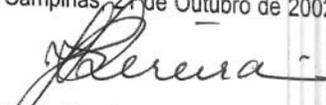


**Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Fabiana Maria Bertoni Bonetti Piccoloto**, aprovada pela Comissão Julgadora em 21 de outubro de 2002.

Campinas, 21 de Outubro de 2002.


Prof. Dr. José Luiz Pereira
Presidente da Banca

**DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLÚTEN
POR ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO
EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS**

FABIANA M. BERTONI BONETTI PICCOLOTO

Engenheira de Alimentos

PROF. DR. JOSÉ LUIZ PEREIRA

Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, para obtenção do grau de Doutor em Ciência de Alimentos

Campinas, Estado de São Paulo, Brasil, 2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

IDADE Be
CHAMADA T/UNICAMP
P582d
EX
MBO BCI 51538
C 16.837/02
DX
ÇO R\$ 11,00
A 14/11/02
CPD

CM00176454-1

3 10 267016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

P582d Piccoloto, Fabiana Maria Bertoni Bonetti
Determinação do teor de glúten por ensaio imunoenzimático
em alimentos industrializados / Fabiana Maria Bertoni Bonetti
Piccoloto.-- Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: José Luiz Pereira
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Doença celíaca. 2.Alergia. 3.Glúten. 4.ELISA. I.Pereira,
José Luiz. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III.Título.

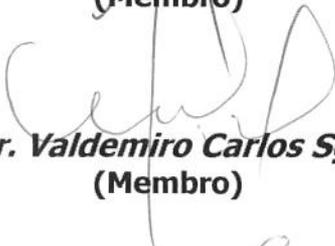
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Luiz Pereira
(Orientador / Presidente)



Prof. Dr. Mauro F. de Freitas Leitão
(Membro)



Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri
(Membro)



Profa. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo
(Membro)

Profa. Dra. Semíramis Martins Álvares Domene
(Membro)



Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan
(Membro)

Prof. Dr. Cesar Francisco Ciacco
(Membro)

Campinas, de de 2002.

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. José Luiz Pereira, profissional exemplar e competente, a quem devo grande parte da minha formação, pela amizade, carinho, confiança, paciência e estímulo ao conhecimento científico e pelo apoio de fundamental importância na preparação deste trabalho.

À minha querida amiga Norma Miya, pela extrema competência e incentivo, pelas sugestões, correções, ajuda e ensinamentos no decorrer de todo este projeto, além de ter me proporcionado grande alegria e prazer pelo convívio sempre harmonioso ao longo da minha carreira profissional.

Ao Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão (FEA – UNICAMP), ícone da comunidade científica pelo profissionalismo e competência, pela gentileza e preciosa contribuição nas sugestões durante a minha qualificação e correções desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Valdemiro Sgarbieri, do Instituto de Tecnologia em Alimentos (ITAL), pela gentileza e disponibilidade além da valiosa contribuição na correção desta dissertação.

À Profa. Dra. Maria Cecília Figueiredo Toledo, do Departamento de Ciência em Alimentos (FEA – UNICAMP), pelas sugestões e correções sempre pertinentes e características desta profissional exemplar.

À Profa. Dra. Semíramis Martins Álvares Domene (Nutrição - PUCCAMP), pela simpatia, gentileza e preciosa contribuição na correção desta tese.

Ao Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan, do Departamento de Nutrição (FEA – UNICAMP), pelas sugestões na minha qualificação.

À Srta. Maria Helena Sousa (CEMICAMP – UNICAMP), pela gentileza e colaboração na análise estatística deste trabalho.

À ACELBRA – Paraná, na pessoa do presidente Sr. Márcio Rogério Kurz pela sugestão e envio de amostras de alimentos consumidos por celíacos para análise.

À ACELBRA – São Paulo, na pessoa do internauta Péricles, pelo envio das informações sobre a incidência da DC no Brasil.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES) pelo apoio financeiro recebido através de bolsa concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), agradeço imensamente, pelo financiamento do projeto 00/02783-2.

À minha querida amiga Karen, sempre tão atenciosa, não tenho palavras para agradecer pela amizade, pelo carinho, pelas inúmeras sugestões, além do enorme interesse e da grande disponibilidade de sempre se fazer presente durante todas as etapas deste trabalho. Meu muito OBRIGADA!!!!!!!!!!

À minha querida e fiel Zenaide, meu braço direito, pelo convívio, pelo carinho e eterna dedicação.

Aos grandes amores da minha vida: Luiz e Maria Beatriz.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
SUMMARY.....	xiii
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Doença celíaca: histórico e epidemiologia.....	5
2.2. O glúten.....	9
2.3. Etiopatogenia.....	14
2.4. Quadro clínico e doenças associadas.....	17
2.5. Tratamento: dietoterapia.....	21
2.6. Determinação do glúten.....	24
2.7. Legislação e rotulagem.....	28
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1. Materiais.....	32
3.1.1. Alimentos.....	32

3.2. Métodos.....	40
3.2.1. Preparo das amostras.....	41
3.2.2. Preparo dos padrões.....	42
3.2.3. Preparo dos controles.....	42
3.2.4. Montagem da reação.....	43
3.2.5. Leitura da reação.....	45
3.2.6. Cálculo do teor de glúten.....	45
4 – RESULTADOS.....	46
4.1. Curva–Padrão: Absorbância (405nm) x Concentração de gliadina ($\mu\text{g/mL}$).....	46
4.2. Determinação da conc. de gliadina e do teor de glúten (%).....	50
4.3. Análise estatística descritiva exploratória.....	56
5 – DISCUSSÃO	63
6 – CONCLUSÕES.....	70
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Embutidos (salsichas e lingüiças).....	33
Tabela 2 – Bebidas (cervejas e achocolatados).....	34
Tabela 3 – Produtos de Panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks).....	35
Tabela 4 – Condimentos (molhos e temperos).....	38
Tabela 5 – Desidratados (sopas).....	39
Tabela 6 – Absorbâncias das soluções-padrão de gliadina.....	48
Tabela 7 – Ajuste de regressão.....	48
Tabela 8 – Teor de glúten nos Embutidos.....	50
Tabela 9 – Teor de glúten nas Bebidas.....	51
Tabela 10 – Teor de glúten nos Produtos de Panificação.....	52
Tabela 11 – Teor de glúten nos Condimentos.....	55
Tabela 12 – Teor de glúten nos Desidratados.....	56
Tabela 13 – Distribuição absoluta e relativa dos produtos segundo grupos.....	57
Tabela 14 – Distribuição absoluta e relativa do conteúdo de glúten.....	58
Tabela 15 – Distribuição absoluta dos grupos dos produtos segundo classificação..	59
Tabela 16 – Descrição dos produtos com conteúdo médio e alto de glúten.....	59

Tabela 17 – Distribuição absoluta e relativa dos produtos de acordo com cereal de origem.....	60
Tabela 18 – Distribuição absoluta dos produtos comprovadamente isentos de glúten por natureza.....	61
Tabela 19 – Valores descritivos do conteúdo de glúten nos produtos.....	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Idade dos celíacos em acompanhamento médico.....	8
Figura 2 – Relação taxonômica entre os grãos de cereais.....	11
Figura 3 – Símbolo internacional de alimentos “isentos de glúten” destinados aos celíacos.....	29
Figura 4 – Esquema da reação de ELISA (<i>sandwich</i> direto).....	41
Figura 5 – Placa da reação de ELISA.....	44
Figura 6 – Reação de ELISA.....	47
Figura 7 – Dispersão dos valores de absorbância (405nm) segundo concentração de gliadina ($\mu\text{g/mL}$) e curva ajustada.....	49

RESUMO

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLÚTEN POR ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS

A Doença Celíaca (DC) é uma intolerância permanente ao glúten, manifestada em crianças e adultos, que agride e danifica as vilosidades do intestino delgado prejudicando a absorção dos alimentos. Suas conseqüências são diarréia, vômitos, emagrecimento acentuado, anemia, baixa estatura e desnutrição aguda, podendo levar o paciente à morte na ausência de um diagnóstico. Nos países europeus, a incidência da moléstia é de 1:300, enquanto no Brasil ainda não existem estatísticas. O tratamento da DC é basicamente dietético. As pessoas portadoras desta enfermidade devem excluir o glúten da dieta durante toda a vida. Não podem ingerir alimentos provenientes de trigo, centeio, cevada e aveia. Evitar o glúten da dieta requer exame minucioso dos rótulos das embalagens dos alimentos. Embora, a princípio, seguir dieta estritamente isenta de glúten possa parecer simples, na prática evidencia-se uma série de dificuldades na manutenção desta dieta, não somente por parte do paciente, mas também pela presença de glúten numa vasta quantidade de alimentos processados, sem que sua composição esteja especificada na rotulagem, possibilitando o encontro desta proteína em alimentos inesperados. Em vista disso, 177 produtos industrializados, disponíveis no mercado brasileiro, foram analisados quanto à presença de glúten. Destes 83 eram produtos de panificação, 34 bebidas, 24 condimentos, 22 embutidos e 14 desidratados. Utilizou-se para análise um ensaio imunoenzimático comercial baseado num anticorpo monoclonal para ω -gliadinas. Os resultados da análise mostraram que o glúten estava presente em 84% dos produtos. Dos 98 alimentos *naturalmente isentos*, apenas 19 não apresentaram a proteína em sua composição.

A maioria das amostras apresentou níveis de glúten inferiores a 0,016%. Quatro amostras tinham teores de glúten entre 0,016 e 0,046% e apenas uma amostra apresentou um teor entre 0,10 e 0,30%. Os resultados sugeriram que durante o processamento, produtos *naturalmente isentos* sofreram contaminação por glúten, inaceitável aos portadores da DC. Além disso, muitos alimentos ainda se encontram com rotulagem incompleta, não apresentando a advertência “contém glúten”.

SUMMARY

GLUTEN DETERMINATION IN FOODS BY AN ENZYME IMMUNOASSAY

Coeliac Disease (CD) is a permanent gluten intolerance that affects children and adults, and is characterized by damage to the villi in the small intestine causing nutrients malabsorption. Symptoms of CD can range from the classic features, such as diarrhea, growth failure, vomiting, weight loss, anemia, to an acute malnutrition which can take the patient to death in the absence of the right diagnosis. The incidence of gluten intolerance has been reported to be 1:300 in European countries, while in Brazil there is no statistics. The treatment for CD is based on diet. People suffering from this disorder should eliminate gluten from their diet for the entire life. A gluten-free diet means avoiding all products that contain wheat, rye, barley and oat. It would be recommended for patients to examine the food labels very carefully. Although the adherence to a gluten-free diet may seem simple, in fact there is a series of difficulties in the maintenance of this diet, not only from the patient perspective, but also due to the following reasons: gluten can be found in unexpected sources, composition of foods is not exactly known and the food labeling is quite often incomplete. In order to check what was mentioned above, 177 Brazilian products were analysed for determination of gluten. A commercial enzyme immuno assay was used based on a monoclonal antibody to omega-gliadin to analyse 83 bakery products, 34 beverages, 24 sauces, 22 sausages and 14 dehydrated soups. The results showed gluten presence in 84% of the examined products. In 19 out of 98 products claimed to be *gluten free by nature*, gluten was not found. The majority of the samples had levels under 0.016% of gluten. Four samples had a gluten level between 0.016 and 0.046%, while just one sample had level of gluten between

0.10 and 0.30%. It is suggested that during the food processing, the *naturally gluten free* products were contaminated with the toxic protein. Such contamination is unacceptable for the patients who suffer from CD. Besides this, a lot of products had incomplete labeling, not calling the consumer's attention for the presence of gluten.

1. INTRODUÇÃO

A maioria das pessoas já apresentou algum dia, uma reação adversa causada pela ingestão de algum tipo de alimento. Essa manifestação pode ter se evidenciado tanto por sintomas respiratórios, como cutâneos, gastrointestinais ou neurológicos. Uma reação alimentar adversa compreende não somente reações imunológicas, como as alergias, mas também reações não-imunológicas, que podem ser resultantes de anormalidades metabólicas, conhecidas como intolerâncias alimentares.

A Doença Celíaca (DC) constitui um dos exemplos mais importantes de intolerância alimentar. Nesta enfermidade do sistema imunológico, o glúten presente nos grãos de trigo, centeio, cevada e aveia desencadeia uma série de eventos que culminam na atrofia total ou parcial da mucosa do intestino delgado, com decréscimo significativo da área de absorção dos nutrientes em indivíduos geneticamente susceptíveis. Como consequência desta anormalidade, o celíaco perde peso, sofre diversos sintomas associados à deficiência de vitaminas e minerais, podendo apresentar dermatite herpetiforme, diabetes mellitus, além da associação a outras doenças imunológicas, e até transtornos nervosos e psiquiátricos.

Trata-se de uma situação mais freqüente do que se supõe e constitui assunto de grande importância para a saúde, dadas as consequências gastrointestinais e nutricionais que ela pode acarretar em crianças e adultos.

O glúten é uma proteína que está presente no trigo, centeio, cevada e aveia. Os fragmentos polipeptídicos do glúten, que constituem a fração solúvel em álcool, são denominados de prolaminas. Estas, em geral, representam 50% da

quantidade total do glúten, e diferem de acordo com o tipo de cereal: gliadina no trigo, secalina no centeio, hordeína na cevada e avenina na aveia. A toxicidade da gliadina e da secalina na DC está bem estabelecida, enquanto que o papel da hordeína e da avenina ainda é motivo de controvérsias.

O tratamento da DC é basicamente dietético, devendo-se excluir o glúten da dieta durante toda a vida do indivíduo, o que implica portanto na suspensão de todos os alimentos que contenham este complexo protéico em sua composição. Isso não significa, entretanto, que ocorra um restabelecimento completo, mas unicamente uma cura clínica, pois a reincorporação do glúten na dieta recidiva a síndrome.

Embora, a princípio, seguir dieta estritamente isenta de glúten possa parecer simples, pois o glúten pode ser substituído pelo milho, arroz, batata, mandioca e outros, na prática, evidencia-se uma série de dificuldades na manutenção desta dieta, não somente por parte do paciente, pois consiste numa mudança radical do seu hábito alimentar, mas também pela presença de glúten numa vasta quantidade de alimentos processados, dos quais se desconhece sua composição em função da não discriminação na rotulagem, aliada a possibilidade de se encontrar esta proteína em alimentos inesperados, provavelmente devido a contaminações.

Em virtude das dificuldades para se garantir a prática da dieta isenta de glúten, foi promulgada no Brasil, em 1992, a Lei Federal número 8.543, que determina a impressão da advertência "contém glúten" nos rótulos e embalagens de alimentos industrializados que apresentem em sua composição derivados de trigo, centeio, cevada e aveia.

Entretanto, na prática, o que se tem verificado no mercado brasileiro é que a grande maioria dos rótulos, nem sempre contém a composição correta ou não é suficientemente esclarecedora com relação a este e a outros componentes. Até o momento, não há divulgação de estudos que tratem da problemática da rotulagem dos alimentos no Brasil. As informações existentes apenas relatam a existência da doença e oferecem orientação dietética quanto ao uso de alimentos alternativos.

No Brasil, a incidência da DC não é conhecida, mas estima-se que seja elevada já que incide com maior frequência em descendentes de europeus e os estados da Região Sul de nosso país possuem colonização predominantemente européia, o que tornaria elevada a prevalência deste quadro nesta região. Entretanto, devido à alta miscigenação que ocorre no Brasil, pode-se esperar a manifestação desta enfermidade em qualquer região. Um outro fato que vem contribuir para mascarar a presença da DC é o alto índice de doenças gastrointestinais, que acabam por confundir e dificultar diagnósticos conclusivos.

De acordo com a ACELBRA (Associação dos Celíacos no Brasil), não há razão para que não sejam aplicadas as taxas internacionais à população brasileira. Assim sendo, estima-se um número variável entre 480.000 e 533.000 (1: 300) de portadores da DC em nosso país.

Acreditando que a DC no Brasil seguramente já aflige uma importante parcela da população e considerando-se a complicada questão que envolve a rotulagem dos alimentos, aliada a dificuldade em se detectar com confiança um teor limite de glúten nos alimentos e a falta de relatos sobre este assunto, esta pesquisa tem como objetivo analisar o teor de glúten em produtos industrializados, de rotulagem incompleta, disponíveis no mercado brasileiro.

Serão avaliados, também, produtos industrializados definidos como *naturalmente isentos de glúten* derivados de milho, arroz, batata e mandioca, cereais considerados permitidos aos celíacos.

A importância do tratamento estatístico dos resultados foi considerada, uma vez que ainda não existe no país, de acordo com a ACELBRA, a pesquisa e análise de produtos industrializados a serem ingeridos ou utilizados pelos celíacos e nem um laboratório que faça a análise desses produtos para se certificar da isenção de glúten, e com isso orientar a população susceptível alertando quanto aos riscos à sua saúde.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doença Celíaca: histórico e epidemiologia

Historicamente há três marcos na evolução dos conhecimentos da Doença Celíaca (DC). O primeiro foi o de sua caracterização clínica, feita há mais de 100 anos por Samuel Gee sob a denominação de "afecção celíaca", relatando características como: "indigestão crônica encontrada em pessoas de todas as idades, especialmente entre 1 e 5 anos" (PAVELEY, 1989; AURICCHIO & TRONCONE, 1996).

O segundo foi durante o período da Segunda Guerra Mundial onde se associaram os efeitos deletérios de certos tipos de cereais à DC. Neste período, Prof. Dicke, pediatra holandês, observou que durante a época de racionamento de trigo, as crianças com "afecção celíaca" melhoravam da sua doença. Estranhamente, quando eram novamente expostas ao trigo, através do consumo de pão, voltavam rapidamente a apresentar sintomas, confirmando o trigo como elemento desencadeador da DC (BERGE-HENEGOUWEN & MULDER, 1993).

O terceiro marco, situado entre 1954 e 1956, foi a demonstração da característica lesão celíaca na mucosa jejunal, pelo médico inglês Paulley. Pode-se supor, pois, que o quarto marco será representado pela definição do mecanismo patogênico básico decorrente da ação do glúten no intestino, desconhecido até o presente momento (RIBEIRO & GONÇALVES, 2001).

A síndrome desencadeada pelo glúten é conhecida desde há muitos anos sob vários outros nomes: doença celíaca glúten induzida, enteropatia glúten induzida, enteropatia glúten sensível. No adulto também é denominada espru não tropical, esteatorréia idiopática e espru celíaco (BARBIERI, 1991).

A DC é uma intolerância permanente ao glúten, caracterizada por atrofia total ou parcial da mucosa do intestino delgado, em indivíduos geneticamente susceptíveis (WALKER-SMITH, 1996). Geralmente manifesta-se na infância, entre o primeiro e o terceiro ano de vida, podendo entretanto, surgir em qualquer idade, inclusive em adultos (PIZZINATTO & SREBERNICH, 1992). É descrita como uma doença predominante em indivíduos da raça branca, e mais raramente evidenciada na raça negra e povos asiáticos (FREITAS, 2000). A incidência da doença tem se mostrado maior em mulheres do que em homens (COLLIN et al., 1989).

Estudos de rastreamento têm demonstrado alta prevalência da doença em crianças (MAZZEETTI et al., 1992; CATASSI et al., 1994; CATASSI et al., 1995) e adultos (GRODZINSKY et al., 1992) aparentemente saudáveis. Em um estudo epidemiológico, CATASSI e colaboradores encontraram uma incidência de 1 para 300 e posteriormente 1 para 184, em 1996 na Itália..

O fenômeno epidemiológico da Dinamarca é interessante, pois há alguns anos a DC era considerada rara naquele país, com incidência de 1:10.000 (WEILE & KRASILNIKOFF, 1993), enquanto que em países vizinhos como Suécia e Finlândia, que apresentam herança genética similar, observava-se aumento da incidência, que foi atribuído à diminuição da prática da amamentação materna e aumento do consumo de alimentos contendo glúten entre os lactentes (ASHER et al., 1991). Entretanto, em 1994 um estudo posterior realizado por ASHER e KRISTIANSSON evidenciou que a incidência de DC na Dinamarca é semelhante à da Suécia (1: 300), o que possibilita supor que anteriormente a maioria dos casos não era diagnosticada, provavelmente devido à diminuição dos casos típicos.

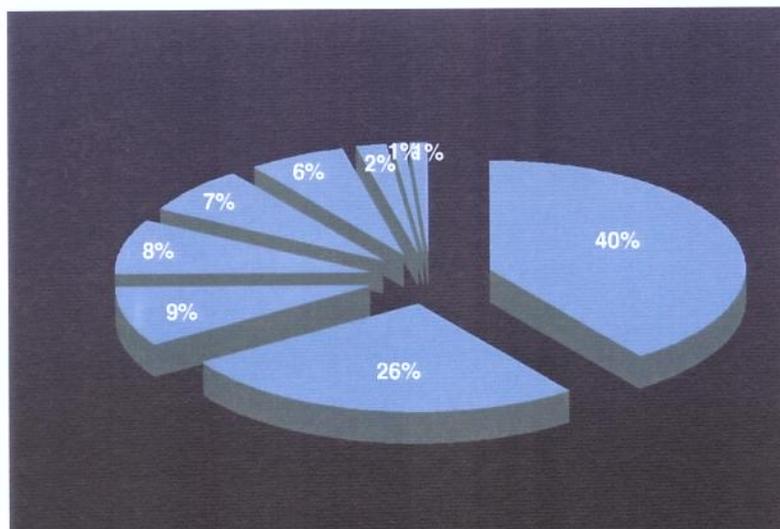
Em 1996, um grande estudo multicêntrico promovido pela Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição (ESPGAN) envolvendo 36 centros de 22 países forneceu importante informação epidemiológica (TRONCONE et al., 1996). A

incidência média encontrada foi de 1 caso para cada 1.000 nascidos vivos. Considerando o intervalo de confiança de 95% das frequências encontradas em cada região, verificou-se que não havia diferença significativa entre os diferentes países estudados, e que a incidência era comparável à já encontrada na América do Sul (POLANCO et al., 1992).

A comunidade científica americana considerava que a Doença Celíaca era uma doença rara nos Estados Unidos, o que se refletiu no limitado número de publicações científicas nos últimos 30 anos (FASANO, 1996). Após resultados preliminares de um rastreamento com anticorpos anti-gliadina e anti-endomísio em americanos doadores de sangue, FASANO e HORVATH em 2000 sugeriram que a incidência da doença não diferia da evidência em estudos similares de rastreamento realizados na Europa e estimaram a incidência da DC nos EUA em 1:150.

Quanto à incidência da DC no Brasil, até o momento não existem estudos científicos ou ensaios clínicos realizados com amostras populacionais brasileiras. Entretanto, considerando-se que a formação étnica do povo brasileiro não difere da formação dos norte-americanos, europeus, africanos e asiáticos, e que certos povos (asiáticos e africanos) começaram a apresentar o quadro celíaco quando expostos à alimentação industrializada, rebatendo assim o argumento de que a DC seja exclusivamente relacionada a europeus, acredita-se não haver razão alguma para não serem aplicadas as taxas internacionais à população brasileira. Assim, projetando os percentuais de incidência sobre 160 milhões de brasileiros, tem-se um número variável de 480.000 a 533.000 (1:300) portadores da DC no Brasil (ACELBRA, 2000).

A Figura 1 mostra a distribuição por idade dos 1.000 pacientes celíacos em acompanhamento médico, associados a ACELBRA (Associação dos Celíacos do Brasil – Secção São Paulo).



Até 10 anos : 40%
Até 20 anos : 26%
Até 30 anos : 9%
Até 40 anos : 8%
Até 50 anos : 7%
Até 60 anos : 6%
Até 70 anos : 2%
Até 80 anos : 1%
Até 90 anos : 1%

**Figura 1 – Idade dos Celíacos em acompanhamento médico
(Fonte: Cadastro da ACELBRA-SP - 2000)**

2.2. O glúten

Glúten é o nome genérico dado ao conjunto de proteínas insolúveis em água, presentes no trigo, centeio, cevada e aveia (FERRARI, 1998). O glúten possui característica visco-elástica responsável pela textura específica desejada em pães, bolos e massas em geral (BARBIERI, 1996). Em virtude da grande importância em tecnologia de cereais, particularmente o trigo (SGARBIERI, 1996), como também em intolerâncias alimentares, as proteínas do glúten têm sido bastante estudadas (ACELBRA, 2000).

Os fragmentos polipeptídicos do glúten que constituem a fração solúvel em álcool são denominados de prolaminas. Estas, em geral, representam 50% da quantidade total do glúten, e diferem de acordo com o tipo de cereal: gliadina no trigo, secalina no centeio, hordeína na cevada e avenina na aveia (CAMPBELL, 1987). Todos esses cereais são membros da família *Gramineae* e a relação taxonômica entre os mesmos é mostrada na **Figura 2** (KASARDA et al., 1978). Percebe-se que o arroz não se mostra muito mais distante em relação ao trigo que a aveia. Entretanto, para indivíduos sensíveis ao glúten, a aveia é considerada tóxica e o arroz não. Arroz e milho são considerados seguros para os celíacos (PENNA et al., 1991).

Embora seja fato comprovado que trigo, centeio, cevada e aveia são ativos na indução da DC, o cereal mais estudado é o trigo, ou mais especificamente sua prolamina, a gliadina. De acordo com sua mobilidade eletroforética, podem ser obtidas 4 frações: α , β , γ e ω da gliadina. A α -gliadina além de apresentar a maior mobilidade é a fração mais tóxica, principalmente sua sub-fração A, enquanto que as frações β e γ , embora levemente menos tóxicas, também são responsáveis pela lesão celíaca. Ainda é muito discutível a ação da fração ω ,

considerada a menos tóxica de todas (KASARDA et al, 1978; CICLITIRA & ELLIS, 1987).

A toxicidade da gliadina e da secalina na DC está bem estabelecida, enquanto que o papel da hordeína e da avenina ainda é motivo de controvérsias (BRANSKI & SHINE, 1996). Apesar disto, praticamente toda a comunidade médica preconiza dieta sem trigo, centeio, cevada e aveia para o tratamento da DC (DISSANAYAKE et al., 1974; ANAND et al., 1978; POLANCO, 1988; PENNA et al., 1991 e WALKER-SMITH, 1996).

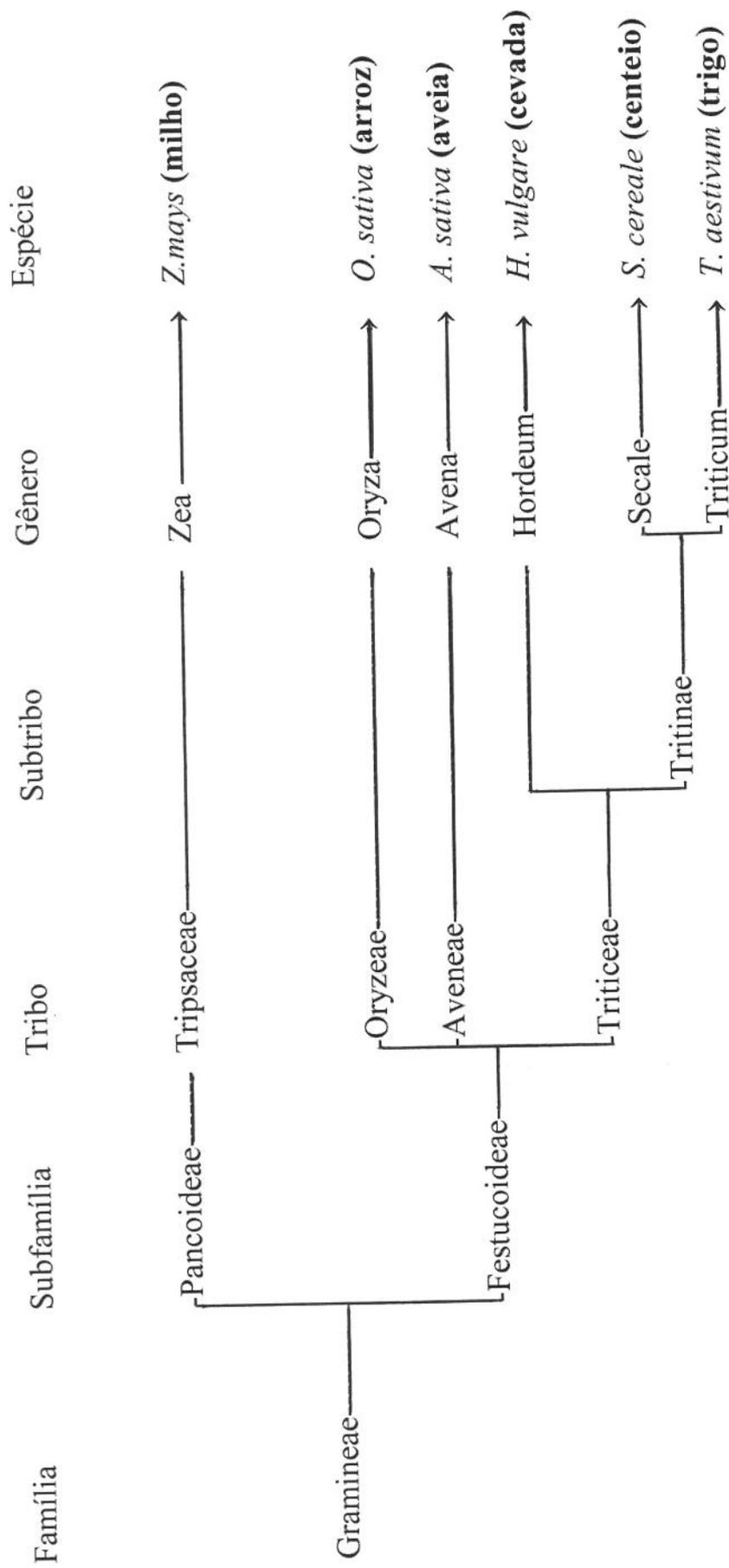


Figura 2 - Relação taxonômica entre os grãos de cereais

Em 1995, JANATUINEN e colaboradores concluíram que a maioria dos pacientes com DC, em remissão ou diagnosticados recentemente, poderia adicionar quantidades moderadas de aveia na dieta sem glúten. Este trabalho recebeu críticas principalmente quanto à conclusão prematura, pois o tempo de acompanhamento foi de apenas 12 meses (BRANSKI & SHINE, 1996).

A toxicidade das prolaminas do glúten parece estar associada com alguma seqüência rara de aminoácidos. Há aproximadamente 20 anos, KASARDA (1981) vem tentando encontrar alguma evidência quanto à provável natureza das seqüências tóxicas. Entretanto, parece não existir ainda uma posição conclusiva a esse respeito (PIZZINATTO & SREBERNICH, 1992).

A gliadina é rica em prolina e glutamina, seu fracionamento até aminoácidos implicou na perda de ação lesiva na mucosa intestinal, de modo a confirmar a necessidade da presença de ligação peptídica entre alguns aminoácidos para o aparecimento da lesão celíaca (BARBIERI, 1991).

Enquanto muitos pesquisadores demonstraram a alta atividade das frações α e β da gliadina na DC (CICLITIRA et al., 1984), posteriormente outros estudos revelaram que não existiam seqüências homólogas destas frações nem no centeio e nem em cevada, embora estes cereais sejam considerados tóxicos aos celíacos (DEVERY et al., 1989).

Em estudo realizado por SKERRIT et al. (1990) foram testadas quatro seqüências de aminoácidos encontradas em diferentes regiões da molécula da α -gliadina. As seqüências derivadas das regiões central e C-terminal da molécula não apresentaram nenhuma atividade, enquanto que a derivada da região N-terminal mostrou-se fracamente ativa. O peptídeo que apresentou alta atividade foi o que continha a seqüência QQPY (glu-glu-pro-tir), encontrada não apenas na α -gliadina,

como também na fração γ e nas prolaminas do centeio e cevada. Com este resultado, os pesquisadores entraram em concordância com CORNELL (1988), que acreditava estar a toxicidade da gliadina em sua molécula devido à alta concentração de glutamina.

Para SKERRITT & HILL (1991) uma explicação para a toxicidade do glúten na DC reside na possibilidade de existir uma pequena sequência da α -gliadina homóloga às prolaminas do centeio, da cevada e da aveia, e a ação tóxica seria de responsabilidade desta sequência.

2.3. Etiopatogenia

Embora os mecanismos envolvidos na produção da lesão da mucosa intestinal na DC ainda sejam desconhecidos (RIBEIRO & GONÇALVES, 2001), com certeza três fatores interagem na patogênese desta doença: fatores genéticos, imunológicos e ambientais (BARBIERI, 1991).

De acordo com DEVERY et al. (1989), a resposta patológica ao glúten é determinada geneticamente e relacionada intimamente ao antígeno da histocompatibilidade e mediada por reações de natureza imunológica. Existe um conjunto de glicoproteínas antigênicas encontradas na superfície de todas as células humanas, estudadas em linfócitos por maior facilidade, chamadas de antígenos de histocompatibilidade e conhecidos como sistema HLA ("Human Leucocyte Antigens"), cuja codificação é feita pela ação de genes localizados no cromossomo 6, no seu braço curto e *locus* A, B, C e D, sendo os responsáveis pela regulação da resposta imune (SOLLID, 1996). No caso da doença celíaca, eles iriam codificar a produção de proteínas da superfície celular, que irão funcionar como receptores do glúten e seus derivados tóxicos.

Estudos realizados em 1983, por FALCHUK, mostraram que 60 a 80% dos pacientes celíacos são HLA – B8, contra 20% da população geral. No Brasil, o trabalho de KOTZE (1996) mostrou que 71% dos celíacos eram do tipo HLA-B8, todos de uma mesma área geográfica do sul do Brasil.

Embora um alto número de celíacos expresse um mesmo tipo de HLA, nem todos os pacientes o apresentam, e grande parte da população não celíaca também o expressa, o que faz supor que ele não é essencial para o desenvolvimento da doença. Desta forma, é provável que outros *locus* genéticos devam estar também envolvidos na patogênese da DC. Como essas associações

HLA predispõem à DC ainda não é fato esclarecido. Presume-se que, provavelmente os antígenos HLA atuem na mucosa intestinal regulando a resposta imune exercendo uma função de guia imunológico (SOLLID et al., 1993).

Um segundo fator genético que é o antígeno específico sobre a superfície do linfócito B, encontrado em 80% dos celíacos, em 16% da população geral e em 100% dos pais dos celíacos, também foi detectado. Isso permitiu concluir que o modo de herança é sempre recessivo (PIZZINATTO & SREBERNICH, 1992).

O mecanismo pelo qual o glúten exerce sua ação tóxica ainda permanece desconhecido. A presença de células T produtoras de citocina na lesão celíaca e a estreita associação com o antígeno de histocompatibilidade – HLA, sugerem que o sistema imunológico celular tem importante papel no desenvolvimento da doença (TRIER, 1991; SOLLID et al., 1993).

Em relação aos trabalhos que analisam a imunidade humoral, devem ser citados os que detectaram anticorpos anti-gliadina classes IgA e IgG no soro de crianças com DC ativa. A presença destes anticorpos entretanto revelou-se pouco sensível e muito inespecífica, pois tais pacientes apresentaram anticorpos não só anti-gliadina mas também à outras proteínas alimentares (SAVILAHTI et al., 1983).

A associação da DC com outras doenças de base imunológica apóia a teoria etiopatogênica de uma resposta imunológica alterada, tanto da imunidade celular quanto da humoral. Entretanto, a patogenia da enteropatia da DC é altamente complexa, envolvendo um amplo espectro de eventos imunoreguladores e provavelmente muitos mecanismos diferentes (BARBIERI, 1996).

Além dos fatores genéticos e imunológicos, foram estudados fatores ambientais, além do glúten, para explicar a causa da DC. Uma pesquisa realizada por KAGNOFF e colaboradores (1984) utilizando 1.498 sequências de cadeia protéica teve como objetivo encontrar alguma homologia à da α -gliadina. Esta homologia foi localizada na proteína E 1b do adenovírus 12 humano, isolado de intestino e fezes humanas. A reação de anticorpos cruzada à proteína do vírus e à gliadina foi também determinada. Anos mais tarde, estes mesmos pesquisadores encontraram anticorpos contra o adenovírus tipo 12 no soro de portadores da DC não tratados, com frequência significativamente maior do que nos controles tratados (KAGNOFF et al., 1987).

Por outro lado, dados contraditórios revelaram que o adenovírus 12 não seria elemento importante no desencadeamento da doença (HOWDLE et al., 1989), uma vez que a sua seqüência, quando estudada por SKERRITT e colaboradores (1990) não apresentou atividade tóxica, descartando portanto sua associação à DC.

2.4. Quadro clínico e doenças associadas

Após a descrição clássica de Samuel Gee (PAVELEY, 1989; AURICCHIO & TRONCONE, 1996), novas formas de apresentação da doença ainda estão sendo descritas. Em 1989, LOGAN e colaboradores compararam a distribuição das várias formas da DC a um *iceberg* devido à existência de casos de apresentação sintomática, que corresponderiam à porção visível do mesmo, e os de apresentação assintomática, que corresponderiam à porção submersa do *iceberg* (CATASSI & GIORGI, 1996).

De acordo com POLANCO (1995), a DC pode ter quatro formas clínicas de apresentação: clássica, atípica, latente e assintomática. Por ser a de mais fácil identificação, a mais freqüente é a forma clássica que se inicia nos primeiros anos de vida, manifestando-se com quadro de diarréias intermitentes, vômitos, irritabilidade, anorexia e má evolução no crescimento (VISAKORPI, 1995). Após meses de introdução de glúten na dieta, as fezes tornam-se fétidas, gordurosas e volumosas, e o abdômen distendido. Mais raramente, o quadro diarréico conduz à desidratação e choque.

A forma atípica é descrita com maior freqüência no pré-escolar, e exhibe apenas alterações isoladas, como anemia, hemorragias, retardo no crescimento, puberdade atrasada e constipação, conforme observado por BARBIERI (1991).

Apresentam DC latente, aqueles pacientes com biópsia jejunal normal mesmo consumindo glúten, sendo que, em outro período de tempo, que pode ser anterior (MAKI et al., 1989) ou posterior (MAKI et al., 1990) esses pacientes apresentam atrofia parcial das vilosidades intestinais, que reverte à normalidade com a utilização da dieta livre de glúten (FERGUSON et al., 1993; TRONCONE et

al., 1996). De acordo com FREITAS (2000), latência na DC significa que a doença existe, porém não se manifesta.

A doença assintomática, comprovada fundamentalmente entre familiares de primeiro grau de pacientes celíacos, vem sendo reconhecida com maior frequência nas últimas duas décadas após o desenvolvimento de marcadores séricos específicos, especialmente os anticorpos anti-gliadina, anti-endomísio e anti-reticulina (CATALABUIG et al., 1990; CATALDO et al., 1995). Inclui as alterações na mucosa intestinal, típicas da doença (voltam ao normal com a retirada do glúten da dieta), mas sem nenhuma manifestação clínica característica. Ao invés da forma assintomática, vários autores têm preferido usar o termo “silenciosa”, porque estes pacientes podem com frequência ter alguns sintomas mínimos da doença, notados apenas após a introdução de uma dieta sem glúten, quando geralmente eles se sentem melhor do que antes do tratamento (FREITAS, 2000).

Em 1993, segundo FERGUSON et al. a descrição da DC deveria ser revista e o tratamento com dieta sem glúten orientado para pacientes com mínimas formas de enteropatia. Um novo termo deveria ser proposto para descrever indivíduos que tem diagnóstico de DC latente ou considerados como de baixo grau de comprometimento.

O padrão ouro para o diagnóstico da DC é a biópsia do intestino delgado, por endoscopia, usualmente obtida do duodeno distal onde a mucosa se apresenta atrófica, com aspecto em mosaico (TRIER, 1991). É de grande importância o reconhecimento das características estruturais da mucosa do intestino delgado na enfermidade. Ela é melhor descrita como atrofia dos vilos, com hiperplasia das criptas e uma superfície epitelial anormal (SIPAHİ et al., 2000). Outros exames também devem ser solicitados diante do quadro de má absorção, sendo os principais, a dosagem de gordura fecal, a prova da D-xilose, o estudo radiológico

contrastado do intestino delgado, e os relacionados à desnutrição, como hemograma, proteinograma, ferro sérico (OLIVEIRA, 2001).

Uma série de patologias pode estar associada à DC, como doenças imunológicas, esterilidade, osteoporose, distúrbios neurológicos e psiquiátricos (HOLMES, 1996). Ainda de acordo com FEIGHERY (1999), a coexistência da DC com diabetes é da ordem de 2 a 7,8%, possivelmente dependente da associação com o antígeno HLA – B8, presente em alta frequência em ambas patologias.

A associação da DC com a Dermatite Herpetiforme (DH), embora mais frequente em adultos do que em crianças, permite considerá-la uma variante da doença celíaca (McGOVERN & BENNION, 1994). Estudando a existência da enteropatia em 29 pacientes com DH que recebiam dieta com glúten, CUARTERO e colaboradores, em 1992, observaram que em 71% dos casos existiam lesões intestinais graves, indistinguíveis da doença celíaca. Com o emprego da dieta isenta de glúten, todas as lesões intestinais regrediram, e as manifestações dermatológicas desapareceram em 17 pacientes, regrediram em 9 e persistiram em apenas 3, que transgrediram a dieta.

A associação entre DC e síndrome de Down está bem estabelecida. Os primeiros relatos de casos descreveram a coexistência de ambas em poucos pacientes. Um estudo sugeriu prevalência aumentada da DC em portadores da síndrome de Down, correspondendo a 43 vezes mais que em crianças sem a doença, enquanto um outro trabalho descreveu aumento de 20 vezes (SIMILÄ e KOKKOMEN, 1990). Pesquisadores holandeses confirmaram que um número bem maior de casos de DC ocorre entre os portadores de síndrome de Down, com a ocorrência de 1 celíaco a cada 14 portadores de Down (7%), conforme citado pelo Dr. PUPO FILHO em 1997, durante sua apresentação na Conferência Médica

Internacional sobre Síndrome de Down na cidade de Barcelona. (GALE et al., 1997).

2.5. Tratamento: dietoterapia

Os princípios do tratamento da doença celíaca não mudaram substancialmente desde os estudos válidos de Dicke e colaboradores, que se iniciaram na década de 30 e permanecem até o presente momento (BERGEHENEGOUWEN & MULDER, 1993). Como a doença celíaca é desencadeada pela ingestão de glúten, o tratamento dietético é fundamental e consiste na exclusão total dos alimentos que contenham glúten durante toda a vida, tanto em indivíduos sintomáticos quanto assintomáticos (POLANCO, 1995).

Enquanto SALGADO (2000) afirma tratar-se de uma dieta de certa forma problemática, pois requer a exclusão de alimentos que são habituais à alimentação do brasileiro e que apresentam custo relativamente baixo, BARBIERI (1991) afirma que dieta sem glúten não constitui problema culinário sócio-econômico, uma vez que os alimentos proibidos são poucos e muitas são as substituições possíveis.

A dieta do indivíduo com DC deverá atender às necessidades nutricionais garantindo pleno desenvolvimento e crescimento do organismo (SILVA, 1995). O alimento com glúten poderá ser substituído por milho, arroz, batata, soja, mandioca e araruta (AUGUSTO, 1995). Com o incremento de centros de informação ao consumidor, abriu-se um canal importante para os portadores dessa enfermidade, ampliando assim a gama de alimentos industrializados permitidos (SILVA, 1996).

Após a retirada do glúten da dieta, a resposta clínica é rápida havendo desaparecimento dos sintomas gastrointestinais dentro de dias ou semanas (POLANCO et al., 1996), observando-se um notável aumento da velocidade de crescimento depois de pouco tempo de dieta (TRONCONE et al., 1996).

A adesão à dieta isenta de glúten é variável e difícil, especialmente durante a adolescência (MAYER et al., 1991; FABIANI et al., 1996). Justamente com o objetivo de minimizar as dificuldades de se seguir uma dieta isenta de glúten é que começaram a surgir associações civis de celíacos (SDEPANIAN et al., 1998).

Estas associações têm como objetivos principais, orientar os pacientes quanto à doença e dieta sem glúten, por meio de palestras e envio de manual de orientação alimentar, e divulgar a doença alertando os médicos e a população em geral (ACELBRA, 2000).

HOLMES (1995) demonstrou que o cumprimento da dieta restrita isenta de glúten reduz o risco de linfoma e outras doenças malignas. Quando comparados com a população geral, os pacientes celíacos negligentes têm risco aumentado de desenvolver linfomas, câncer de boca, esôfago e faringe (FERGUSON & KINGSTONE, 1996). Estes pacientes passam a pertencer, então, a um grupo de risco suscetível a tumores (BARBIERI, 1991). Sabe-se que a frequência de tumores malignos na DC varia de 5 a 15% (COOPER et al., 1980). Estes dados permitem um inquestionável suporte para aconselhar aos celíacos a adesão a uma dieta restrita isenta de glúten por toda a vida.

Quanto à possibilidade de um pão não tóxico, foi desenvolvida nos Estados Unidos uma variedade de trigo, com cromossomo 6A ausente, no sentido de tentar eliminar a toxicidade (KASARDA et al., 1978). Os resultados iniciais da ingestão do pão proveniente deste trigo pelos celíacos, mostraram-se encorajadores, mas posteriormente houve reações. Uma avaliação mais prolongada realizada por KASARDA (1981) mostrou que o mesmo trigo geneticamente modificado continha considerável toxicidade aos celíacos. Esse e outros experimentos tendem a fortalecer a probabilidade de que muitas proteínas diferentes são responsáveis

pela condição celíaca e que a tarefa de criar um trigo sem essas proteínas pode ser impossível (BALDO & WRIGLEY, 1984).

Existem pesquisas que apontam a crescente preocupação mundial com o substituto do trigo, visando atender à população hipersensível, entre ela os celíacos. Uma forte tendência é o desenvolvimento de novos produtos de panificação sem glúten, e até sem ovos e leite (HOLUB, 1990; KOKKE et al., 1994; WINTZ & KUNTZE, 1996). Várias formulações têm sido desenvolvidas, dentre as mais recentes estão aquelas propostas por DUTCOSKI (1996), que incluem tecnologia para fabricação de biscoitos tipo "cookie", sequilho e massas tipo talharim e espaguete a partir de farinha de arroz.

Embora PIZZINATTO e SREBERNICH (1992) tenham afirmado que no Brasil ainda pouco tem sido feito, talvez até pela falta de demanda, uma série de formulações alternativas podem ser encontradas (KOTZE, 1996). Um exemplo interessante consiste na massa tipo macarrão obtida de misturas de farinhas de milho e de quinoa (pseudo cereal originário da região dos Andes), desenvolvida por CAPERUTO (1999). No ano seguinte, foi a vez do nutricionista ESCOUTO desenvolver a tecnologia de fabricação de um pão à base de polvilho azedo e farinha de mandioca, com aspecto semelhante ao pão de trigo, mas livre de glúten, podendo ser utilizado como alimento complementar em alimentação de celíacos.

2.6. Determinação do glúten

O interesse em se desenvolver métodos de determinação de glúten em alimentos cresceu muito devido ao grande número de indivíduos incapazes de tolerar glúten (COOKE & HOLMES, 1984), aliado à incorporação, nem sempre descrita na embalagem, deste complexo protéico como agente emulsificante (AYOB et al., 1988) utilizado na indústria de embutidos cárneos.

Em 1981, KASARDA investigando seqüências peptídicas tóxicas utilizou as técnicas de cromatografia e eletroforese. Embora de fácil execução, são metodologias não quantitativas que geralmente não podem ser utilizadas na detecção de glúten em alimentos processados (SKERRITT & SMITH, 1985). Já o radioimunoensaio (RIA) desenvolvido por CICLITIRA e LENNOX (1983) mostrou-se quantitativo apenas em alimentos não processados e não detectou as prolaminas da cevada e nem do centeio. Utilizando cromatografia líquida na análise de aminoácidos das prolaminas do glúten, WINDERMANN et al. (1982) enfrentaram problemas com interferências de outros componentes do alimento e tiveram seus resultados todos comprometidos.

O ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) pode ser desenvolvido para a detecção de qualquer proteína de um alimento que provoque uma reação alimentar adversa. Uma vez que o alérgeno é uma proteína, os imunoensaios utilizando anticorpos diretamente contra esta proteína, podem ser empregados com sucesso na sua detecção (NORDLEE & TAYLOR, 1995). Muitos pesquisadores desenvolveram ensaios imunoenzimáticos do tipo *sandwich* simples para a detecção de glúten em alimentos (FRITSCHY et al., 1985; KACZKOWSKY et al., 1985). Entretanto, todos utilizaram anticorpos policlonais para a detecção da gliadina, comprometendo a especificidade do método devido às possíveis reações

cruzadas (FREEDMAN et al., 1987) ou resultados falso-positivos (AYOB et al., 1988).

Em 1991, SKERRITT e HILL desenvolveram um ensaio imunoenzimático para a determinação de glúten em alimentos processados utilizando anticorpos monoclonais, e após um estudo que contou com a colaboração de 15 laboratórios, tiveram sua metodologia validada pela Association Official of Analytical Chemists (AOAC). Após estudarem centenas de anticorpos monoclonais, os mesmos pesquisadores australianos selecionaram e identificaram apenas cinco com especificidade, afinidade e estabilidade apropriadas. A vantagem desses anticorpos selecionados para este ensaio foi a capacidade de se ligarem a proteínas (ω -gliadinas) que não se desnaturaram pelo calor após o processamento dos alimentos.

Esses mesmos anticorpos serviram de base para a proposta de elaboração de um *kit* comercial que visa detectar não só a prolamina do trigo, como a do centeio, cevada e triticale, auxiliando os celíacos na escolha de alimentos realmente isentos de glúten (SKERRITT & HILL, 1991). É importante ressaltar que este *kit* é o único método comercial disponível no mercado para se detectar glúten quantitativamente.

Com a finalidade de se investigar a contaminação por farinha de trigo em produtos comercializados como *gluten-free*, ALLMANN e colaboradores (1993) realizaram uma análise de DNA utilizando a técnica molecular PCR (Polymerase Chain Reaction) paralelamente ao *kit* desenvolvido por SKERRITT & HILL (1991) e conseguiram confirmar resultados positivos em 16 das 35 amostras analisadas.

Em 1999, durante o 8º. Simpósio Internacional sobre a Doença Celíaca realizado na cidade de Nápoles, na Itália, a pesquisadora sueca YMAN constatou traços de glúten em 1/3 do total de suas 105 amostras analisadas, comercializadas na Europa como *gluten-free*, utilizando o método imunoenzimático com 3 anticorpos monoclonais.

O *Codex Alimentarius* ainda não conseguiu compatibilizar as polêmicas existentes quanto à norma sobre produtos *gluten-free*. O fato de ainda não existir estabelecido um teor limite de glúten para esses produtos, tem feito muitos países enviarem sugestões sobre metodologias com a finalidade de se detectar glúten com a maior sensibilidade possível. Na Espanha, um grupo de pesquisadores propôs um método alternativo não imunológico, baseado na espectrometria de massa (MADI-TOF), onde a determinação da gliadina é obtida diretamente da comparação do espectro da amostra com o padrão. Tem a vantagem de ser o único método capaz de discriminar o tipo específico da prolamina (gliadina, hordeína, secalina ou avenina) que está presente no alimento analisado (CAMAFEITA et al., 1997).

Outro método também proposto por um grupo de pesquisadores espanhóis compreende um ensaio imunoenzimático (ELISA) tipo *sandwich* utilizando 3 anticorpos monoclonais específicos para a detecção de cevada, trigo e centeio, com limite de detecção de gliadina de 3 ppm (SORELL et al., 1998). Os mesmos pesquisadores estudaram a possibilidade de desenvolver um novo ELISA com limite de detecção de 0,7 ppm para as gliadinas (1,5 ppm glúten), com capacidade de reconhecer trigo, centeio e cevada, com a utilização apenas de um único anticorpo monoclonal (MÉNDEZ et al., 1999). Esta nova metodologia ainda será discutida pela Comissão do *Codex Alimentarius*.

Considerando que muitos dos celíacos são sensíveis a quantidades diminutas de glúten, e que ainda existe uma grande dificuldade em se detectar o teor real e preciso deste complexo protéico nos alimentos, faz-se necessário a adoção de uma metodologia universal para sua determinação (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1996).

2.7. Legislação e rotulagem

Com respeito às normas de rotulagem, na Europa e nos Estados Unidos, os produtos industrializados que não contém glúten ou contém uma quantidade mínima permitida de glúten segundo o *Codex Alimentarius* da FAO/ OMS para consumo de portadores da DC, apresentam em sua embalagem o símbolo internacional representado por um trigo "cortado" (**Figura 3**), caracterizando-o como um alimento isento de glúten. Porém uma polêmica muito grande ainda reside quanto à definição da quantidade mínima de glúten permitida para os celíacos e à metodologia mais adequada e confiável para análise. Anualmente, a Comissão do *Codex Alimentarius* (*Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity*) se reúne para que sejam estabelecidos estes limites e metodologias.

Algumas novas sugestões foram enviadas por diferentes países e discutidas em novembro de 1999 durante a 14ª. Reunião da Comissão. A Finlândia recomendou que o limite proposto anteriormente de 20 ppm, passasse para 40 ppm, para maior facilidade de detecção, e acabou sugerindo a retirada da aveia da lista dos cereais proibidos, baseando-se no estudo de JANATUITEN et al. (1995) onde pacientes celíacos tratados com quantidades moderadas de aveia não apresentaram manifestações.

Em discordância, a AO ECS (Association of European Coeliac Societies) não apenas sugeriu a inclusão da aveia no rol dos cereais proibidos, como afirmou existirem produtos no mercado com quantidade de glúten abaixo do limite de detecção de 20 ppm, discordando do limite de 200 ppm, proposto pela AAC (Association of European Cereal Starch Industry Associations) como nível de glúten em produtos ditos *gluten-free*, enquanto não houver um método confiável para esta determinação. Por sua vez a Espanha concordou com a AO ECS apenas quanto

à toxicidade da aveia, acreditando que só deva ser aceito o teor limite de 20 ppm quando houver disponibilização de metodologia de análise apropriada.



Figura 3 – Símbolo internacional de alimentos “isentos de glúten” destinados aos celíacos

A proposta defendida pela Suécia foi a da adoção do método aprovado pela AOAC, desenvolvido por SKERRITT & HILL (1991), como método universal na determinação de glúten em todos os alimentos, que consiste em um ensaio imunoenzimático baseado na utilização de anticorpos monoclonais antigliadina, conferindo maior especificidade ao método.

A fim de evitar discussão sobre o teor limite permitido, a Coreia sugeriu a adoção de um nível único para resíduo de glúten, propondo a nomenclatura *gluten-low*, e em desacordo com o estabelecido, a Polônia preferiu não se pronunciar a este respeito, enviando sugestões apenas sobre os níveis permitidos de metais pesados em produtos *gluten-free*. Finalmente, o ISDI (International Special Dietary Foods Industries) sugeriu que os estudos deveriam continuar e que novas nomenclaturas poderiam ser adotadas como *low or reduced in gluten* e *gluten-free by nature*.

No Brasil, foi promulgada em dezembro de 1992 a Lei Federal nº. 8.543 que determina a impressão da advertência "contém glúten" nos rótulos e embalagens de alimentos industrializados que apresentem em sua composição derivados do trigo, centeio, cevada e aveia (BRASIL, 1992). Assim, portadores da DC poderiam identificar os alimentos que não devem consumir. No entanto, os alimentos que não contêm glúten estariam assim desobrigados desta determinação de acordo com a legislação vigente.

A maior conscientização dos consumidores brasileiros tem transformado o processo de rotulagem numa importante linha de comunicação entre as empresas de alimentos e os consumidores (NUTTI, 1999), principalmente em se tratando de celíacos, onde a garantia de uma dieta isenta de glúten requer cuidadosa verificação dos rótulos de todos os produtos a serem consumidos (SALGADO, 2000). Embora o ano de 1998 possa ser considerado um marco histórico na legislação de alimentos no Brasil, pois no decorrer deste, o Ministério da Saúde, através da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária publicou uma série de portarias, internalizando Resoluções do Mercosul e Recomendações do *Codex Alimentarius*, referentes à Rotulagem de Alimentos e Alimentos para Fins Especiais (NUTTI, 1999), infelizmente ainda não há menção para alimentos direcionados exclusivamente para celíacos, pois não existem no mercado.

A composição dos alimentos é uma informação básica para o estabelecimento de recomendações dietéticas individuais assim como para o estabelecimento de políticas de saúde. No Brasil existem até o momento diversas iniciativas isoladas de pesquisadores brasileiros de produzirem informações sobre a composição de alimentos através de metodologias diversas, entretanto, por não haver uma sistematização destes dados e por serem bastante restritos, considerando-se a grande dimensão do problema, têm sido utilizadas compilações

de tabelas estrangeiras, que não refletem absolutamente a composição real dos alimentos produzidos no Brasil (GALEAZZI, 2001).

Frente a esta realidade, surgiu o projeto TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos), que visa dar continuidade aos trabalhos de elaboração de uma base de dados com a composição dos alimentos brasileiros, e contribuir de maneira efetiva com o conhecimento da real ingestão da população brasileira em macronutrientes e micronutrientes. O projeto conta com a participação de pesquisadores da UNICAMP, PUCCAMP, UNIFESP, SBCTA, USP, e vem sendo apoiado pelo Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que tem buscado medidas e providências que assegurem o conhecimento de novos alimentos e da natureza química de seus componentes que possam afetar a saúde do homem.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Alimentos para análise

Após orientação do Departamento de Estatística do Centro de Pesquisas e Controle das Doenças Materno-Infantis de Campinas - CEMICAMP, e das informações disponibilizadas pela ACELBRA – Associação dos Celíacos do Brasil, quanto aos alimentos proibidos e permitidos aos celíacos, estabeleceu-se a amostragem. Ela envolveria não apenas os alimentos suspeitos de conterem glúten, cuja rotulagem não fornecesse a advertência “contém glúten”, como também os alimentos com rotulagem informando “contém traços de glúten”, e os considerados *naturalmente* isentos de glúten.

Portanto, foram completamente excluídos da análise os alimentos que já advertem em sua embalagem quanto à presença de glúten, pois não poderiam ser questionados sob o ponto de vista da Segurança Alimentar.

A amostragem totalizou 177 alimentos analisados, que foram classificados nos seguintes grupos: Embutidos - salsichas e lingüiças (**Tabela 1**), Bebidas - cervejas e achocolatados (**Tabela 2**), Produtos de panificação - farinhas, cereais, biscoitos e snacks (**Tabela 3**), Condimentos - molhos e temperos (**Tabela 4**) e Desidratados – sopas (**Tabela 5**). A fim de se preservar o nome dos fabricantes dos produtos analisados, adotou-se uma nomenclatura alfabética (Marca A, Marca B, etc). Vale ressaltar que cada tabela teve sua nomenclatura distinta uma da outra, o que significa dizer, que a marca A do grupo dos embutidos não será a mesma marca A adotada no grupo dos condimentos, por exemplo.

Para aquisição das amostras foram definidos dois estabelecimentos comerciais (hipermercados da cidade) de acordo com maior índice de faturamento(*). Uma lista completa de todos os produtos pertencentes à amostragem disponíveis nos mercados foi prévia e cuidadosamente elaborada, ficando sujeita apenas à pequenas alterações de acordo com a disponibilidade do produto na prateleira no momento da compra.

Tabela 1 - Embutidos (salsichas e lingüiças)

Nº. da Amostra	Nome do Produto
1	Lingüiça de pernil – marca A
2	Lingüiça – marca B
3	Salsicha – marca C
4	Salsicha de frango – marca D
5	Lingüiça calabresa fininha – marca A
6	Lingüiça de frango – marca D
7	Salsicha coquetel – marca D
8	Lingüiça toscana defumada – marca D
9	Lingüiça calabresa defumada – marca D
10	Lingüiça chester – marca D
11	Lingüiça calabresa cozida – marca E
12	Salsicha – marca F
13	Salsicha de frango – marca C
14	Lingüiça portuguesa – marca D
15	Salsicha hot dog – marca E
16	Salsicha hot dog – marca A
17	Lingüiça calabresa – marca D
18	Lingüiça calabresa – marca G
19	Lingüiça calabresa – marca C
20	Lingüiça de pernil – marca E
21	Lingüiça calabresa – marca E
22	Lingüiça calabresa – marca A

(*). Consulta às bases de dados da Associação Comercial e Industrial de Campinas (ACIC)

Tabela 2 – Bebidas (cervejas e achocolatados)

Nº. da Amostra	Nome do Produto
23	Cerveja – marca A
24	Cerveja – marca B
25	Cerveja – marca C
26	Cerveja – marca D
27	Cerveja – marca E
28	Cerveja – marca F
29	Cerveja – marca G
30	Cerveja – marca H
31	Cerveja – marca I
32	Cerveja – marca J
33	Cerveja tipo 1 – marca H
34	Cerveja – marca K
35	Cerveja – marca L
36	Cerveja tipo 1 – marca J
37	Cerveja – marca M
38	Cerveja tipo 1 – marca E
39	Cerveja tipo 2 – marca E
40	Cerveja tipo 1 – marca D
41	Cerveja – marca N
42	Cerveja tipo 1 – marca A
43	Cerveja tipo 3 – marca E
44	Cerveja – marca O
45	Cerveja – marca P
46	Cerveja – marca Q
47	Cerveja – marca R
48	Achocolatado – marca A
49	Achocolatado – marca B
50	Achocolatado – marca C
51	Achocolatado – marca D
52	Achocolatado tipo 1 – marca C
53	Achocolatado – marca E
54	Achocolatado – marca F
55	Achocolatado – marca G
56	Achocolatado – marca H

Tabela 3 – Produtos de panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks)

Nº. da Amostra	Nome do Produto
57	Creme de arroz – marca A
58	Creme de arroz – marca B
59	Creme de arroz – marca C
60	Creme de arroz – marca D
61	Fécula de batata – marca D
62	Creme de arroz – marca CX
63	Farinha de milho – marca E
64	Farinha de milho – marca F
65	Farinha de milho – marca D
66	Farinha de milho – marca G
67	Farinha de milho – marca H
68	Farinha de milho – marca E
69	Farinha de milho – marca I
70	Farinha de milho Amarela – marca D
71	Farinha de milho – marca J
72	Farinha de milho – marca L
73	Farinha de milho – marca M
74	Farinha de mandioca – marca N
75	Farinha de mandioca – marca E
76	Farinha de mandioca – marca H
77	Farinha de mandioca – marca D
78	Farinha de mandioca – marca J
79	Farinha de mandioca – marca M
80	Farinha de mandioca – marca I
81	Fubá mimoso – marca E
82	Fubá mimoso – marca I
83	Fubá mimoso – marca M
84	Fubá mimoso – marca H
85	Fubá – marca D
86	Fubá de canjica – marca H
87	Gérmen de trigo – marca O
88	Polvilho azedo – marca D
89	Polvilho azedo – marca E
90	Polvilho azedo – marca J

**Tabela 3 – Produtos de panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks)
(cont.)**

Nº. da Amostra	Nome do Produto
91	Polvilho azedo – marca M
92	Polvilho azedo – marca H
93	Polvilho doce – marca D
94	Polvilho doce – marca E
95	Polvilho doce – marca J
96	Polvilho doce – marca M
97	Flocos de milho – marca P
98	Flocos de milho – marca Q
99	Curau de milho – marca D
100	Broinha de milho – marca D
101	Mingau de aveia – marca R
102	Mingau de arroz – marca R
103	Mingau de milho – marca R
104	Biscoito polvilho – marca S
105	Biscoito polvilho – marca T
106	Biscoito polvilho – marca U
107	Biscoito polvilho – marca V
108	Biscoito polvilho – marca X
109	Biscoito polvilho – marca Y
110	Pipoca doce – marca W
111	Sequilho – marca Z
112	Sequilho – marca T
113	Amido de milho – marca Y
114	Batata frita – marca S
115	Batata frita – marca FX
116	Batata frita natural – marca BZ
117	Batata frita cebola/salsa – marca BZ
118	Salgadinho de milho – marca CH
119	Salgadinho de milho – marca CO
120	Salgadinho de milho – marca FA
121	Salgadinho de milho – marca DO
122	Salgadinho de milho nat. – marca FX
123	Salgadinho de milho cebola – marca FX
124	Salgadinho de milho pizza – marca FX

**Tabela 3 – Produtos de panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks)
(cont.)**

Nº. da Amostra	Nome do Produto
125	Fécula de batata – marca B
126	Cereal arroz – marca NT
127	Cereal milho – marca NT
128	Cereal arroz – marca NL
129	Cereal milho – marca NL
130	Mistura p/ arroz doce – marca PR
131	Mistura p/ manjar – marca PR
132	Pó p/ sorvete – marca OK
133	Pó p/ sorvete – marca D
134	Liga neutra – marca ST
135	Cereal chocolate – marca KG
136	Cereal milho natural –marca SB
137	Cereal milho c/ açúcar –marca SB
138	Cereal milho chocolate –marca SB
139	Mistura p/ mingau – marca R

Tabela 4 – Condimentos (molhos e temperos)

Nº. da Amostra	Nome do Produto
140	Molho de tomate – marca A
141	Molho ervas finas – marca B
142	Molho Madeira – marca C
143	Molho Madeira – marca D
144	Molho champignons – marca E
145	Molho salada 1 – marca F
146	Molho salada 2 – marca F
147	Molho salada 3 – marca F
148	Molho salada 4 – marca F
149	Molho salada 5 – marca F
150	Molho tomate funghi – marca D
151	Molho manjericão – marca G
152	Molho salsa manjericão – marca E
153	Molho salsa champignon – marca E
154	Molho olivas – marca E
155	Molho clássico – marca E
156	Caldo galinha – marca H
157	Caldo carne – marca H
158	Maionese tom.seco – marca F
159	Molho branco – marca I
160	Molho strogonoff – marca C
161	Tempero carne – marca H
162	Tempero aves – marca H
163	Tempero legumes – marca H

Tabela 5 – Desidratados (sopas)

Nº. da Amostra	Nome do produto
164	Sopa mandioquinha – marca A
165	Sopa milho – marca A
166	Sopa galinha – marca A
167	Sopa 10 vegetais – marca A
168	Sopa brócolis – marca A
169	Creme cebola – marca B
170	Creme ervilha – marca B
171	Creme aspargos – marca B
172	Creme ervilha c/ bacon – marca C
173	Sopa galinha – marca D
174	Sopa carne – marca D
175	Sopa queijo – marca D
176	Sopa galinha c/ arroz – marca D
177	Canja arroz c/ legumes – marca D

3.2. Métodos

Para a detecção e quantificação de glúten, utilizou-se um ensaio imunoenzimático ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) do tipo *sandwich* direto. O princípio desta metodologia baseia-se no fato de antígenos reagirem com anticorpos ligados à uma enzima de maneira que ao se adicionar à reação o substrato (agente cromóforo) desta enzima, é gerado um produto colorido que poderá ser medido por espectrofotometria (**Figura 4**).

No presente trabalho foram utilizados *kits* comerciais denominados **Gluten Lab Kit** quantitativos, que foram originalmente desenvolvidos por SKERRIT e HILL (1990), aprovados pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) e distribuídos pela Medical Innovations Limited como único método oficial.

Este ensaio imunoenzimático utiliza anticorpos monoclonais, altamente específicos, capazes de se ligarem às ω -gliadinas e às prolaminas do triticale, centeio e cevada, o mesmo não acontecendo com as prolaminas da aveia, arroz e milho. A quantidade de antígeno (glúten) é detectada pela adição da enzima peroxidase conjugada a um anticorpo, seguida da adição do substrato ABTS (2,2'-azino-di-3-etilbenzotiazol ácido sulfônico). A intensidade da cor verde é proporcional à quantidade de glúten presente na amostra. O teor de glúten nos alimentos analisados é obtido de uma curva padrão de concentração de gliadina conhecida.

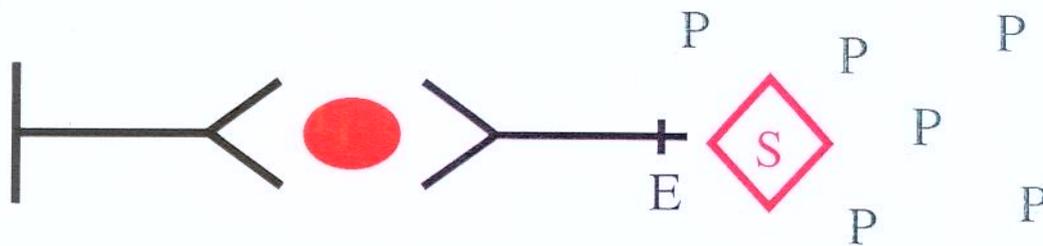


Figura 4 – Esquema da reação de ELISA (*sandwich* direto)

- Anticorpo adsorvido na placa de microtitulação
- Antígeno
- Conjugado (anticorpo + enzima)
- Substrato
- Produto colorido

3.2.1. Preparo das amostras

Para esta etapa foi utilizada uma solução de etanol 40%, visando a extração das prolaminas desejadas. Pesou-se 1g do alimento a ser analisado e adicionou-se 10mL da solução de extração. Após homogeneização em Vortex por 30 segundos, a amostra foi centrifugada a 5000 rpm durante 10 minutos à temperatura ambiente (18 – 2 5°C).

O sobrenadante (extrato da amostra) foi removido e posteriormente diluído com tampão diluente, previamente reconstituído. A diluição utilizada foi de 1/5 e se deu baseada na estimativa do teor de glúten esperado. De acordo com o método, para produtos com nível de glúten muito baixo recomenda-se diluição 1/5, ou seja, 100µL de extrato adicionado de 0,4mL de diluente.

Ainda seguindo indicação do método, vale mencionar que para os alimentos sólidos, 5g foram previamente macerados para só depois tomar-se 1g para análise. No caso dos embutidos, 20g foram homogeneizados em Stomacher com 200ml da solução de extração, para em seguida proceder-se à centrifugação. O mesmo procedimento foi feito com as bebidas, que tiveram 20mL homogeneizados com 200mL da solução de extração, antecedendo à etapa da centrifugação.

3.2.2. Preparo das soluções-padrão de gliadina

Para a quantificação do glúten nos alimentos analisados, utilizou-se uma curva padrão com concentrações conhecidas de gliadina. Para a construção desta curva, uma solução de gliadina liofilizada contendo 500 μ g/mL foi reconstituída com etanol 40%. Esta solução foi diluída em amostras de 5 μ g/mL(S1); 2,5 μ g/mL(S2); 1,25 μ g/mL(S3); 0,625 μ g/mL(S4); 0,313 μ g/mL(S5) e 0,156 μ g/mL(S6) utilizando tampão diluente.

A curva padrão foi obtida após 3 séries realizadas em duplicata, visando uma maior precisão na determinação da concentração de glúten nas amostras.

3.2.3. Preparo das soluções-controle de glúten

Amostras de amido com alto (**C**), médio (**B**) e baixo (**A**) teor de glúten, fornecidas pelo *kit*, foram submetidas à reação juntamente com as amostras a serem testadas. O preparo destes controles se deu de maneira similar ao das amostras, divergindo apenas no que diz respeito à diluição, que foi de 1/50, ou seja, 100 μ L de extrato adicionado de 4,9mL de tampão diluente.

As soluções-controle de glúten foram de grande importância para posterior comparação com os resultados obtidos das amostras e ainda, como sugerido pelo *kit*, para uma possível classificação dos alimentos analisados quanto ao teor de glúten encontrado.

De acordo com a classificação sugerida pelo método, baixo teor de glúten (**A**) corresponde a valores inferiores a 0,016%, enquanto que médio (**B**) encontra-se na faixa entre 0,016 e 0,046%, e finalmente produtos com alto teor de glúten (**C**) apresentam concentração na faixa de 0,10 a 0,30% de glúten.

3.2.4. Montagem da reação

Na placa de microtitulação sensibilizada com anticorpos monoclonais anti-gliadina, foram aplicados os brancos, os padrões de gliadina, os controles de glúten e as amostras a serem analisadas, todos num volume de 100 μ L em cada orifício da placa, que contém 96 orifícios na sua totalidade (**Figura 5**). As reações foram realizadas em duplicata. Em cada placa foram analisadas 38 amostras.

A etapa seguinte consistiu na incubação da placa à temperatura ambiente por 30 minutos, sem agitação. Em seguida, a fim de se eliminar excessos não reagentes, a placa foi submetida a 3 séries de lavagem com solução apropriada fornecida pelo *kit*.

Posteriormente foi aplicado o conjugado, que consiste na enzima peroxidase ligada a um anticorpo monoclonal anti-gliadina, previamente diluído em solução tampão diluente recomendada pelo método. Novamente a placa além de ser mantida sem agitação à temperatura ambiente por 30 minutos, também foi submetida à etapa de lavagem.

Após este procedimento, foram adicionados 100µL do substrato ABTS (2,2'-azino-di-3-etilbenzotiazol ácido sulfônico) em todos os orifícios da placa. Desta vez com leve agitação, a placa foi mantida à temperatura ambiente por aproximadamente 10 minutos, até o aparecimento da cor verde, indicando reação positiva, quando as reações foram interrompidas pela adição de 50µL de uma solução *stop* de ácido oxálico.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Br	S4	B	3	7	11	15	19	23	27	31	35	
Br	S4	B	3	7	11	15	19	23	27	31	35	
S1	S5	C	4	8	12	16	20	24	28	32	36	
S1	S5	C	4	8	12	16	20	24	28	32	36	
S2	S6	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	
S2	S6	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	
S3	A	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	
S3	A	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	

Figura 5 – Placa da reação de ELISA

- * Branco da reação
- * Padrões de gliadina
- * Controles de glúten
- * Amostras de alimentos analisados

3.2.5. Leitura da reação

Após a reação ter sido interrompida, a placa foi imediatamente submetida à leitura por um espectrofotômetro Microplate Reader (model 550 Bio Rad), acoplado a um microcomputador, utilizando o software Microplate Manager 5.0 para análise dos dados (aquisição FAPESP – processo 00/02783-2).

A leitura foi realizada a 405nm (414nm ótimo), tomando como Branco da reação a leitura dos orifícios A1 e B1. O tempo de reação para leitura foi padronizado em 8 minutos. A intensidade da cor foi proporcional ao teor de glúten.

3.2.6. Cálculo do teor de glúten

Os valores de absorvância obtidos das soluções-padrão de gliadina permitiram a construção de uma curva padrão: Absorvância (escala linear – eixo y) versus Concentração de Gliadina (escala logarítmica – eixo x). De acordo com o método, estima-se que 50% do glúten esteja na forma de gliadina.

Para a determinação do teor de glúten nas amostras analisadas, utilizou-se esta curva como referência. Os resultados dela obtidos foram expressos em concentração de gliadina ($\mu\text{g/mL}$), sendo portanto necessária a transformação em % de glúten.

O teor de glúten das amostras dos alimentos analisados com $X \mu\text{g/mL}$ de gliadina foi calculado através da fórmula abaixo.

$$\frac{X \cdot D}{500} \text{ g de glúten em 100g de alimento}$$

onde: $X = \mu\text{g/mL}$ de gliadina obtida através da curva padrão

$D =$ fator de diluição (5)

4. RESULTADOS

4.1. Curva Padrão : Absorbância (405nm) x Conc. de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)

A **Figura 6** proporciona a visualização de uma placa de microtitulação após a reação de ELISA. Através da coloração verde evidencia-se reação positiva quanto a presença de glúten.

Os resultados obtidos dos padrões de gliadina, durante leitura da reação, com a utilização do software Microplate Manager 5.0, estão dispostos na **Tabela 6**. Foram realizadas 3 séries em duplicata.

Com a análise estatística realizada pelo Departamento de Estatística do CEMICAMP (Centro de Pesquisas e Controle das Doenças Materno-Infantis de Campinas) ajustou-se a curva do modelo de regressão para a variável absorbância segundo a concentração de gliadina, e obteve-se também a respectiva equação de regressão (**Tabela 7**). A curva padrão construída e utilizada posteriormente como referência para obtenção das concentrações de gliadina das amostras pode ser observada na **Figura 7**.

Para a determinação do teor de glúten encontrado nas amostras, foi utilizada a fórmula matemática descrita em 3.2.6. Sendo **X** $\mu\text{g/mL}$ a concentração de gliadina presente na amostra, determinou-se o glúten através do cálculo abaixo:

X . D g de glúten em 100g de alimento

500

onde: **X** = $\mu\text{g/mL}$ de gliadina obtida através da curva padrão (Figura 7)

D = fator de diluição (5 : recomendado para valores esperados com teor muito baixo de glúten)

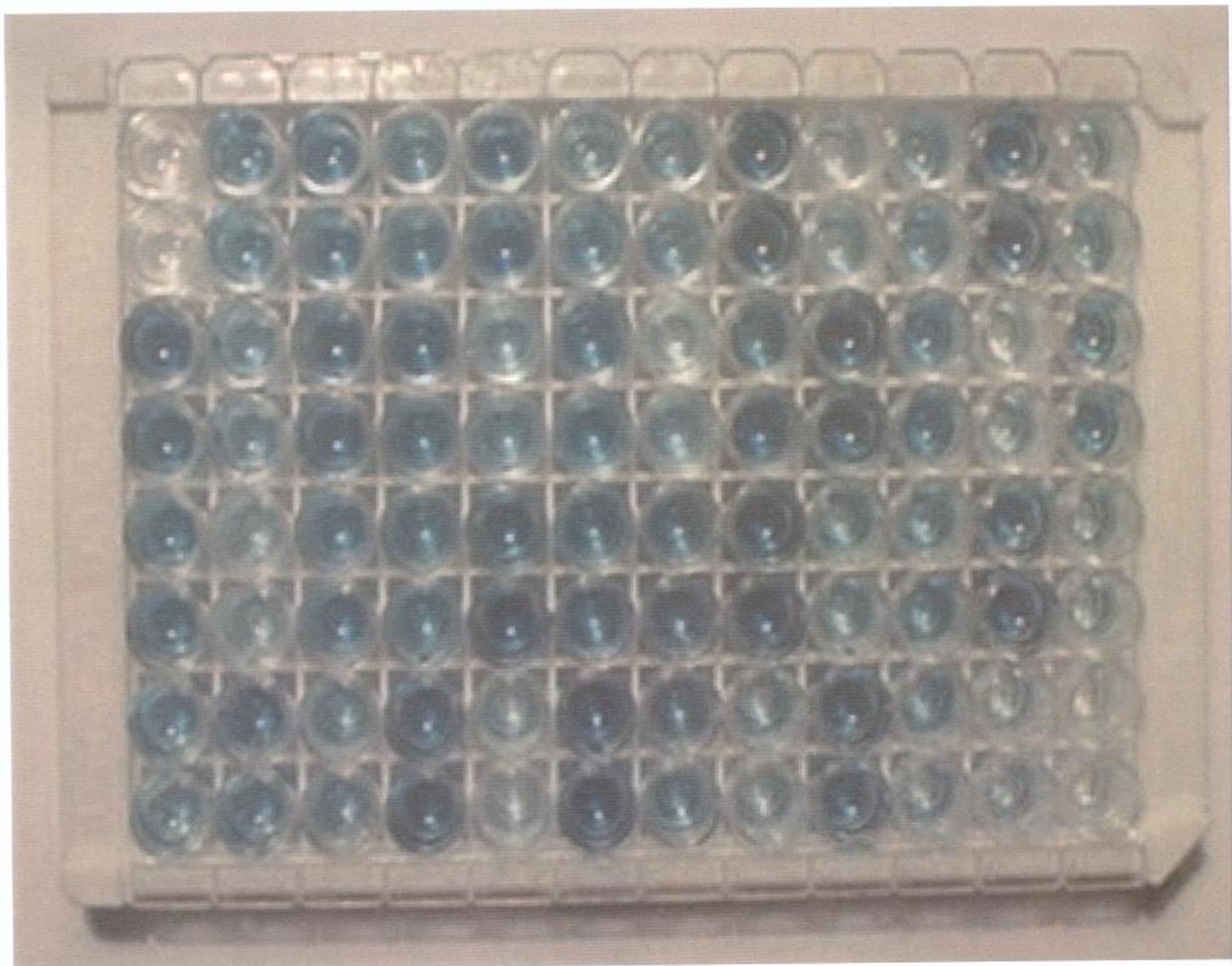


Figura 6 – Reação de ELISA

Resultado positivo quanto à presença de glúten visualizado pela geração da cor verde.

Tabela 6 – Absorbâncias das soluções – padrão de gliadina

Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância (405nm)					
	1ª. Série		2ª. Série		3ª. Série	
5,0	0,580	0,636	0,837	0,821	0,866	0,799
2,5	0,568	0,538	0,683	0,724	0,687	0,684
1,25	0,462	0,319	0,393	0,437	0,476	0,470
0,625	0,191	0,209	0,217	0,207	0,261	0,265
0,313	0,083	0,094	0,097	0,102	0,133	0,111
0,156	0,066	0,051	0,046	0,056	0,068	0,057

Tabela 7 – Ajuste de regressão

Variável	Coef.	EP coef.	P
Ln(concentração)	0,2196	0,0153	<0,001
Constante	0,3966	0,0182	<0,001

r^2 (coef. de determinação) = 0,93

Equação de regressão:

$$\text{Absorbância estimada} = 0,3966 + 0,2196 \cdot \ln(\text{concentração})$$

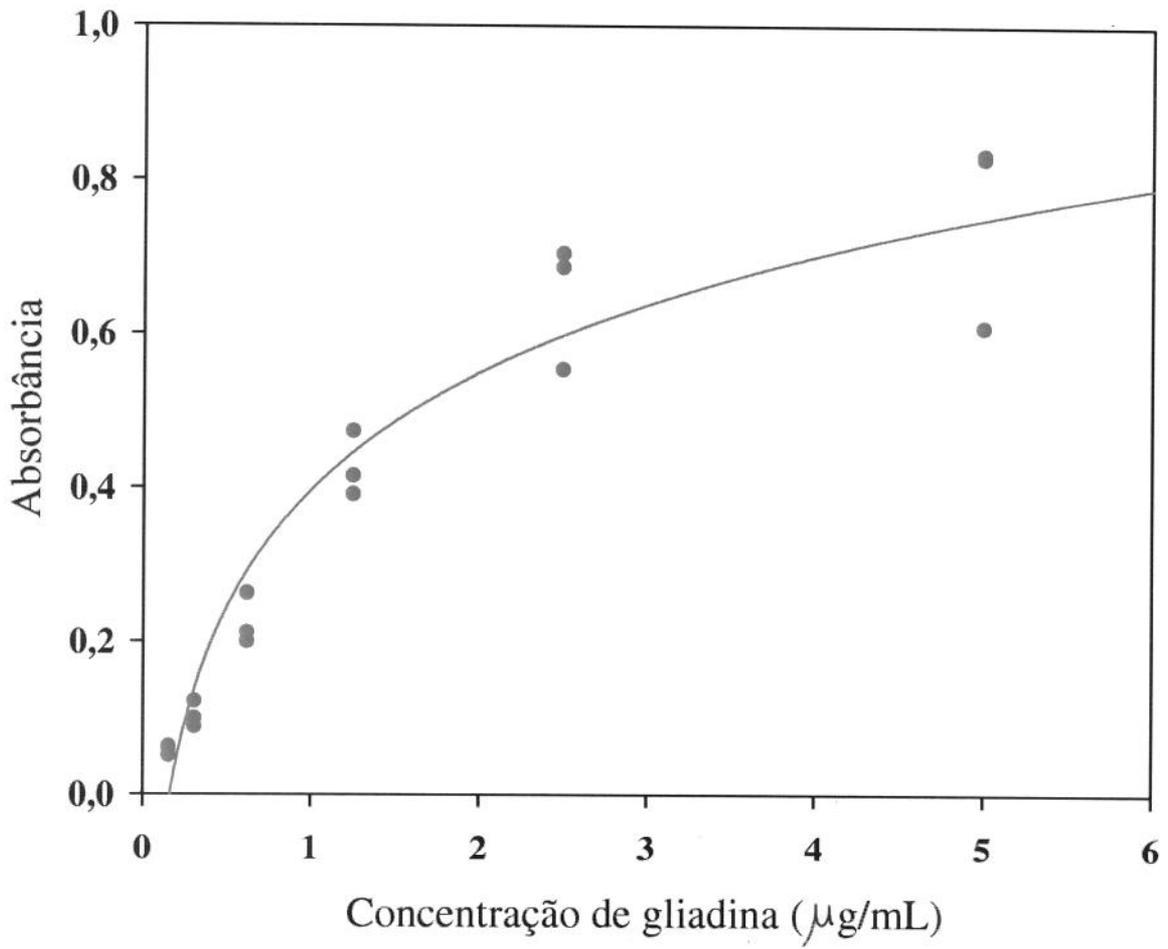


Figura 7 – Dispersão dos valores de absorbância (405nm) segundo concentração de gliadina ($\mu\text{g/mL}$) e curva ajustada

4.2. Determinação da concentração de gliadina e do teor de glúten (%)

Os valores de absorvância provenientes das amostras, assim como a concentração de gliadina e o teor de glúten calculado, estão descritos de acordo com os grupos de alimentos da amostragem (**Tabela 8**- Embutidos, **Tabela 9** – Bebidas, **Tabela 10** – Produtos de Panificação, **Tabela 11** – Condimentos e **Tabela 12** – Desidratados). O Banco de dados foi feito no programa computacional SPSS for Windows (Statistical Package for the Social Sciences, 1993).

Tabela 8 – Teor de glúten nos Embutidos (salsichas e lingüiças)

Nº. Amostra	Absorvância (405nm)	Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	% glúten
1	0,005	0,1681	0,00168
2	0,003	0,1666	0,00167
3	0,008	0,1704	0,00170
4	0,008	0,1704	0,00170
5	0,000	0,1643	0,00164
6	0,001	0,1651	0,00165
7	0,005	0,1681	0,00168
8	0,075	0,2312	0,00231
9	0,166	0,3499	0,00350
10	0,052	0,2082	0,00208
11	0,000	0,1643	0,00164
12	0,010	0,1720	0,00172
13	0,000	0,1643	0,00164
14	0,201	0,4104	0,00410
15	0,000	0,1643	0,00164
16	0,016	0,1767	0,00177
17	0,115	0,2774	0,00227
18	0,008	0,1704	0,00170
19	0,003	0,1666	0,00167
20	0,007	0,1696	0,00170
21	0,008	0,1704	0,00170
22	0,027	0,1858	0,00186

Tabela 9 – Teor de glúten nas Bebidas (cervejas e achocolatados)

Nº. Amostra	Absorbância (405nm)	Concentração de Gliadina (µg/mL)	% glúten
23	0,036	0,1936	0,00194
24	0,165	0,3483	0,00348
25	0,044	0,2008	0,00201
26	0,105	0,2650	0,00265
27	0,241	0,4924	0,00492
28	0,220	0,4475	0,00447
29	0,124	0,2890	0,00289
30	0,029	0,1875	0,00188
31	0,053	0,2092	0,00209
32	0,264	0,5467	0,00547
33	0,009	0,1712	0,00171
34	0,023	0,1825	0,00183
35	0,239	0,4879	0,00488
36	0,223	0,4536	0,00454
37	0,110	0,2711	0,00271
38	0,007	0,1696	0,00170
39	0,168	0,3531	0,00353
40	0,042	0,1989	0,00199
41	0,036	0,1936	0,00194
42	0,087	0,2442	0,00244
43	0,337	0,7623	0,00762
44	0,003	0,1666	0,00167
45	0,132	0,2997	0,00300
46	0,192	0,3939	0,00394
47	0,062	0,2179	0,00218
48	0,005	0,1681	0,00168
49	0,029	0,1875	0,00188
50	0,000	0,1643	0,00164
51	0,000	0,1643	0,00164
52	0,001	0,1651	0,00165
53	0,007	0,1696	0,00170
54	0,016	0,1767	0,00177
55	0,002	0,1658	0,00166
56	0,004	0,1673	0,00167

Tabela 10 – Teor de glúten nos Produtos de panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks)

Nº. Amostra	Absorbância (405nm)	Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	% glúten
57	0,007	0,1696	0,00170
58	0,012	0,1735	0,00174
59	0,000	0,1643	0,00164
60	0,000	0,1643	0,00164
61	0,000	0,1643	0,00164
62	0,000	0,1643	0,00164
63	0,000	0,1643	0,00164
64	0,000	0,1643	0,00164
65	0,027	0,1858	0,00186
66	0,112	0,2736	0,00274
67	0,126	0,2916	0,00292
68	0,010	0,1720	0,00172
69	0,006	0,1689	0,00169
70	0,047	0,2035	0,00204
71	0,336	0,7588	0,00759
72	0,014	0,1751	0,00175
73	0,006	0,1689	0,00169
74	0,000	0,1643	0,00164
75	0,007	0,1696	0,00170
76	0,006	0,1689	0,00169
77	0,011	0,1727	0,00173
78	0,001	0,1651	0,00165
79	0,009	0,1712	0,00171
80	0,000	0,1643	0,00164
81	0,007	0,1696	0,00170
82	0,000	0,1643	0,00164
83	0,147	0,3209	0,00321
84	0,000	0,1643	0,00164
85	0,010	0,1720	0,00172
86	0,0006	0,1689	0,00169
87	0,601	2,5365	0,02536
88	0,000	0,1643	0,00164
89	0,000	0,1643	0,00164
90	0,008	0,1704	0,00170

Tabela 10 – Teor de glúten nos Produtos de panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks) – cont.

Nº. Amostra	Absorbância (405nm)	Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	% glúten
91	0,122	0,2864	0,00286
92	0,000	0,1643	0,00164
93	0,000	0,1643	0,00164
94	0,001	0,1651	0,00165
95	0,015	0,1759	0,00176
96	0,009	0,1712	0,00171
97	0,216	0,4394	0,00439
98	0,015	0,1759	0,00176
99	0,020	0,1800	0,00180
100	0,728	4,5227	0,04523
101	0,641	3,0433	0,03043
102	0,011	0,1727	0,00173
103	0,030	0,1884	0,00188
104	0,190	0,3903	0,00390
105	0,086	0,2431	0,00243
106	0,006	0,1689	0,00169
107	0,215	0,4374	0,00437
108	0,000	0,1643	0,00164
109	0,003	0,1666	0,00167
110	0,000	0,1643	0,00164
111	0,014	0,1751	0,00175
112	0,084	0,2409	0,00241
113	0,009	0,1712	0,00171
114	0,016	0,1767	0,00177
115	0,008	0,1704	0,00170
116	0,003	0,1666	0,00167
117	0,005	0,1681	0,00168
118	0,013	0,1743	0,00174
119	0,020	0,1800	0,00180
120	0,008	0,1704	0,00170
121	0,002	0,1658	0,00166
122	0,005	0,1681	0,00168
123	0,003	0,1666	0,00167
124	0,009	0,1712	0,00171

Tabela 10 – Teor de glúten nos Produtos de panificação (farinhas, cereais, biscoitos e snacks) – cont.

Nº. Amostra	Absorbância (405nm)	Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	% glúten
125	0,003	0,1666	0,00167
126	0,538	1,9039	0,01904
127	0,044	0,2008	0,00201
128	0,007	0,1696	0,00170
129	0,036	0,1936	0,00194
130	0,000	0,1643	0,00164
131	0,006	0,1689	0,00169
132	0,135	0,3038	0,00304
133	0,000	0,1643	0,00164
134	0,021	0,1808	0,00181
135	0,006	0,1689	0,00169
136	0,005	0,1681	0,00168
137	0,011	0,1727	0,00173
138	0,000	0,1643	0,00164
139	0,005	0,1681	0,00168

Tabela 11 – Teor de glúten nos Condimentos (molhos e temperos)

Nº. Amostra	Absorbância (405nm)	Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	% glúten
140	0,007	0,1696	0,00170
141	0,010	0,1720	0,00172
142	0,000	0,1643	0,00164
143	0,043	0,1998	0,00200
144	0,078	0,2344	0,00234
145	0,000	0,1643	0,00164
146	0,194	0,3975	0,00397
147	0,003	0,1666	0,00167
148	0,001	0,1651	0,00165
149	0,002	0,1658	0,00166
150	0,001	0,1651	0,00165
151	0,012	0,1735	0,00174
152	0,005	0,1681	0,00168
153	0,009	0,1712	0,00171
154	0,017	0,1775	0,00178
155	0,028	0,1867	0,00187
156	0,100	0,2591	0,00259
157	0,144	0,3166	0,00317
158	0,000	0,1643	0,00164
159	0,003	0,1666	0,00167
160	0,001	0,1651	0,00165
161	0,400	1,0156	0,01016
162	0,364	0,8620	0,00862
163	0,187	0,3850	0,00385

Tabela 12 – Teor de glúten nos Desidratados (sopas)

Nº. Amostra	Absorbância (405nm)	Concentração de Gliadina ($\mu\text{g/mL}$)	% glúten
164	0,049	0,2054	0,00205
165	0,373	0,8981	0,00898
166	0,075	0,2312	0,00231
167	0,004	0,1673	0,00167
168	0,003	0,1666	0,00167
169	0,250	0,5129	0,00513
170	0,108	0,2687	0,00269
171	0,174	0,3629	0,00363
172	1,121	27,078	0,27078
173	0,006	0,1689	0,00169
174	0,050	0,2063	0,00206
175	0,019	0,1792	0,00179
176	0,234	0,4769	0,00477
177	0,273	0,5696	0,00570

4.3. Análise estatística descritiva exploratória

Com o estudo estatístico realizado através da distribuição de freqüências dos produtos analisados totalizados em 177, pôde-se observar um número maior de elementos no grupo dos produtos de panificação, chegando quase que a 50% dos produtos analisados. Tal fato é claramente explicado, considerando-se que existe disponível no mercado uma ampla gama de produtos farináceos derivados de cereais naturalmente isentos de glúten, alvo do presente trabalho e pertencente ao grupo acima citado . O segundo maior grupo analisado foi o representado pelas bebidas, com quase 20%, que incluiu as cervejas e achocolatados, ambos na sua maioria maltados, portanto de grande interesse para análise tendo em vista que o malte é originado da cevada, tóxica para os celíacos. A distribuição absoluta e relativa dos produtos analisados pode ser visualizada através da **Tabela 13**.

Tabela 13 – Distribuição absoluta e relativa dos produtos segundo grupos

Grupos dos produtos	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Embutidos	22	12,4
Bebidas	34	19,2
Produtos de Panificação	83	46,9
Condimentos	24	13,6
Desidratados	14	7,9
(Total)	(177)	(100.0)

Como mencionado anteriormente, o método **Gluten Lab Kit** sugere uma possível classificação dos produtos analisados quanto ao teor de glúten encontrado. Para que isso ocorra, o *kit* fornece 3 controles com diferentes e conhecidas concentrações de glúten, os quais adota com sendo de alto (C), médio (B) e baixo teor (A). Os valores ficam assim distribuídos: $A < 0,016\%$; $0,016 \leq B < 0,046\%$; $0,10 < C < 0,30\%$.

Levando-se em consideração, que no Brasil ainda não existe classificação estabelecida, resolveu-se adotar a sugerida pelo método para eventual e posterior análise.

Na **Tabela 14** encontra-se disposta a distribuição absoluta e relativa dos produtos quanto a essa possível classificação sugerida. Através dos resultados obtidos, evidencia-se a quase totalidade dos produtos analisados com baixo teor de glúten, apresentando médio teor apenas 2,3% dos produtos e finalmente apenas 1 produto com alto teor de glúten não declarado em sua rotulagem.

Tabela 14 – Distribuição absoluta e relativa do conteúdo de glúten

Classificação do produto*	n	%
A: baixo conteúdo de glúten	172	97,2
B: médio conteúdo de glúten	4	2,3
C: alto conteúdo de glúten	1	0,6
(Total)	(177)	(100,0)

* Classificação segundo *kit* comercial utilizado:

A: baixo; B: médio; C: alto

$A < 0,016\%$; $0,016 \leq B < 0,046\%$; $0,10 < C < 0,30\%$

Para um melhor entendimento dos resultados, procedeu-se à distribuição absoluta e relativa desta mesma classificação do método, segundo os grupos a que pertenciam os produtos analisados. Pela **Tabela 15** observa-se que os elementos com médio teor de glúten pertencem ao grupo dos Produtos de panificação, ficando o único elemento com alto teor de glúten encontrado situado no grupo dos Desidratados. Vale ressaltar, que de acordo com o método, todos os elementos restantes foram classificados como sendo produtos de baixo teor de glúten.

A **Tabela 16** informa o tipo de produto classificado na análise com médio e alto teor de glúten. Como se pode observar o produto sopa pronta desidratada do tipo creme de ervilha (Desidratados) foi o elemento com maior teor de glúten encontrado. Os produtos classificados como sendo de médio teor foram: cereal de arroz, gérmen de trigo, mingau de aveia e broinha de milho (Produtos de panificação).

Tabela 15 – Distribuição absoluta dos grupos dos produtos segundo classificação

Grupos	Classificação do produto		
	A: baixo	B: médio	C: alto
Embutidos	22	0	0
Bebidas	34	0	0
Produtos de Panificação	79	4	0
Condimentos	24	0	0
Desidratados	13	0	1
(Total)	(172)	(4)	(1)

* Classificação segundo *kit* comercial utilizado:

A: baixo; B: médio; C: alto

$A < 0,016\%$; $0,016 \leq B < 0,046\%$; $0,10 < C < 0,30\%$

Tabela 16 – Descrição dos produtos com conteúdo médio e alto de glúten

Grupos	Nome do produto	% glúten	Classificação*
Prod. Panificação	Cereal arroz	0,019	B
Prod. Panificação	Gérmen de trigo	0,025	B
Prod. Panificação	Mingau de aveia	0,030	B
Prod. Panificação	Broinha de milho	0,045	B
Desidratados	Creme de ervilha	0,271	C

* Classificação segundo *kit* comercial utilizado:

B: médio; C: alto

A amostra alvo de análise do presente trabalho envolveu produtos originados de diferentes cereais. Dentre esses, os chamados “naturalmente isentos de glúten”, como por exemplo, o milho e o arroz indicados na alimentação dos celíacos. A **Tabela 17** fornece as frequências dos produtos analisados de acordo com a origem dos mesmos. Os produtos originados do milho foram o de maior representatividade, talvez até pela grande diversidade do emprego deste cereal em uma enorme quantidade de produtos. O segundo maior grupo de produtos analisado envolveu os derivados da cevada (malte), talvez pelas diversas marcas de cerveja disponíveis no mercado. O terceiro maior grupo compreendeu os derivados da mandioca, explicável pela grande disponibilidade de seus subprodutos (farinhas, polvilho) no mercado. Uma grande quantidade de produtos apresentou rotulagem falha, impossibilitando a classificação quanto ao cereal de origem, sendo então criado um grupo de denominação Outros.

Tabela 17 – Distribuição absoluta e relativa dos produtos de acordo com cereal de origem

Cereal e derivados	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Milho*	60	33,9
Arroz *	8	4,5
Mandioca*	24	13,5
Batata*	6	3,4
Cevada (malte)	34	19,2
Aveia	1	0,6
Trigo	1	0,6
Outros (amido modificado)	43	24,3
(Total)	(177)	(100.0)

*Naturalmente isentos de glúten

Quanto aos alimentos analisados, ditos *naturalmente isentos de glúten*, aqui analisados, conforme ilustrado pela **Tabela 18**, verifica-se que totalizaram 98 dos quais 60 eram originados de milho, 24 de mandioca, 8 de arroz e 6 de batata. Embora todos teoricamente se apresentem como isentos de glúten, pôde-se comprovar que apenas 19 desses produtos se mostraram verdadeiramente isentos de acordo com sua natureza.

Tabela 18 – Distribuição absoluta dos produtos comprovadamente isentos de glúten por natureza

Cereal e derivados	Freq.Abs.	Freq. Abs. (isenta)
Milho*	60	8
Arroz *	8	3
Mandioca*	24	7
Batata*	6	1
(Total)	(98)	(19)

*Naturalmente isentos de glúten

Com a estatística descritiva exploratória realizada foi possível obter os valores mínimo e máximo de cada grupo e também a mediana. A mediana representa o valor que divide o grupo pela metade, ou seja, 50% do grupo encontra-se com valores abaixo da mediana e os 50% restantes com valores acima da mediana.

De acordo com a **Tabela 19**, os grupos pouco variaram de acordo com a mediana, entretanto é possível afirmar que cada grupo se comportou de maneira distinta um do outro, pois apresentaram valores máximos muito discrepantes entre si. Embora os valores mínimos tenham sido similares de uma maneira geral, pois cada grupo tinha um elemento com leitura de absorvância nula correspondendo a 0,00164% de glúten, devido à alta sensibilidade do método, os valores máximos

variaram muito entre os grupos permitindo a classificação A, B e C, sugerida pelo método, e já descrita anteriormente.

Tabela 19 – Valores descritivos do conteúdo de glúten nos produtos

Grupos	Valores descritivos (%)					n
	Mínimo	Perc. 25	Mediana	Perc. 75	Máximo	
Embutidos	0,00164	0,00166	0,00170	0,00191	0,00410	22
Bebidas	0,00164	0,00170	0,00200	0,00350	0,00762	34
Prod. Panif.	0,00164	0,00165	0,00170	0,00181	0,04523	83
Condimentos	0,00164	0,00165	0,00172	0,00253	0,01016	24
Desidratados	0,00167	0,00177	0,00250	0,00527	0,27078	14
Geral	0,00164	0,00167	0,00172	0,00242	0,27078	177

Perc.: percentil

5. DISCUSSÃO

Foram analisados 177 produtos industrializados, quanto à presença de glúten, dos quais 83 eram produtos de panificação, 34 bebidas, 24 condimentos, 22 embutidos e 14 desidratados. Supondo que o teor de glúten, se presente, seria em quantidades diminutas, todas as amostras foram consideradas como sendo *gluten-free*, o que fez com que fosse utilizada diluição 1:5 para todas igualmente.

No presente trabalho, um dos objetivos propostos foi verificar a quantidade de glúten presente nos alimentos industrializados, disponíveis no mercado brasileiro, que aqui foi determinada através do *kit* imunoenzimático denominado **Gluten Lab Kit**. Também pretendeu-se classificar os produtos de acordo com o teor de glúten encontrado e sugerir a possibilidade de se propor uma nova classificação.

Nos experimentos realizados, não se observou uma variabilidade muito grande entre os resultados. De acordo com o método, pode-se classificar um produto baseando-se na quantidade de glúten presente. Para essa classificação, adotou-se nomenclatura **A** para produtos com baixo teor de glúten ($<0,016\%$), **B** para aqueles com médio teor ($0,016 \leq B < 0,046\%$) e finalmente **C** para os de alto teor de glúten ($0,10 < C < 0,30\%$). Poucos produtos foram classificados como **B**, apenas um produto como sendo **C**, e a grande maioria restante com classificação **A**. Tal fato nos permitiria, erroneamente, imaginar que os resultados verificados não foram, de certa maneira, significativos uma vez que as quantidades de glúten, determinadas na quase totalidade das amostras, foram muito pequenas.

Dois importantes fatores frente a essa duvidosa suposição devem ser mencionados. O primeiro reside na incapacidade de se quantificar a sensibilidade de um indivíduo, o que significa dizer que apenas a presença da proteína já é capaz de causar sérios danos à mucosa intestinal de alguns pacientes celíacos. O segundo fator de relevada importância refere-se aos alimentos conhecidos como *naturalmente isentos de glúten*.

De acordo com o *Codex Alimentarius*, alimentos *isentos de glúten* seriam aqueles cujo conteúdo total deste complexo protéico (trigo, centeio, cevada, aveia ou variedades híbridas) não devesse exceder 20 ppm base seca. Frente às inúmeras sugestões enviadas por diferentes países e organizações, a Comissão do *Codex Alimentarius* não tem conseguido compatibilizar as polêmicas existentes, não estabelecendo uma norma sobre produtos *gluten-free* até o momento

De acordo com RIBEIRO e GONÇALVES (2001), na dieta do indivíduo com Doença Celíaca o glúten poderá ser substituído pelo milho (farinha de milho, amido de milho, fubá), arroz (farinha de arroz), batata (fécula de batata) e mandioca (farinha de mandioca), incluindo também os grãos (feijão, lentilha, soja, ervilha, grão-de-bico). Os alimentos considerados *naturalmente isentos de glúten*, nesse presente estudo, totalizaram 98 dos quais 60 eram originados de milho, 24 de mandioca, 8 de arroz e 6 de batata. Teoricamente todos deveriam se apresentar isentos de glúten, o que na realidade acabou não sendo confirmado analiticamente. Apenas 19 desses produtos (19,4%) se mostraram verdadeiramente isentos de acordo com sua natureza.

A leitura de absorvância nula, apresentada por alguns alimentos, após o cálculo derivado da curva-padrão, correspondeu ao teor mínimo de 0,00164% de glúten. Isto ocorreu devido à alta sensibilidade do método, que pode acabar por comprometer alguns resultados revelando-os falso-positivos. Os alimentos que

apresentaram absorvência nula foram então considerados *isentos de glúten* e totalizaram 28, ou seja 84% das amostras analisadas no presente trabalho resultaram em reações positivas quanto à presença de glúten, sem tê-lo mencionado em sua composição.

Dentre os alimentos anteriormente classificados como sendo de médio teor de glúten (**B**), encontram-se alimentos originados de milho e arroz, sendo que o único com alto teor (**C**), era à base de ervilha. Tal verificação se torna ainda mais agravada, pelo fato do alimento originado de arroz ser destinado a crianças de primeira infância, população amplamente divulgada como a mais afetada pela DC. Ainda com relação a esse produto, vale mencionar que foi verificada a advertência "contém traços de glúten" na sua rotulagem, fato que despertou certa curiosidade, uma vez que inexistente esta terminologia na legislação e não há definição dos valores que seriam considerados como os traços acima referidos. Frente à subjetividade e seriedade desta questão fazem-se necessárias urgentes providências. Quanto ao produto proveniente de ervilha, tratava-se de um creme desidratado, de marca conhecida no mercado, cuja rotulagem sequer mencionava a advertência "contém glúten" ou outro componente, descrito na formulação, responsável pela presença da proteína indesejável aos celíacos.

A garantia de uma dieta isenta de glúten requer cuidadosa verificação dos rótulos de todos os produtos. Deve-se chamar a atenção para alimentos que possam estar "contaminados" pelo glúten (OLIVEIRA, 2001). Embora a Lei federal nº. 8.543, que estabelece a indicação da advertência nos rótulos dos alimentos quanto à presença de glúten, tenha sido promulgada há quase 10 anos, não é rara a ocorrência do descumprimento da mesma. Um ponto importante a ser ressaltado consiste na falta de obrigatoriedade das indústrias alimentícias em avisar aos consumidores através da rotulagem de seus produtos quando da ausência do

glúten, o que em muito auxiliaria os celíacos no momento de escolha e compra de seus alimentos.

A maior conscientização dos consumidores brasileiros tem transformado o processo de rotulagem numa importante linha de comunicação entre as empresas produtoras de alimentos e os consumidores, bem como em um instrumento que permite às autoridades sanitárias a retirada do mercado de produto considerado impróprio para consumo, como também aos consumidores a disponibilização e o acesso a produtos claramente definidos e rotulados (NUTTI, 1999). Talvez tenha sido esta a razão de alterações na rotulagem de alguns alimentos, terem sido comprovadas durante o presente trabalho. No momento da elaboração da listagem completa dos produtos a serem analisados, muitos apresentaram rotulagem falha. Podia-se por exemplo, encontrar farinha de trigo claramente descrita na formulação, sem a advertência "contém glúten" na embalagem, e no momento da compra desses produtos, as rotulagens já haviam sido modificadas e encontravam-se adequadas à legislação, advertindo o consumidor quanto à presença da proteína.

Um fato interessante que merece ser mencionado consiste na divergência entre os ingredientes contidos em alguns produtos e a presença da advertência "contém glúten". Embora não tenham sido analisados os produtos, cuja rotulagem já advertia quanto à presença de glúten, durante a elaboração da listagem completa dos produtos a serem analisados foi possível constatar produtos rotulados quanto à presença de glúten, embora na sua formulação não houvesse nenhum ingrediente que a justificasse. Portanto, mais um importante indício da real necessidade dos órgãos competentes estarem realizando periódicas inspeções visando maior informação aos celíacos.

Na literatura inglesa é adotado o conceito *food security*, para a disponibilidade quantitativa e o acesso das pessoas aos alimentos e o termo *food safety*, que se refere à qualidade do alimento (SPERS, 1993). Para expressar a importância da qualidade do alimento, utiliza-se o termo "alimento seguro" sendo este "aquele que deve apresentar o mínimo risco de doenças para o consumidor" (FAO, 1992). Esses riscos podem ser tanto microrganismos patogênicos ou toxinas, como resíduos de substâncias químicas provenientes da produção ou processamento do alimento, incluindo até substâncias alergênicas para determinados indivíduos. No Brasil, o termo segurança alimentar tem sido empregado com o significado de *food security* e/ou *food safety*. O significado de segurança alimentar nesta pesquisa é o de *food safety*.

Quanto à aveia, em trabalhos efetuados anteriormente enfatizou-se quase sempre a toxicidade do cereal aos celíacos, exceto nas pesquisas de JANATUINEN et al. (1995) e SCHMITZ (1997) que defenderam a idéia de os pacientes adotarem em suas dietas quantidades moderadas deste cereal, sem qualquer dano à mucosa intestinal. Esses pesquisadores acabaram recebendo críticas severas, não somente devido à conclusão prematura de seus trabalhos, mas também pelo fato, já conhecido, da impossibilidade de se quantificar a sensibilidade de cada indivíduo.

No presente trabalho, apenas um produto derivado deste cereal e denominado mingau de aveia foi analisado. Sua rotulagem não fazia sequer menção quanto à possibilidade da existência de glúten. O resultado obtido revelou a existência da proteína na proporção de 0,03% o que, segundo o método, permitiu sua classificação como produto com teor médio (**B**) de glúten. Também na Suécia, ao analisar produtos comercializados como *gluten-free*, a pesquisadora YMAN (1999) detectou glúten em farinhas de aveia, embora em quantidades inferiores ao desta pesquisa (0,00339%).

Um fator importante a ser ressaltado consiste numa deficiência do *kit* utilizado na análise. De acordo com a metodologia, não é possível se detectar aveia, o que nos permite supor que alguma outra proteína não derivada da aveia faça parte da formulação deste alimento destinado à população infantil.

O fato de a reação ter sido positiva quanto à presença de glúten poderia ser indicativo de que houve contaminação na linha de processamento do produto. Neste sentido, faz-se oportuna a execução de mais experimentos, dando ênfase à possibilidade de interferência de outra substância, não obrigatoriamente o trigo, e que de forma cruzada, estivesse reagindo com o anticorpo da placa de reação. De acordo com ROCHA (2001), não é rara a ocorrência de contaminação nos moinhos de milho que também trabalham com trigo. Na região sul do país, após preparo de polenta com fubá de marca conhecida, muitos celíacos manifestaram complicações impostas pela Doença Celíaca. No presente trabalho das 6 marcas de fubá analisadas, 2 se mostraram isentas de glúten, 3 com quantidades extremamente diminutas e 1 com 0,003% de glúten.

Em relação aos 22 embutidos analisados, os resultados obtidos revelaram que apenas 4 não continham de glúten, o que vêm de encontro ao alerta de OLIVEIRA (2001), quanto à possibilidade da contaminação das lingüiças, salsichas, salames e presuntos de modo geral. Reforçando a mesma idéia, o grupo de produtos desidratados, que compreendeu as sopas prontas, não apresentou nenhum produto totalmente isento de glúten contrariando sua rotulagem.

Com base nos resultados apresentados e discutidos anteriormente, torna-se necessário ressaltar a importância da implementação, por parte dos produtores e comerciantes de alimentos, dos procedimentos de controle de qualidade, principalmente o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP – *Hazard Analysis Critical Control Point*). Essa metodologia aplicada

principalmente em processos de industrialização de alimentos, permite determinar, avaliar e controlar os pontos críticos dos processos de produção. Assim sendo, a contaminação de produtos *naturalmente isentos de glúten* poderia ser evitada.

Considerando a baixa variabilidade dos resultados (**Tabela 19**), após análise estatística exploratória, somada aos resultados ilustrados na **Tabela 14**, que refletem o comportamento dos produtos brasileiros, onde a quase totalidade dos alimentos analisados classificou-se na mesma categoria, faz-se oportuno sugerir diferentes valores para uma nova classificação, distinta da proposta pelo método. Nesta nova classificação seriam adotados pontos de corte mais baixos, visando uma melhor distribuição dos resultados.

Sabe-se da real necessidade de se evitar o consumo de bebidas maltadas, como é o caso do uísque e da cerveja, pelos celíacos. Entretanto, pela classificação proposta pelo método, as bebidas aqui analisadas foram consideradas como de baixo teor de glúten, podendo levar o consumidor celíaco a incorrer num erro extremamente prejudicial, fato que só vem reforçar a possibilidade da proposta anteriormente descrita.

A realização desta pesquisa se fez necessária devido à ausência de trabalhos que discutam sobre os teores de glúten em produtos brasileiros. Ainda, de acordo com a ACELBRA, faltam laboratórios que façam a análise desses produtos para saber se realmente estão isentos de glúten. Aliada à destacada importância dessas informações para a saúde pública, destaca-se a fundamental necessidade de serviços de inspeção e fornecimento de subsídios aos órgãos responsáveis pela Política Nacional de Segurança Alimentar.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos com o ensaio imunoenzimático adotado neste estudo e com base nos comentários feitos nas secções anteriores, pode-se concluir que:

1. Não foi constatada uma grande variabilidade entre os resultados obtidos com a utilização do ensaio imunoenzimático, onde após análise estatística descritiva revelou-se que 97,2% dos produtos analisados apresentaram níveis de glúten inferiores a 0,016%.
2. Com relação aos alimentos *naturalmente isentos de glúten* analisados no presente trabalho, apenas 19,4% das amostras se apresentaram isentas de glúten de acordo com a sua natureza, de forma a se confirmar uma possível contaminação durante etapa de processamento do alimento.
3. Dentre os alimentos que apresentaram teores entre 0,016 e 0,046% de glúten, pôde-se evidenciar um produto derivado de arroz destinado à alimentação infantil, e ainda um proveniente de milho.
4. O produto com maior teor de glúten encontrado (0,271%) foi um creme de ervilhas desidratado. De acordo com a literatura, a ervilha consiste numa alternativa para os celíacos, devido sua isenção natural da proteína.
5. Quanto à aveia, apenas um produto derivado deste cereal foi aqui analisado e denominado mingau de aveia. O resultado obtido revelou a existência da indesejável proteína na proporção de 0,030%. Como o método de análise empregado não detecta aveia, ficou evidente a contaminação do produto, por parte de outro cereal tóxico aos celíacos, que não a aveia.

6. Dos 22 embutidos analisados, de acordo com os resultados obtidos, apenas 4 amostras não apresentaram a proteína indesejável aos celíacos, vindo de encontro novamente à possibilidade de contaminação por glúten na linha de processamento.
7. Em concordância com outros trabalhos, baixíssimos níveis de glúten foram detectados nas bebidas maltadas aqui analisadas. O que não quer dizer que se deva desprezar estes resultados, uma vez que apenas a presença da indesejável proteína já é capaz de desencadear manifestações em alguns indivíduos.
8. Uma nova classificação pode ser sugerida com diferentes valores dos propostos pelo método comercial, com o intuito de se melhor distribuir os resultados. Seriam adotados novos e inferiores pontos de corte.
9. Outras metodologias (eletroforese, por exemplo) podem ser utilizadas na tentativa de se descobrir qual o agente responsável pela presença de glúten, proveniente de contaminação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACELBRA. A doença celíaca de hoje. Disponível em : <[http: www.ancelbra.org.br](http://www.ancelbra.org.br)>. Acesso em: 14 ago. 2000.

ALLMANN, M.; CANDRIAN, U.; HÖFELEIN, C.; LÜTHY, J. Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.**, n.196, p.248-51, 1993.

ANAND, B. S.; PIRIS, J.; TRUELOVE, S. C. The role of various cereals in celiac disease. **Quart. J. Med.**, v.47, p. 101-10, 1978.

ASHER, H.; KRANTZ, I.; KRISTIANSSON, B. Increasing incidence of coeliac disease in Sweden. **Arch. Dis. Child.**, v.66, p.608-11, 1991.

ASHER, H.; KRISTIANSSON, B. Childhood coeliac disease in Sweden. **Lancet**, v.344, p.340-1, 1994.

AUGUSTO, A.L.P. Terapia nutricional. São Paulo: Atheneu, 1995. 260p.

AURICCHIO, S. & TRONCONE, R. History of coeliac disease. **Eur. J. Pediatr.**, v.155, p.427-8, 1996.

AYOB, M. K.; RITTENBURG, J.; ALLEN, J. C.; SMITH, C. J. Development of a rapid enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for gliadin determination in food. **Food Hydrocolloids**, v.2, p. 39-49, 1988.

BALDO, B. A.; WRIGLEY, C. W. Allergies to cereals. **Advances in Cereal Science and Technology**, St. Paul, v.6, p.289-356, 1984.

BARBIERI, D. Doença celíaca. In: MARCONDES, E. **Pediatria Básica**. São Paulo: 8ª.ed, 1991. p.1186-1191.

BARBIERI, D. Doença Celíaca. In: **Gastroenterologia Pediátrica**, p. 176-188, 1996.

BERGE-HENEGOUWEN, G.P. & MULDER, C.J.J. Pioneer in the gluten free diet: Wille-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. **Gut**, n.34, p.1473-5, 1993.

BRANSKI, D.; SHINE, M. Oats in celiac disease. **N. Engl. J. Med.**, v.334, n.13, p.865-6, 1996.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº. 8543, 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 República Federativa do Brasil**, Brasília, n.247, p.18011, 24 de dezembro de 1992.

CAMAFEITA, E.; ALFONSO, P.; MOTHES, T.; MÉNDEZ, E. MALDI-TOF mass spectrometric micro-analysis: the first non-immunological alternative attempt to quantify gluten gliadins in food samples. **J. Mass Spectrom.**, n.32, p.940-7, 1997.

CAMPBELL, J. A. Diet therapy of celiac disease and dermatitis herpetiformis. **World Rev. Nutr. Diet**, n.51, p.198, 1987.

CAPERUTO, L. C. Desenvolvimento e avaliação de massa tipo macarrão à base de milho e quinoa para celíacos. Campinas, 1999. 116p. Tese (Mestre em Ciência da Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

CATALABUIG, M.; TORREGROSSA, R.; POLO, P.; VAREA, V. Serological markers and coeliac disease: a new diagnostical approach? **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.10, n.4, p.435-42, 1990.

CATALDO, F.; VENTURA, A.; LAZZARI, R.; BALLI, F., NASSIMBERI, G.; MARINO, V. Antiendomysium antibodies and coeliac disease: solved and unsolved questions. Na Italian multicenter study. **Acta Paediatr.**, n.84, p.1125-31, 1995.

CATASSI, C.; GIORGI, P. L. Beyond the Iceberg: The present and future of coeliac screening (Preface). **Acta Paediatr.**, v.85, n.412, 1996.

CATASSI, C.; RATSCH, I-M.; FABIANI, E.; ROSSINI, M.; BORDICCHIA, F.; CANDELA, F.; COPPA, G. V.; GIORGI, P. L. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. **Lancet**,v.343, p. 200-3, 1994.

CATASSI, C.; RATSCH, I-M.; FABIANI, E.; RICCI, S.; BORDICCHIA, F.; PIERDOMENICO, R. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in 5280 Italian students screened by antigliadin antibodies. **Acta Paediatr.**, v.84, p. 572-6, 1995.

CATASSI, C.; RATSCH, I-M.; FABIANI, E.; COPPA, G. V.; GIORGI, P. L.; PIERDOMENICO, R.; ALESSANDRINI, S.; IWANEJKO, G.; DOMENICI, R.; MEI, E.; MIANO, A.; MARANI, M.; BOTTARO, G.; SPINA, M.; DOTTI, M.; MONTANELLI, A.; BARBATO, M.; VIOLA, F.; LAZZARI, R.; VALLINI, M.; GUARISO, G.; PLEBANI, M.; CATALDO, F.; TRAVERSO, G.; UGHI, C.; CHIARAVALLOTI, M.; BALDASSARRE, M.;

SCARCELLA, P.; BASCIETTO, F.; CEGLIE, L.; VALENTI, A.; PAOLUCCI, P.; CARADONNA, M.; BRAVI, E.; VENTURA, A. The celiac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for celiac disease in school-age subjects. **Acta Paediatr.**, v.85(412), p. 29-35, 1996.

CICLITIRA, P.J.; EVANS, D. J.; FAGG, N. L.K.; LENNOX, E. S.; DOWLING, R. H. Clinical testing of gliadin fraction in celiac patients. **Clin. Sci.**, n.66, p.357-364, 1984.

CICLITIRA, P.J.; ELLIS, H.J. Investigation of cereal toxicity in celiac disease. **Postgraduate Medical Journal**, n.63, p.767-775, 1987.

CICLITIRA, P. J.; LENOX, E. S. A radioimmunoassay for α and β gliadins. **Clin. Sci.**, v.64, p. 655-659, 1983.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION : Proposed draft standard for gluten free foods, 1996.

COLLIN, P.; SALMI, J.; HALLSTRÖM, O. High frequency of coeliac disease in adult patients with type-I diabetes. **Scand. J, Gastroenterol.**, v.24, p.81, 1989.

COOKE, W. T.; HOLMES, G. K. T. **Coeliac disease**. Edinburgh: Churchill-Livingstone, p.11-71, 1984.

COOPER, B. T.; HOLMES, G. K. T.; FERGUSON, R.; COOKE, W. T. Celiac disease and malignancy. **Medicine**, v.59, p.249-61, 1980.

CORNELL, H. J. Amino acid composition of peptides remaining after *in vitro* digestion of a gliadin sub-fraction with duodenal mucosa from patients with coeliac disease. **Clin. Chim. Acta.**, n.176, p.279, 1988.

CUARTERO, B. G.; SANTAMARÍA, M. J.; QUIRÓS, M. D. A.; GÓMEZ, J. M.; PORTILLA, M. R.; GINER, C.P.; PÉREZ, B.; VICARIO, J. L.; GARCÍA NOVO, M. D. Dermatitis herpetiforme versus celiac disease. **An. Esp. Pediatr.**, v.37, n.4, p.307-10, 1992.

DEVERY, J.M.; LA BROOY, J. T.; KRILLIS, S.; DAVIDSON, G. P.; SKERRIT, J. H. Anti-gliadin antibody specificity for gluten-derived peptides toxic to celiac patients. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v.76, n.3, p.384-390, 1989.

DISSANAYAKE, A.S.; TRUELOVE, S.C.; WHITEHEAD, R. Lack of harmful effect of oats on small – intestinal mucosa in celiac disease. **British Med. J.**, v.4, p.189-91, 1974.

DUTCOSKI, S.D.; FUGMANN, H. A. J.; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de tecnologia para fabricação de massas alimentícias isentas de glúten, tipo espaguete pré-cozido. **B. CEPPA**, Curitiba, v.14, n.1, p.111-130, 1996.

ESCOUTO, L. F. S. Desenvolvimento de produto panificável a base de produtos de mandioca visando os hipersensíveis ao glúten. Botucatu, 2000. 145p. Tese (Mestre em Agronomia – Área de concentração em Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

FABIANI, E.; CATASSI, C.; VILLARI, A.; GISMONDI, P.; PIERDOMENICO, R.; RÄTSCH, I. M.; COPPA, G. V.; GIORGI, P. L. Dietary compliance in screening-detected celiac disease adolescents. **Acta Paediatr.**,v.85, n.412, p.65-7, 1996.

FALCHUK, Z.M. Gluten-sensitive enteropathy. **Clinics in Gastroenterology**, London, v.12, n.2, p.475-494, 1983.

FAO. **Conférence Internationale sur la Nutrition: Les grands enjeux des stratégies nutritionnelles. Protection du consommateur par l'amélioration de la qualité et la sécurité des produits alimentaires.** Document thématique nº.2, Rome, 51p, 1992.

FASANO, A. Where have all the American celiacs gone? **Acta Paediatr.**, v.85, n.412, p.20-4, 1996.

FASANO, A.; HORVATH, K. Celiac disease and gluten-free diet support page. Disponível em: <<http://www.celiac.com/index.htm>>. Acesso em: 29 maio 2000.

FEIGHERY, C. Coeliac disease. **Br.Med. J.**, v.319, p.236-39, 1999.

FERGUSON, A.; ARRANZ, E.; O'MAHONY, S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease – active, silent, latent, potencial. **Gut**, n.34, p.150-1, 1993

FERGUSON, A.; KINGSTONE, K. celiac disease and malignancies. **Acta Paediatr.**, v.85, n.412, p. 78-81, 1996.

FERRARI, M. C. Estudos da viabilidade sobre avaliação de qualidade de farinhas de trigo através de medidas das propriedades do glúten. Campinas, 1998. 111p. Tese

(Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Alimentos.

FREEDMAN, A. R.; GALFRE, G.; GAL, E.; ELLIS, H. J.; CICLITIRA, P. J. ELISA to quantitate wheat gliadin contamination of gluten-free foods. **J. Immunol. Methods**, v.98, p.123-127, 1987.

FREITAS, I. N. Doença celíaca no adulto: casuística de um centro de referência. São Paulo, 2000. 93p. Tese (Mestre em Medicina) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

FRITSCHY, F.; WINDERMAN, H.; BAUMGARTNER, E. Quantitative determination of wheat gliadins in foods by enzyme-linked immunosorbent assay. **Z. Lebens. Unters. Forsch.**, v.181, p.379-385, 1985.

GALEAZZI, M. A. Segurança Alimentar. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/projeto/index.html>>. Acesso em: 28 agosto 2001.

GALE, L.; WIMALARATNA, H.; BRODODIHARJO, A.; DUGGAN, J. M. Down's syndrome is strongly associated with coeliac disease. **Gut**, n.40, p.492-6, 1997.

GRODZINSKY, E.; FRANZEN, L.; HED, J.; STROM, M. High prevalence of coeliac disease in healthy adults revealed by antigliadin antibodies. **Ann. Allergy**, v.69, p. 66-70, 1992.

HOLMES, G.K.T. Non-malignant complications of coeliac disease. **Acta Paediatr.**, v.85, n.412, p.68-75, 1996.

- HOLMES, G. K. T. Doença celíaca e malignidade. **Anais Nestlé**, v.51, p.26-34, 1995.
- HOLUB, S. Development of gluten free extruded bakery products. **Ernaehrungsforschung**, v.14, p.208-9, 1990.
- HOWDLE, P. D.; BLAIR ZAJDEL, M. E.; SMART, C. J.; TREJDOSIEWICZ, L. K.; BLAIR, G. E.; LOSOWKY, M. S. Lack of a serologic response to an E1b protein of adenovirus 12 in celiac disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.24, p.282-6, 1989.
- JANATUINEN, E. K.; PIKKARAINEN, P. H.; KEMPPAINEN, T. A. A comparison of diets with and without oats in adults with coeliac disease. **New England Journal Med.**, v.333, n.16, p. 1033-7, 1995.
- KACZKOWSKY, J.; KUROWSKA, E.; MOSKAL, M. Immunological method of wheat gluten detection in food products designed for celiac disease patients. **Acta Aliment. Polon.**, v.11, p.177-183, 1985.
- KAGNOFF, M. F.; AUSTIN, R. K.; HUBERT, J. J.; BERNARDIN, J. E.; KASARDA, D. D. Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. **J. Exp. Med.**, v.160, p.1544-57, 1984.
- KAGNOFF, M. F.; PATERSON, Y. J.; KUMAR, P.J. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. **Gut**, n.28, p.995-1001, 1987.
- KASARDA, D. D. The relationship of wheat proteins to celiac disease. **Cereal Foods World**, St. Paul, v.23, n.5, p.240-244, 262, 1978.

- KASARDA, D. D. Toxic proteins and peptides in celiac disease: relations to cereal genetics. In: WALCHER, D. & KRETCHMER, N. **Food, nutrition and evolution: food as an environmental factor in the genesis of human variability.** New York: Masson Publishing, 1981. p.201-216.
- KOKKE, F. T.; VAN-ELBURG, R.M.; VAN-OVERBEEK, F. M.; HEYMANS, H. S. A new biscuit free of cow's milk, chicken egg protein, lactose and gluten for children with food hypersensitivity. **Ned. Tijdschr. Geneesk. D.**, v.17, p.2549-52, 1994.
- KOTZE, L.M.S. **Receitas para pessoas com sensibilidade ao glúten**, p.1-5, Ed. Revinter, Rio de Janeiro, 1996.
- LOGAN, R. F. A.; RIFKIND, E. A.; TURNER, I. D.; FERGUSON, A. Mortality in celiac disease. **Gastroenterology**, v.47, p.265-71, 1989.
- McGOVERN, T.; BENNION, S. D. Palmar purpura: an atypical presentation of childhood dermatitis herpetiformis. **Pediatr. Dermatol.**, v.4, p.319-322, 1994.
- MÄKI, M.; LAHDEAHO, M-L.; HALLSTRÖM, O.; VIANDER, M.; VISAKORPI, J. K. Postpubertal gluten challenge in coeliac disease. **Arch. Dis. Child.**, v.64, p.604-7, 1989.
- MÄKI, M.; HOLM, K.; KOSKIMIES, S.; HALLSTRÖM, O.; VISAKORPI, J.K. Normal small bowel biopsy followed by coeliac disease. **Arch. Dis. Child.**, v.65, p.1137-41, 1990.
- MAYER, M.; GRECO, L.; TRONCONE, R.; AURICCHIO, S.; MARSH, M. N. Compliance of adolescents with coeliac disease with a gluten-free diet. **Gut**, v.32, p.881-5, 1991.

MAZZEETTI DI PIETRALATA, M.; GIORGETTI, G. M.; GREGORI, M. Subclinical coeliac disease. **Italian Journal of Gastroenterology**, v.24, p. 352-4, 1992.

MÉNDEZ, E.; LÓPEZ, E.; REYES, E.; VALDÉS, I.; LLORENTE, M.; IGLESIAS, J. Massive analysis of food samples by a sandwich ELISA based on a unique monoclonal antibody. **Proceedings of the 14th Meeting of the Working Group on Prolamins Analysis and Toxicity**, November 1999, p.53-61.

NORDLEE, J. A.; TAYLOR, S. L. Immunological analysis of food allergens and other food proteins. **Food Technology**, v.49, n.2, p.129-132, 1995.

NUTTI, M. R. Apresentação. In: RODRIGUES, H.R. **Manual de Rotulagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1999. 39p.

OLIVEIRA, C. S. Doença celíaca. Disponível em: <http://www.fugesp.org.br/nutricsaude5_2htm>. Acesso em: 09 agosto 2001.

PAVELEY, W.F. From Arateus to Crosby: a history of coeliac disease. **Brit. Med. J.**, v.297, n.6664, p.1646-9, 1989.

PENNA, F. J.; MOTA, J. A. C.; FAGUNDES NETO, U. Doença celíaca. In: Fagundes Neto, U.; Wheba J.; Penna F. J. **Gastroenterologia Pediátrica**. 2 ed, Rio de Janeiro, Medsi, p. 227-235, 1991.

PIZZINATTO, A.; SREBERNICH, S.M. A doença celíaca e a ingestão de produtos contendo trigo. **R. Nutr. PUCCAMP**, Campinas, v.5, n.1, p.9-27, 1992.

POLANCO, I. Enfermedad celíaca y nutrición. **Acta Pediatr. Esp.**, n.46, p.370-4, 1988.

POLANCO, I. Enfermidade Celíaca. **Pediatria Integral**, v.1(2), p. 124-32, 1995.

POLANCO, I.; JASINNSKY, C.; DE ROSA, S. Coeliac disease in Argentina and Uruguay. **Dyn. Nutr. Res.**, v.2, p. 57, 1992.

POLANCO, I.; PRIETO, G.; MOLINA, M.; CARRASCO, S.; LAMA, R. Nutritional management of coeliac disease. **Pediátrika**, v.16, n.9, p.386-9, 1996.

RIBEIRO, E. M.; GONÇALVES, L. M. Aspectos imunológicos da doença celíaca. **Pediatria Moderna**, v.37, n.8, p.375-383, 2001.

ROCHA, P. H. Dicas sobre a dieta isenta de glúten. Disponível em: <<http://clientes.netcon.com.br/~phrocha/dicas.htm>>. Acesso em: 22 agosto 2001.

SALGADO, J. M. Tratamento dietético para pacientes celíacos. Disponível em: <<http://www.fugesp.org.br/nutricsaude55.htm>>. Acesso em: 29 maio 2000.

SAVILAHTI, E.; PERKKIÖ, M.; KALIMO, K.; VIANDER, M.; VAINIO, E.; REUNALA, T. IgA antigliadin antibodies: a marker of mucosal damage in childhood coeliac disease. **Lancet**, p.320-22, 1983.

SCHMITZ, J. Lack of oats toxicity in celiac disease. **British Medical Journal**, v.314, n.18, p.159-60, 1997.

SDEPANIAN, V. L.; MORAIS, B.; FAGUNDES NETO, U. Doença celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. **The Elect. J. Ped. Gast. Nut. Liv. Dis.**, v.2, n.1, March, 1998.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos : propriedades – degradações – modificações.** São Paulo. 1996. 517p.

SILVA, M.M.S. **Convivendo com a doença celíaca.** Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 1995. 183p.

SILVA, M. Tratamento Dietético da Doença Celíaca. In: **Gastroenterologia Pediátrica**, p.189-191, 1996.

SIMILÄ, S; KOKKOMEN, J. Coexistence of celiac and down syndrome. **Am. J. Mont. Retard.**, v.95, p.120-2, 1990.

SIPAHI, A.; FREITAS, I. N.; LORDELLO, M.L.L.; DAMIÃO, A. O. M. C. Doença celíaca no adulto. **Revista Brasileira de Medicina**, v.57, n.11, p.1254-1264, 2000.

SKERRITT, J.; DEVERY, J.; HILL, A. Gluten Intolerance : Chemistry, Celiac - Toxicity, and Detection of Prolamins in Foods. **Cereal Foods World**, v.35, p.638-644, 1990.

SKERRIT, J.; HILL, A. Determination of gluten in foods using a monoclonal antibody-based competition enzyme-immunoassay. **Food Agric Immunol.**, v.2, p.21-35, 1990.

SKERRITT, J.; HILL, A. Enzyme Immunoassay for Determination of Gluten in Foods: Collaborative Study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v.74, n.2, p.257-264, 1991.

SKERRIT, J.H.; SMITH, R.A. A sensitive monoclonal antibody based test for gluten detection: studies with cooked or processed foods. **J. Sci. Food Agric.**, n.36, p.980-6, 1985.

SOLLID, L. M. HLA genes and T cells in celiac disease. **Pediátrika**, v.16, n.390, p.51-5, 1996.

SOLLID, L. M.; THORSBY, E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. **Gastroenterology**, v.105, p.910-22, 1993.

SORELL, L.; LÓPEZ, J. A.; VALDÉS, I.; ALFONSO, P.; CAMAFEITA, E.; ACEVEDO, B.; CHIRDO, F.; GAVILONDO, J.; MÉNDEZ, E. An innovative sandwich ELISA system based on an antibody cocktail for gluten analysis. **FEBS Letters**, n.439, p.46-50, 1998.

SPERS, E. E. A segurança ao longo da cadeia agroalimentar. **Conjuntura Alimentos**, São Paulo, v.5, n.1, p.18-26, 1993.

SPSS for Windows (Statistical Package for the Social Sciences), SPSS for Windows: version 6.0. Chicago, SPSS Inc., 1993.

TRIER, J. S. Celiac sprue. **New Engl. J. Med.**, v.325, p.1709, 1991.

TRONCONE, R.; GRECO, L.; AURICCHIO, S. Gluten - sensitive enteropathy. **Pediatric Clin. North. Am.**, v.43, n.2, p. 355-373, 1996.

VISAKORPI, J. K. O diagnóstico da doença celíaca. **Anais Nestlé**, v.51, p.1-8, 1995.

WALKER-SMITH, J.A. Celiac Disease. In: Walker W.A., Durie P.R., Hamilton J.R., Walker-Smith J.A., Watkins J.B. **Pediatric Gastrointestinal Disease**. 2nd, St. Louis, Missouri, Mosby, p.840-61, 1996.

WEILE, B.; KRASILNIKOFF, P. A. Extremely low incidence rate of celiac disease in Danish population of children. **J. Clin. Epidemiol.**, v.46, p. 661-4, 1993.

WINDERMANN, H.; FRITSCHY, F.; BAUMGARTNER, E. Enzyme-linked immunosorbent assay for wheat α -gliadin and whole gliadin. **Biochim. Biophys. Acta**, v.709, p.110-121, 1982.

WINTZ, E.; KUNTZE, R. Specific features of the manufacture of dietetic bakery products for particular groups of consumers. **Getreid Mehl Brot**, v.50, n.4, p.235-40, 1996.

YMAN, I.M. Gluten determination in foods by an enzyme immunoassay. Trabalho apresentado em poster ao 8th Int. Symp. on Coeliac Disease. Itália, 1999.