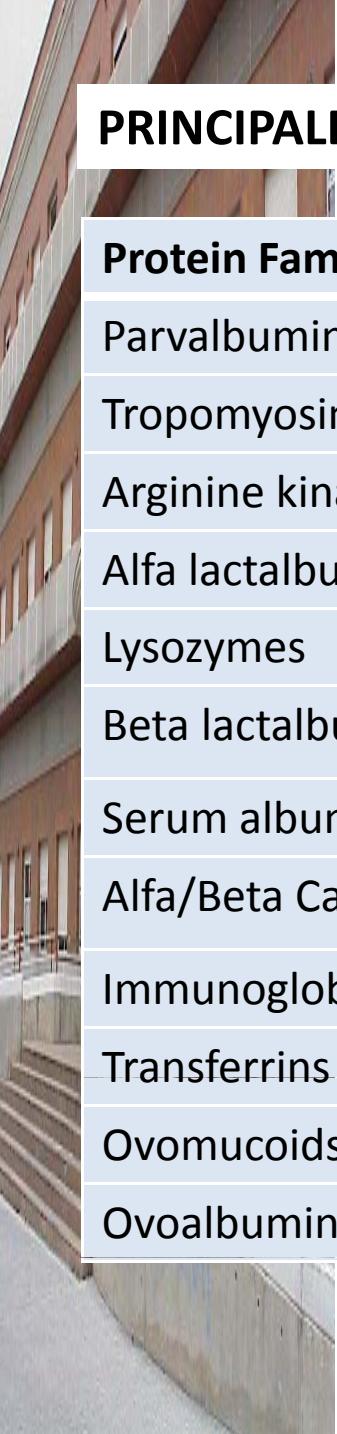
- ❖ ???
- ❖ ¿Alérgenos parasitarios contaminates ?, ... *Toxocara*, ...
- ❖ Seroalbúminas
- ❖ α - GAL

PESCADOS

- ❖ ???
- ❖ ¿Alérgenos parasitarios contaminates ?, ... *Anisakis*, ...
- ❖ Parvalbúminas

MARISCO

- ❖ ???
- ❖ Tropomiosina



PRINCIPALES ALÉRGENOS DE ORIGEN ANIMAL

Protein Family	Allergen examples
Parvalbumins	Gad c 1, Cyp c 1
Tropomyosins	Pen a 1, Hom a 1, Top d 1
Arginine kinases	Pen m 2
Alfa lactalbumins	Bos d 4
Lysozymes	Gal d 4
Beta lactalbumins	Bos d 5
Serum albumins	Bos d 6
Alfa/Beta Caseins	Bos d 8
Immunoglobulins	Bos d 7
Transferrins	Cow lactoferrin, gal d 3
Ovomucoids	Gal d 1
Ovoalbumins	Gal d 2



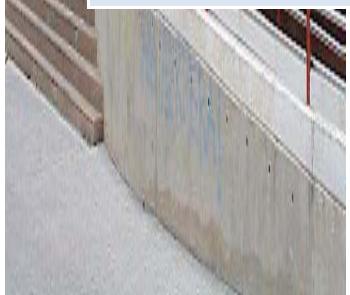
PRINCIPALES ALÉRGENOS VEGETALES

Superfamilia Prolamina		
	Prolaminas (α -amilasa, gliadinas)	Cerales, ...
	nS-LTPs (Pru p 3)	Frutos/as, vegetales, ...
	Albuminas 2S (Sian a 1 , Ara h 2)	Cereales, semillas
Superfamilia Cupin		
	Globulinas 7 S (Vicilinas: Ara h 1)	Legumbres, frutos secos
	Globulinas 11 S (Leguminas: Ara h 3, glicininas,...)	Legumbres, frutos secos
Familia Cistein-proteasa		
	Papain-like, Act c 1	Frutas
Familia Profilinas		
	Profilinas	Polen, frutas, vegetales



PRINCIPALES ALÉRGENOS VEGETALES

Plant pathogenesis related proteins families		
PR-2	Beta 1-3 glucanases	Plátano, patata, tomate
PR-3	Class I chitinases	Aguacate, castaña
PR-4	Hevein and Win-like chitinases	Latex-frutas
PR-5	Thaumatin-like proteins	Pru av 2, Mal d 2
PR-9	Peroxidases	trigo
PR-10	Bet v 1 homologues	Mal d 1, Pru p 1, Api g 1, Gly m 4
PR-14	Non specific LTPs	Pru p 3, Mal d 3, Cor a 8, Ara h 9, Lac s 1





IMPACTO DE LA ALERGIA A ALIMENTOS EN LA CALIDAD DE VIDA

Alta prevalencia, raramente fatal pero en alergia a alimentos los casos de anafilaxia son relativamente comunes (1/3 de las anafilaxias son por alimentos). El diagnóstico correcto impone el uso de dietas libres de estos alérgenos y por consiguiente el exhaustivo conocimiento de la composición (alergénica) de los alimentos.

- ✓ **Vigilancia** . Vigilancia continua. Educación dirigida. El desconocimiento de la composición de los alimentos supone una causa de estrés.
- ✓ **Costes**. Absentismo laboral y escolar, medicación o tratamientos inadecuados. ...
- ✓ **Etiquetado**
 - Inadecuado
 - Preventivo
- ✓ **Informe de riesgos a los grupos de pacientes**
- ✓ **Educación sobre alergia e intolerancia**



TRATAMIENTO

El único tratamiento probado para la alergia alimentaria es la evitación del alérgeno implicado, aunque no siempre es fácil; bien sea por la presencia de alérgenos escondidos en alimentos o por reactividad cruzada con alérgenos de origen no alimentario.

En los últimos años se han ensayado con algún éxito medida de desensibilización según las pautas clásicas de la inmunoterapia específica con extractos alergénicos.

Land MH, Kim EH, Burks AW.

Oral desensitization for food hypersensitivity

Immunol Allergy Clin North Am. 2011 May;31(2):367-76.

Abstract

Food allergy has become an increasingly prevalent international health problem. Allergic reactions can result in life-threatening anaphylaxis in a short period of time, so the current standard of care dictates strict avoidance of suspected trigger foods and accessibility to injectable epinephrine. Intervention at the time of exposure is considered a rescue therapy rather than a disease-modifying treatment. Investigators have been studying allergen immunotherapy to promote induction of oral tolerance. This article examines the mechanisms of oral tolerance and the breakdown that leads to food allergy, as well as the history and current state of oral and sublingual immunotherapy development.

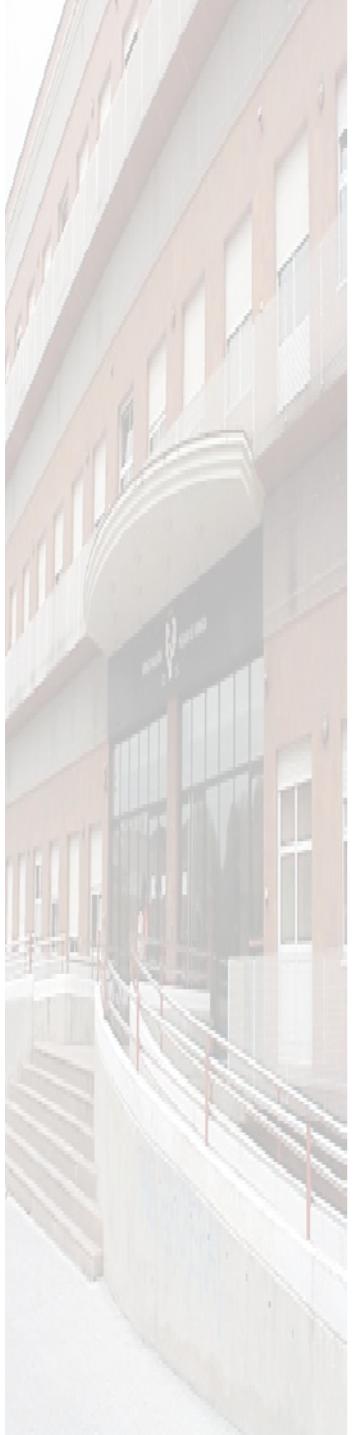


LEGISLACIÓN CONCERNIENTE AL ETIQUETADO DE ALÉRGENOS

- Cereales conteniendo gluten
- Crustaceos
- Huevo
- Leche
- Pescado
- Cacahuete
- Soja
- Frutos secos (almendra, avellana, anacardo, castaña, nueces, pistacho).
- Apio
- Mostaza
- Sésamo
- Dióxido de sulfuro y sulfitos

European Union regulation

**Faltan alimentos e indicaciones
No hay límites de detección ni estándares**

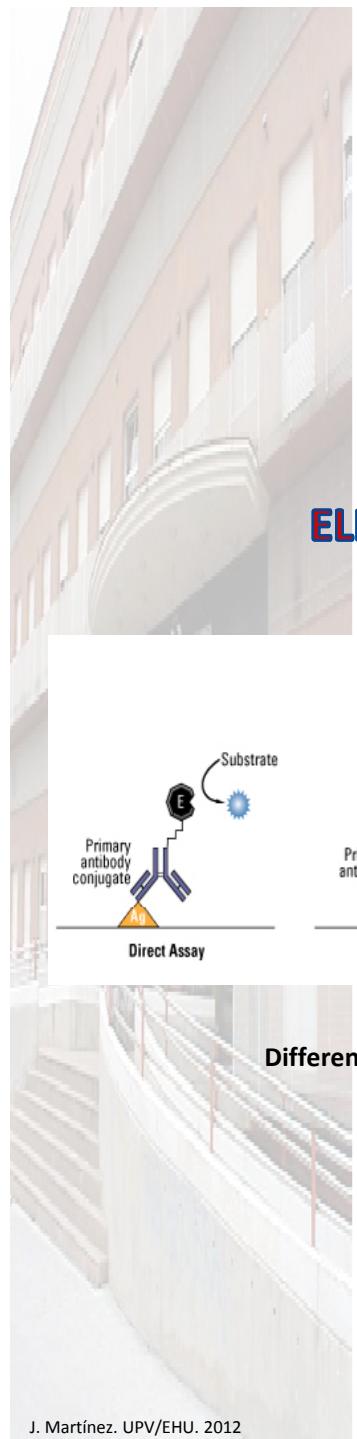


Detecting and measuring allergens in foods

- ☞ Monoclonal and polyclonal antibodies
- ☞ Allergen specific human IgE antibody-based analysis
- ☞ **E.L.I.S.A.**
- ☞ Inhibition-Immunoassays
- ☞ Immunoblotting in allergen detection
- ☞ Polymerase chain reaction (PCR)
- ☞ Proteomic assessment of allergens in food
- ☞ Liquid chromatography–mass spectrometry
- ☞ Others...

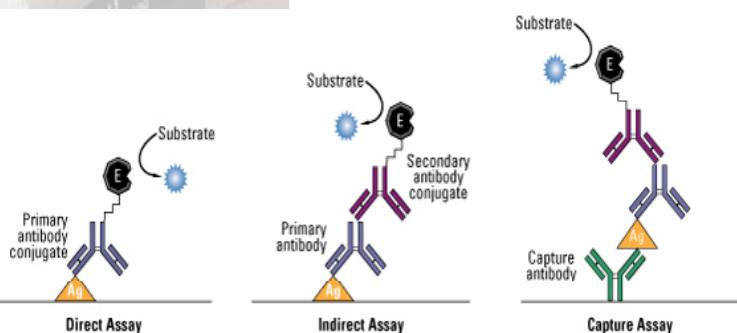
from Koppelman and Hefle Eds. Detecting allergen in food CRC Press. 2006, modified

ELISA is the reference method



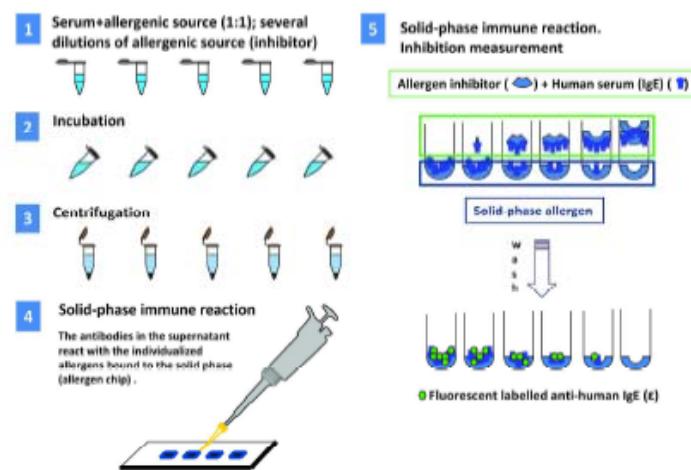
Detecting and measuring allergens in foods

ELISA



Different versions of ELISA

ELISA-inhibition



Schematic representation of inhibition-immunoassay method. 1-3) procedure of inhibition assay where the three sera selected are added, incubated, and centrifuged with different inhibitors studied; 4-5) incubation of a 4-well ISAC chip with 4 individual samples. Allergens of the solid-phase are recognized by the allergen inhibitor samples, and are detected by a fluorescent labelled anti-human IgE antibody.
209x148mm (300 x 300 DPI)

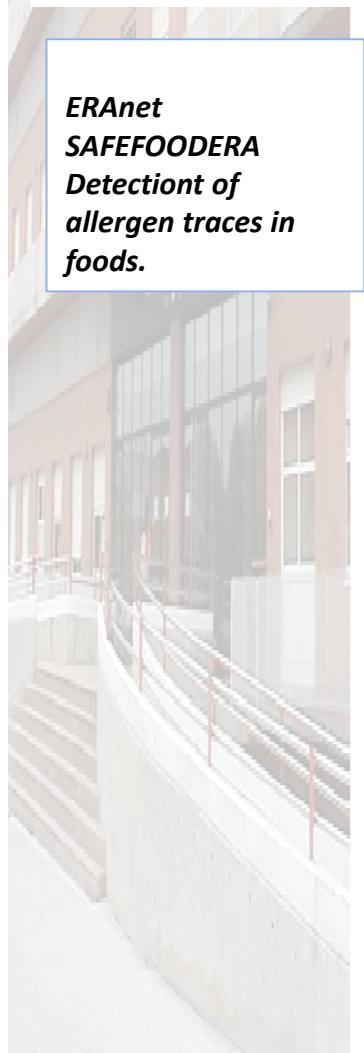
De Linares et all, *in press*. 2012

Assessment of inhibition assays in molecular allergen platforms to measure individual allergenic components in foods

Idoia Postigo, Jorge Guisantes, Ester Suñén, Maialen Ceballos, Dana Gabrovská* and Jorge Martínez

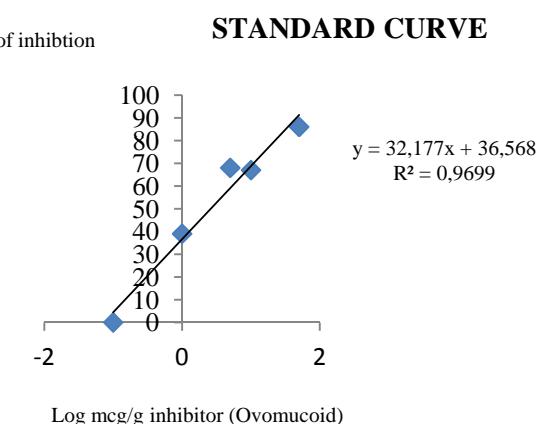
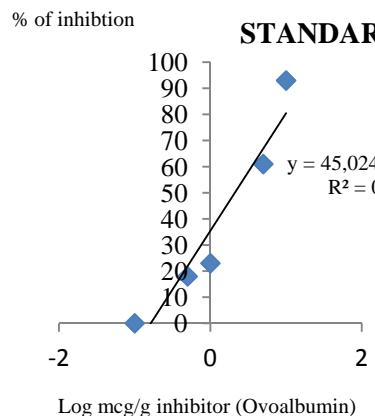
Laboratory of Parasitology and Immunoallergy. Centro de Investigación y Estudios Avanzados "Lucio Lascaray" and Faculty of Pharmacy. University of the Basque Country. Pº Universidad 7. 01006-Vitoria. Spain and *Food Research Institute Prague. Radiová, 7, 10231 Praha 10. Czech Republic .

FEIA ImmunoCAP platform

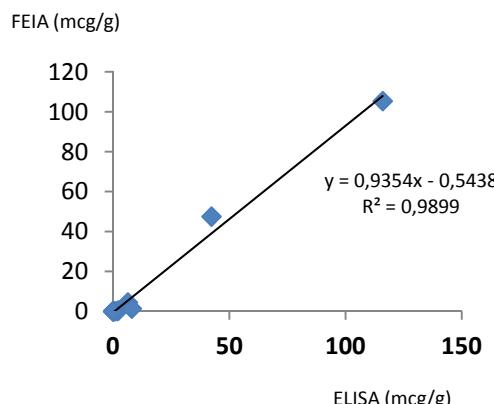


ERAnet
SAFEFOODERA
**Detection of
allergen traces in
foods.**

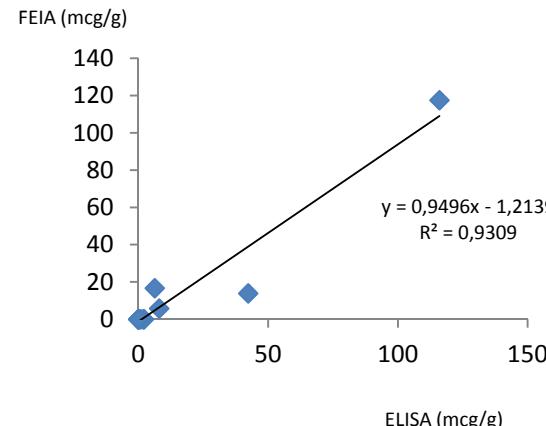
Linear measurement: from 0.1 to 50 µg/g



Linear correlation FEIA (ovaalbumin) - ELISA (egg)



Linear correlation FEIA (ovomucoid) - ELISA (egg)





ESTÁ CASI TODO POR HACER ...

- ALÉRGENOS INDIVIDUALIZADOS
- PRUEBAS RÁPIDAS, AUTOMATIZABLES, ECONÓMICAS Y FIABLES
- LEGISLACIÓN ADECUADA (ETIQUETADO DE SUSTANCIAS, LÍMITES, Y RIESGOS) PARA ALÉRGICOS Y PARA INTOLERANTES DE FORMA DIFERENCIADA.
- MÁS CONOCIMIENTOS SOBRE PROPIEDADES ALERGÉNICAS DE CADA SUSTANCIA Y SU POSIBLE ROL EN REACTIVIDAD CRUZADA Y REACTIVIDAD CLÍNICA.
- ALERGENICIDAD Y PROCESOS
 - INFLUENCIA DE LOS PROCESOS EN LA ALERGENICIDAD DE LOS ALIMENTOS.
 - INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN LA DETECCIÓN DE ALÉRGENOS



ESKERRIK ASKO
MUCHAS GRACIAS

jorge.martinez@ehu.es