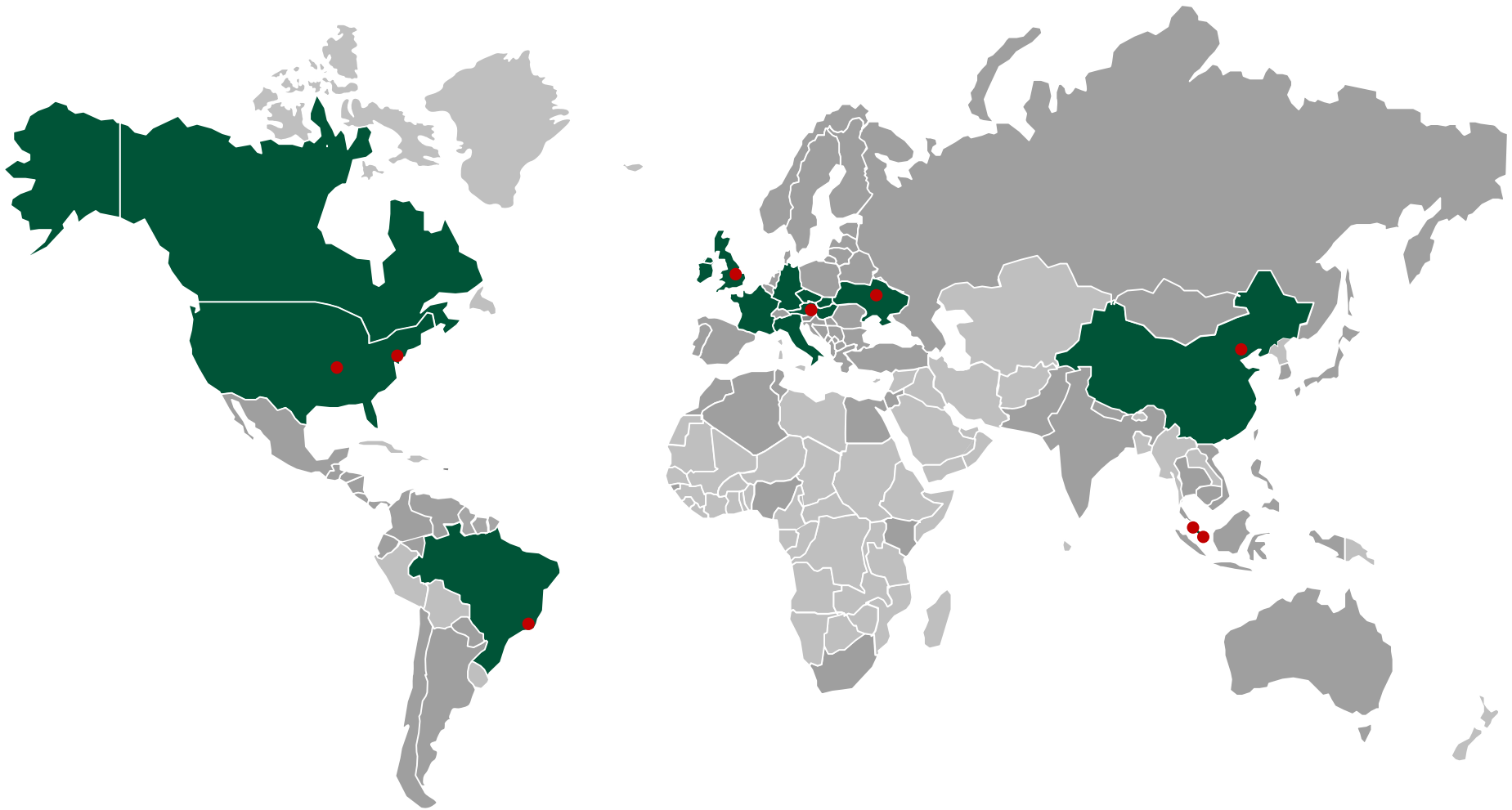


# Az ELISA módszerek kihívásai és azok kezelése az élelmiszerallergiának vizsgálata során



Tanyi Ervin, Romer Labs®

# Globalis partner



*Making the World's Food Safer®*

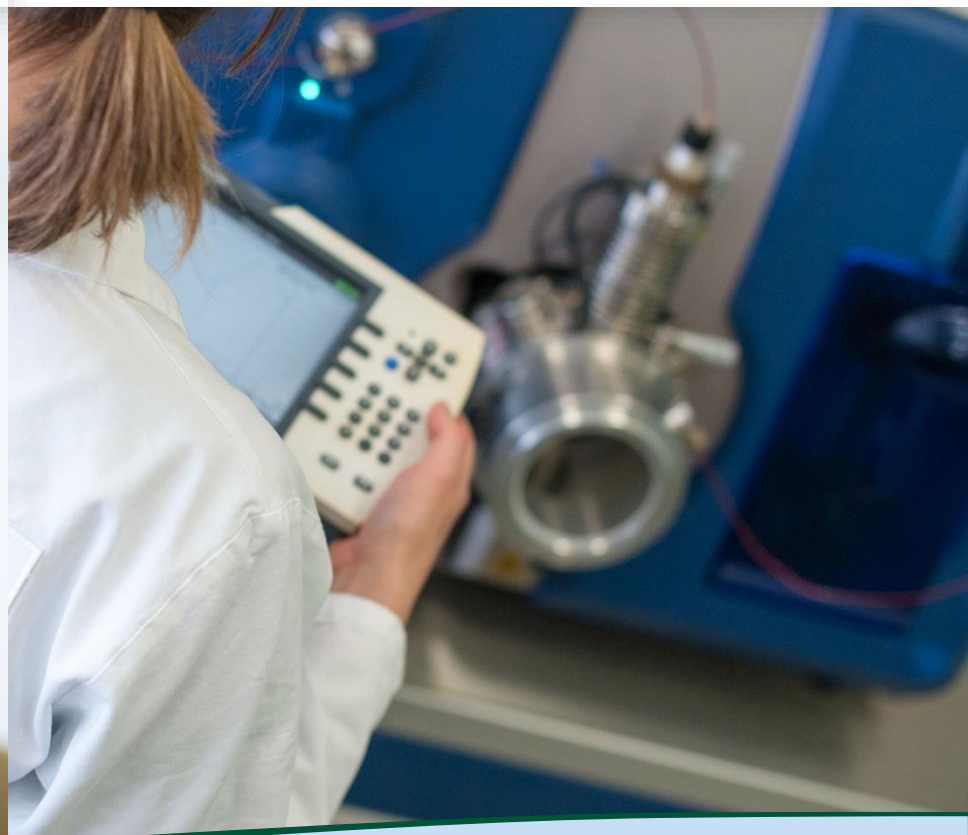


# 2 kiemelt technológia...

Immunkromatográfiás teszt



Tömegspektroszkópia



# ...5 szakterület



# Megoldásaink



# Miért vizsgáljuk az élelmiszerallergéneket?

Élelmiszerallergének = Élelmiszerbiztonsági kockázat

**Márkavédelem**

**"Allergén-mentes" piac**

**Törvényi szabályozás &  
Szabványok**

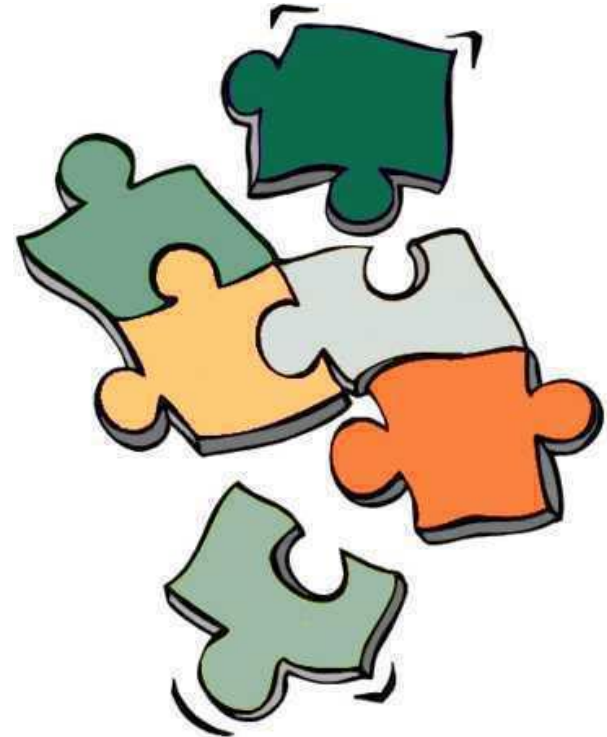
**Média érdeklődés**

**Termék visszahívások**



# Mire kell figyelmet fordítani a vizsgálatok során?

- Mintavétel
- Mértékegységek, definíciók
- Validációk és jóváhagyások
- Küszöbértékek
- Vizsgálati kitek
- Kalibrálás



→ Az ellenőrzés a minimális gondosság

# Mit akarunk kimutatni?

**Egy part per million - 1ppm =  $1\mu\text{g/g}$  or  $1\mu\text{g/mL}$**

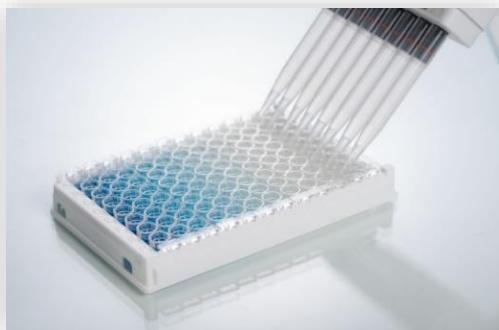


**vagy....egy  
palacsinta egy 6 km  
magas palacsinta  
oszlopból!!**

# Elérhető analitikai módszerek

Fehérje vagy DNS a kimutatás alapja

ELISA



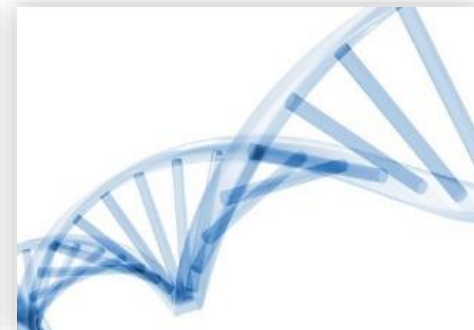
AgraQuant® Allergen

Immunkromatográfiás  
tesztek



AgraStrip® Allergen

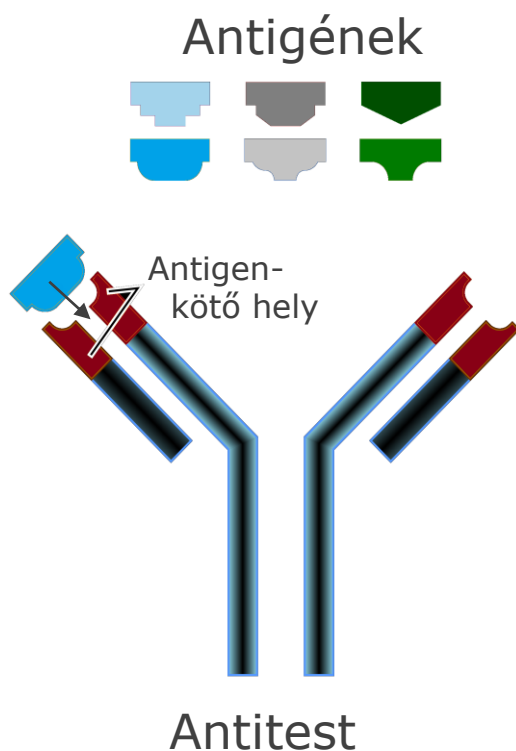
PCR/RT-PCR



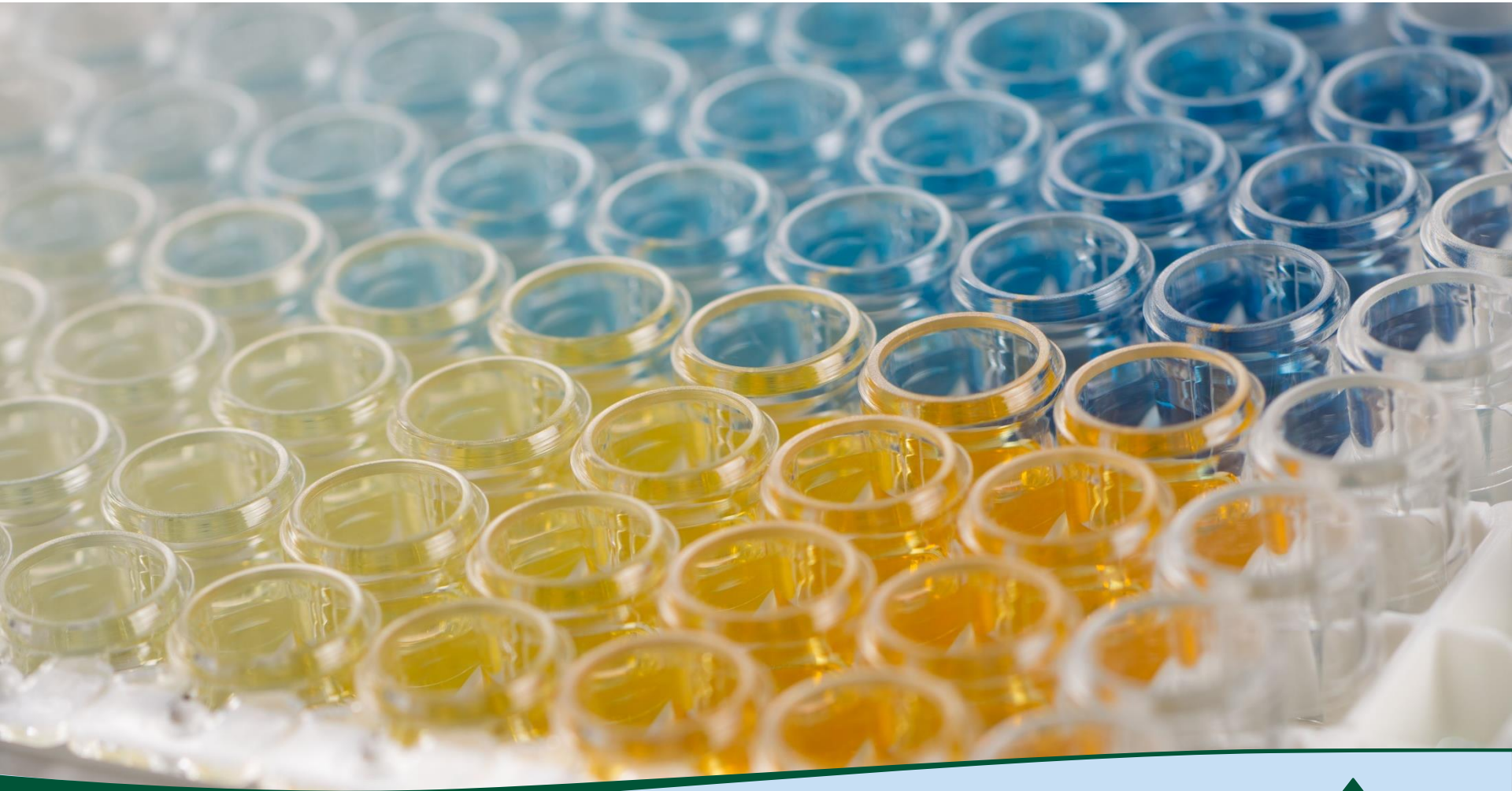
Analitikai  
szolgáltatások

# Immunológiai vizsgálat

## Specifikus antigén-antitest reakció



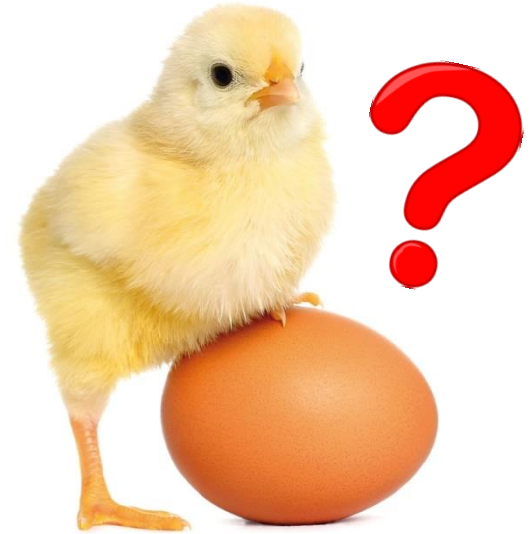
# ELISA – a legjobb módszer?



# Az ELISA alternatívái

## Polimeráz Láncreakció (PCR)

- Alacsony mennyiségű DNS
- Keresztreakciók kiküszöbölése
- De...



# Az ELISA alternatívái

## Tömegspektroszkópia (MS)

- Nagyszerű lehetőségek a jövőben
- Nem üzemi módszer  
(berendezés, értékelés, költségek,...)
- Gyorsmódszerek elengedhetetlenek



# Miért használjunk gyorseszteket?

Hagyományos megközelítés  
= Késztermék vizsgálat

Élelmiszerbiztonság növelése:

- A gyártósor szennyezésének elkerülése
- Koncentráljunk a teljes láncra
- FDA: *Hidrolizált glutén mérése késztermékekben nem megbízható*

→ Allergénmenedzsment: HACCP



# HACCP koncepció



- Világszinten elfogadott, preventív élelmiszerhigiéniai rendszer
- Tanúsítási folyamatokhoz alkalmazott séma
- Kiegyensúlyozott termék minőség
- Fogasztói bizalom
- Kereskedelmi előnyök



# A HACCP 7 alapelve



1. Készítsen kockázatelemzést
2. Határozza meg a kritikus irányítási pontokat (CCP)
3. Dolgozza ki a kritikus határértékeket
4. Hozzon létre egy rendszert a kritikus pontok vizsgálatára
5. Dolgozzon ki javító intézkedéseket arra az esetre, ha a vizsgálat azt mutatja, hogy egy adott kritikus ponton túllépi a határértéket
6. Alakítson ki egy ellenőrző rendszert a HACCP megfelelő működésének megerősítésére
7. Dokumentáljon minden folyamatot a fenti alapelvekről és azok alkalmazásáról

# HACCP - Allergénmenedzsment



## 1. Készítsen kockázatelemzést

Azonosítsa a kockázatok: milyen allergének, hol kerülhetnek be, hatékony takarítás?

## 2. Határozza meg a kritikus irányítási pontokat (CCPs)

hol vannak a CCPk, mennyire kapcsolódnak az allergénekhez

## 3. Dolgozza ki a kritikus határértékeket

nehéz feladat az allergénekre: nincs allergén küszöbérték, javaslatok a VITAL koncepcióból

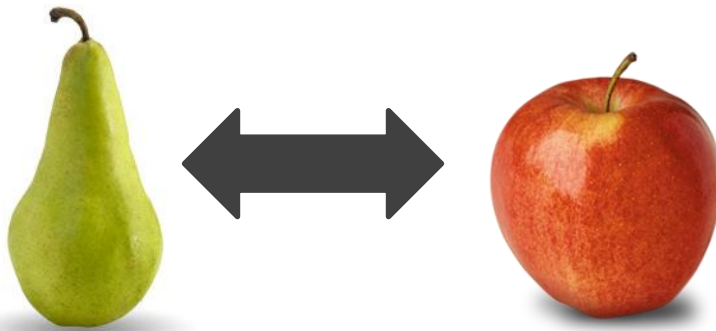
## 4. Hozzon létre egy rendszert a kritikus pontok vizsgálatára

allergén vizsgálati rendszer (ELISA): mérések előre meghatározott értékeken belül; a termelés megállítása, hogy a szennyeződést elkerüljük

# Az ELISA vizsgálatok kihívásai...

## Összehasonlíthatóság!

Az ELISA tesztek eredményeinek változékonyságához számos tényező hozzájárul.

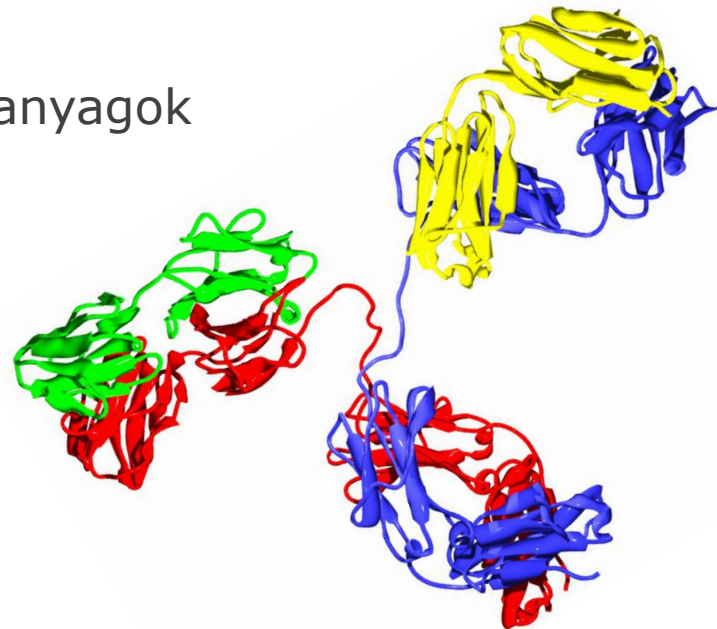


*"Melyik ELISA kit  
eredménye helyes?"*

# Az ELISA méréseket befolyásoló tényezők

## Antitestek

- Monoklonális vagy poliklonális
- Az antitest célpontja: egy/több fehérje, töredezett, módosult, szintetizált,...
- Az immunizáláshoz használt anyagok

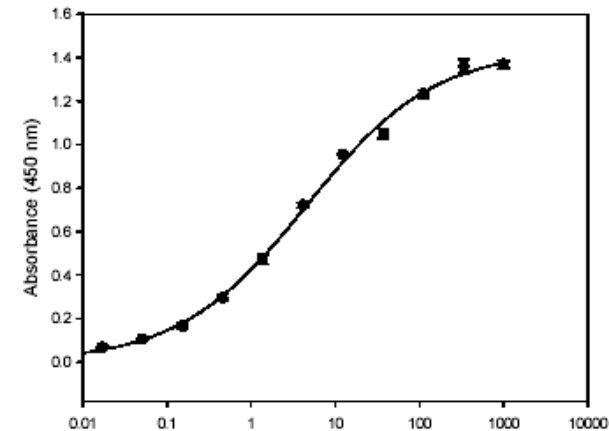


Copyright© 2017 Romer Labs.

# Az ELISA méréseket befolyásoló tényezők

## Kalibráló anyagok

- Illeszkedjenek a kitben használt antitestekhez
- Nem ugyanaz, mint a minta



## Extrakció

- Mit tudunk extrahálni (hatékonyság)?
- Az antitest csak azt tudja kimutatni, amit előzőleg kivontunk



# Az ELISA méréseket befolyásoló tényezők

## Kimutatási határ (LOD)

- Az a legalacsonyabb allergén mennyiség, amely megkülönböztethető a vak mintától
- LOD meghatározása többnyire pufferoldatból
- Élelmiszer minták esetében teljesen más lehet

## Visszanyerés

- Ideális esetben 80 – 120%
- Nem lehetséges minden mátrixnál (pH, sók, polifenolok,...)
- Adalékolt vagy modell termékek
- AOAC szerint 50 – 150% elfogadható



Copyright© 2017 Romer Labs.

# Az ELISA méréseket befolyásoló tényezők

## Kereszt-reakciók

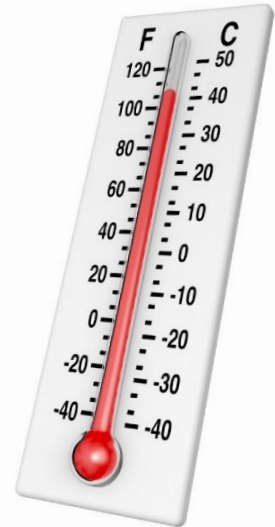
- Pozitív válasz egy mintára, amely nem tartalmazza a vizsgált allergént
- Az allergénhez genetikailag hasonló anyagok ellenőrzése
- A tanulmánytól eltérő eredmények okai:
  - nyers vs. feldolgozott termékek
  - a világ különböző részein termesztett fajták változékonysága



# Az ELISA méréseket befolyásoló tényezők

## Immunanalitikai vizsgálati rendszer

- Környezeti hatások
- Mérési körülmények (robosztusság)
- A stabilitást befolyásolhatják a szállítási/tárolási feltételek



# Számos kihívás...

- ELISA: gyors & egyszerű allergén teszt
- Nincs ideális módszer → problémák előfordulhatnak
- Bizonytalanság az élelmiszer előállítók között

**... de van lehetőség megoldani őket!**

- Az ELISA kit gyártójának felelőssége
- Testre szabott egyedi megoldások



# Mit keresünk?

A cél azonosítása:



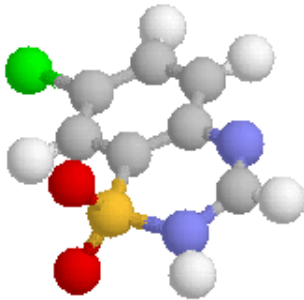
Nyers fehérje vagy feldolgozott termék

- A megfelelő antitest kiválasztása
- Hasonló kalibráló anyagok

# Mértékegységek

## Allergén fehérje

pl. földimogyoró fehérje



## Allergén tartalom

pl. földimogyoró tartalom



## Egyéb példák

Kazein tartalom, sovány tejpor, teljes tej

# Mi a gyakorlati relevancia?

LOD? ... *"Minél alacsonyabb annál jobb, ugye!?"*

- Nem a legalacsonyabb LOD a fő cél
- Klinikai hatás alapú határok
- Megbízható eredmények

**Élelmiszerbiztonság a fő szempont!**



*... nincs értelme egyetlen molekulát keresni*

# Pontosság

- ELISA nem mindig nagyon pontos
- Teljesítmény javítás specifikus validációval
- Nincs egyformán jó eredmény minden alkalmazásra
- A kit gyártó tudja azonosítani az egyedi élelmiszerek kihívásait
- Támogatás a megfelelő kit kiválasztásában, értékelésében



Copyright© 2017 Romer Labs.

# Fontos üzenetek...

- Az élelmiszerallergiének nagyon változatosak
- Nincs tanúsított referencia anyag  
→ nincs közös referencia pont az ELISA összehasonlításhoz
- Közeli együttműködés szükséges a felhasználó és a kit gyártója között
- Az ELISA tesztnek meg kell felelnie a célnak
- Egyedi megoldásokra van szükség



Copyright© 2017 Romer Labs.

# Élelmiszerbiztonsági megoldásaink

- Különböző ELISA kitek különböző alkalmazásokra
- A feladat folytatódik a kit fejlesztése után



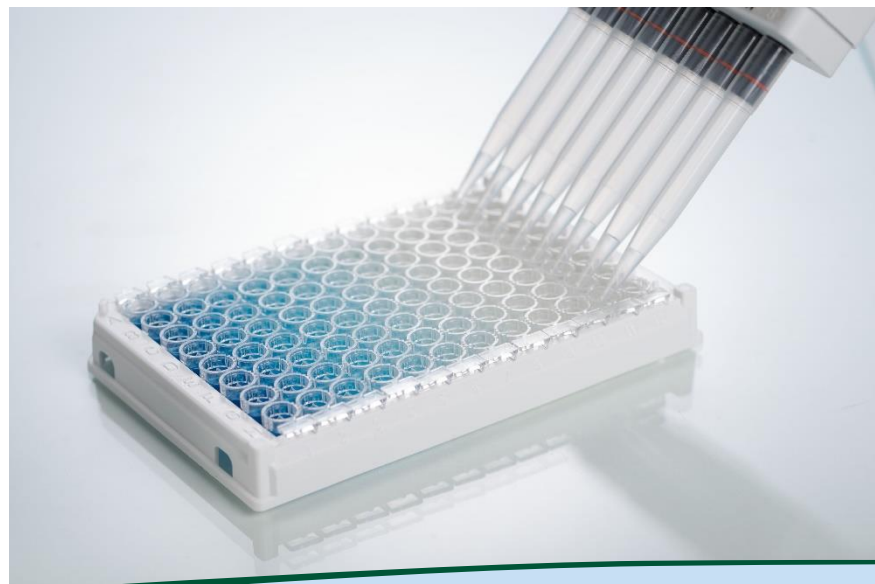
## AgraQuant Plus:

- feldolgozott minták
- különösen gyors



## AgraQuant:

- széles spektrum
- alacsony LoD



Copyright© 2017 Romer Labs.

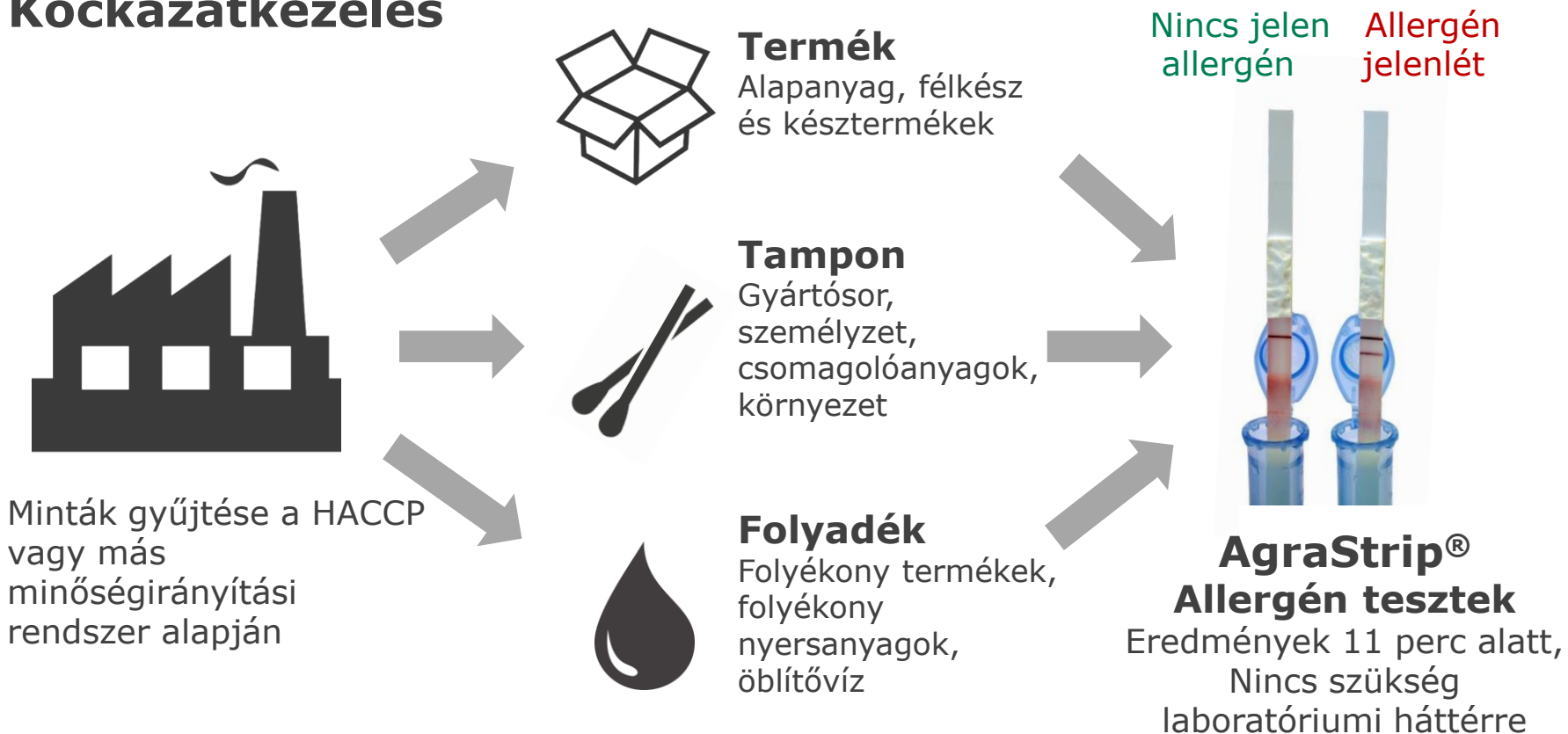


# AgraStrip® Allergén tesztek



# Helyszíni allergén vizsgálatok

## Kockázatkezelés



Copyright© 2017 Romer Labs.

# Gluténmentes

A glutén tudatosság  
számos új üzleti  
lehetőséget kínál!



Copyright© 2017 Romer Labs.



---

*Making the World's Food Safer®*

# Köszönöm a figyelmet!



[www.romerlabs.com](http://www.romerlabs.com)