

Eines d'identificació de proteïnes aplicades a la seguretat alimentària

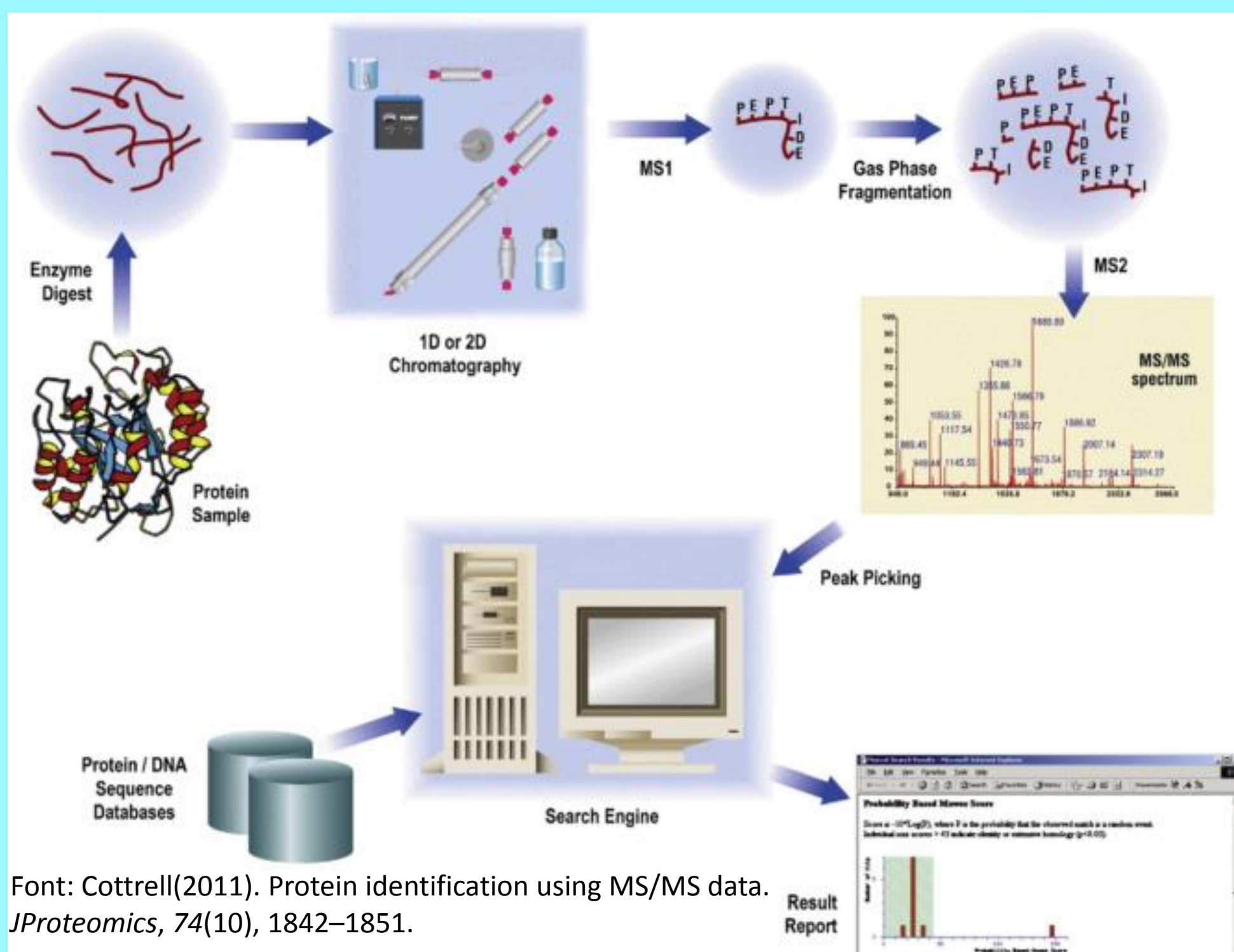
Marta Caro Violeta

Treball de final de Grau, 2014-2015 — Grau en Biologia



Seguretat alimentària: “certesa que l'aliment no causarà perjudici al consumidor, un cop consumit d'acord amb el seu ús predeterminat”. Per assegurar la innocuïtat d'aquests aliments, és important ser capaç de detectar patògens en qualsevol punt de la cadena alimentària. En aquest treball es fa revisió sobre com es poden aplicar diferents eines d'identificació de proteïnes (eines de proteòmica, biosensors i mètodes ràpids) en la detecció d'agents patògens que sovint amenacen la innocuïtat dels aliments com els bacteris, els virus i els prions.

MS/MS en tàndem



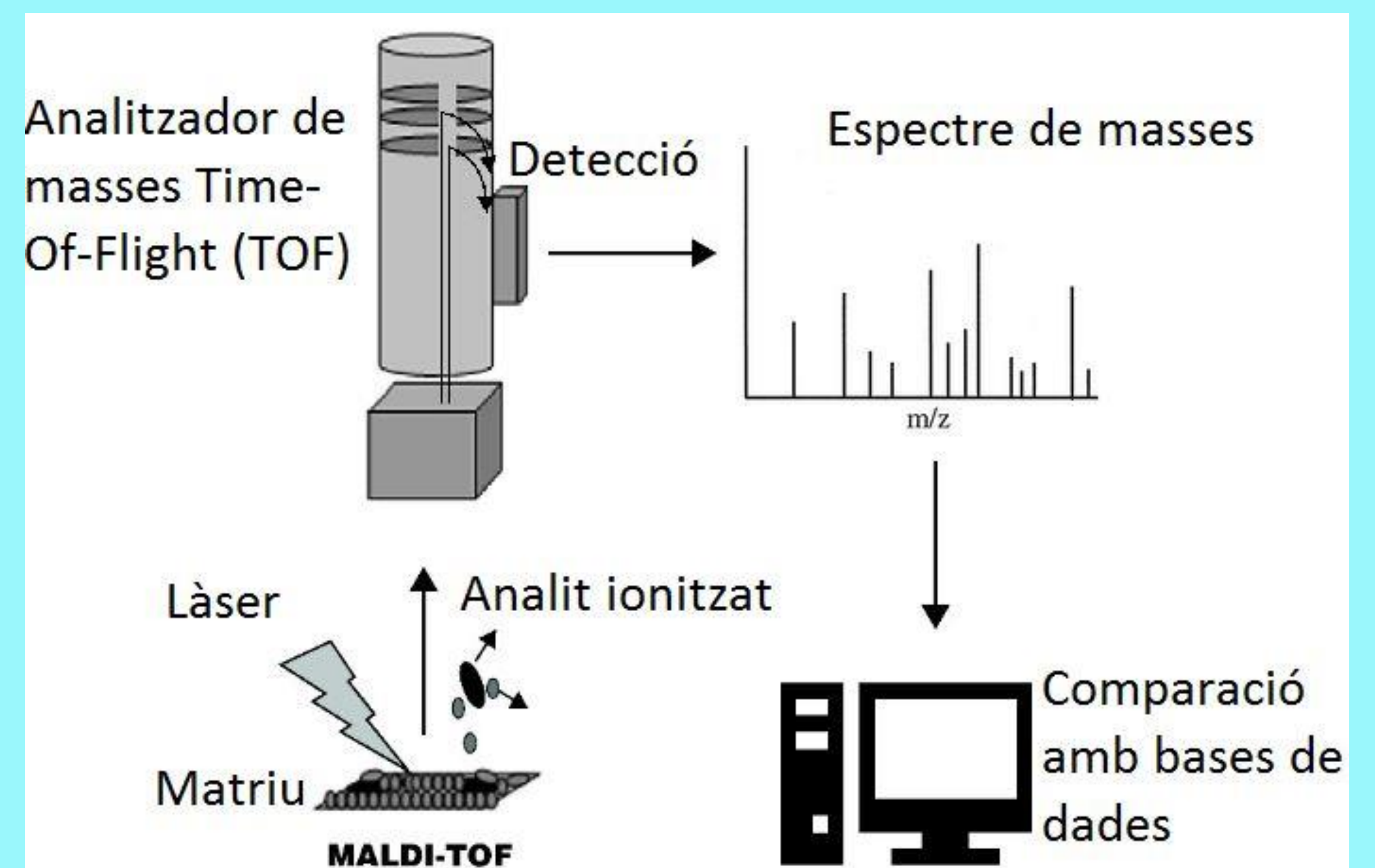
Font: Cottrell(2011). Protein identification using MS/MS data. *JProteomics*, 74(10), 1842–1851.

Pot caracteritzar compostos desconeguts i analitzar específicament mostres en matrius biològiques sense necessitat de separació prèvia

Eines de proteòmica

La identificació de proteïnes mitjançant empremta peptídica a través de l'espectrometria de masses MALDI-TOF o mitjançant l'espectrometria de masses en tàndem MS/MS, i les seves aplicacions a la seqüenciació de pèptids, han permès la identificació de microorganismes patògens en aliments i de determinades proteïnes de caràcter tòxic

MALDI-TOF



Hi ha perfils espectrofotomètrics dels bacteris més comuns als aliments. S'han creat bases de dades comercials com SARAMIS, MicrobelynX o MALDI Biotyper²

Biosensors

Què són? Dispositius d'anàlisi compactes que incorporen un element de reconeixement biològic (biocatalític o de bioafinitat segons l'analit que es vulgui detectar) associat a un sistema de transducció que amplifica, emmagatzema i enregistra el senyal produït per la interacció entre l'element de reconeixement i l'analit que es busca.

• **Bacteris:** Augment de la incidència d'afeccions que produeixen. Bacteris més freqüents als aliments: *Salmonella* i *Campylobacter*. De menor importància numèrica són *Clostridium perfringens* i *Bacillus cereus*, i també hi ha d'altres patògens que es perfilen com a patògens emergents: *Listeria monocytogenes* i *E. coli* O157:H7.¹

• **Toxines bacterianes:** compostos proteics sintetitzats pels bacteris als aliments o bé a l'intestí del consumidor. Causen les intoxicacions alimentàries. Exemples: enterotoxines de *C. Perfringens*, *S. aureus*, *B. cereus* i *Y. enterocolitica*; les neurotoxines de *Shigella dysenteriae* i *C. botulinum*.

• **Amines biògenes:** es formen per l'acció d'alguns microorganismes sobre aminoàcids. Algunes tenen conseqüències no desitjables per la salut, com la histamina o la tiramina.

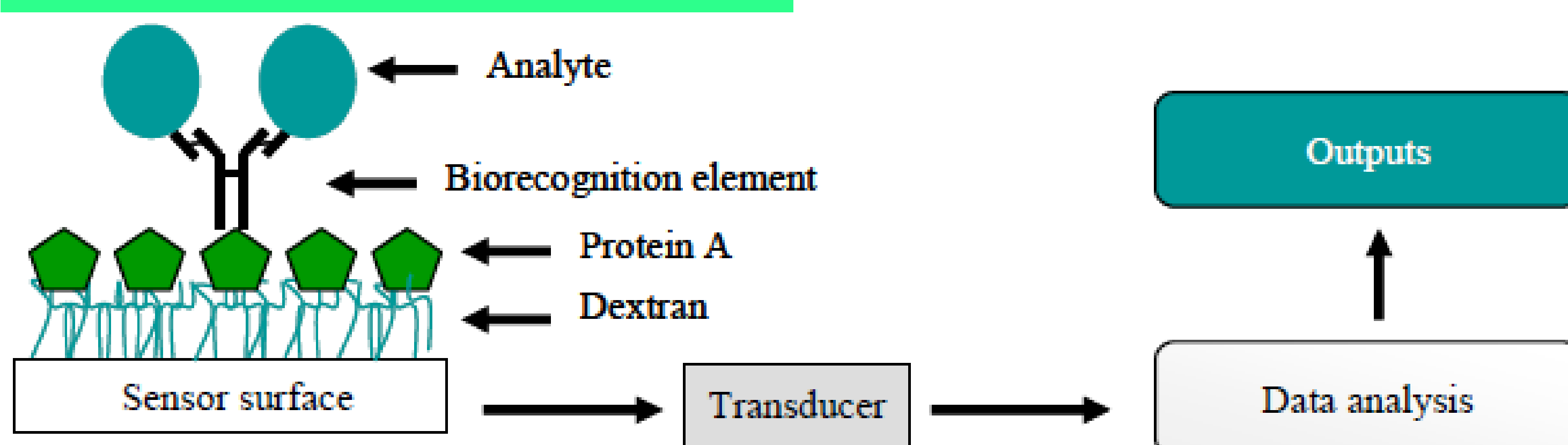
• **Virus:** Són una de les primeres causes de malaltia associada al consum d'aliments, els més destacats són Norovirus i el virus de l'hepatitis A.

• **Prions:** Agent infecciosos estrictament proteic, compost d'una proteïna conformacionalment modificada anomenada PrP^{Sc}. Exemple: la malaltia de les vaques boges.

Mètodes de detecció ràpids: l'ELISA

Tècnica basada en anticòs més utilitzada per la detecció de microorganismes, garanteix sensibilitat i especificitat.

Diferents companyies comercialitzen tests de detecció ràpids basats en ELISA per bacteris com *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas* i *Staphylococcus aureus*, i de toxines bacterianes com ara les endotoxines de *Bacillus cereus* i *Staphylococcus aureus* o neurotoxines de *Clostridium botulinum*.³ Kits en general dissenyats com un assaig en sandvitx, on un anticòs unit a una matriu sòlida captura l'antigen i un segon anticòs conjugat amb un enzim s'utilitza per la detecció



Font: Byrne, et al (2009). Antibody-based sensors: Principles, problems and potential for detection of pathogens and associated toxins. *Sensors*, 9(6), 4407–4445

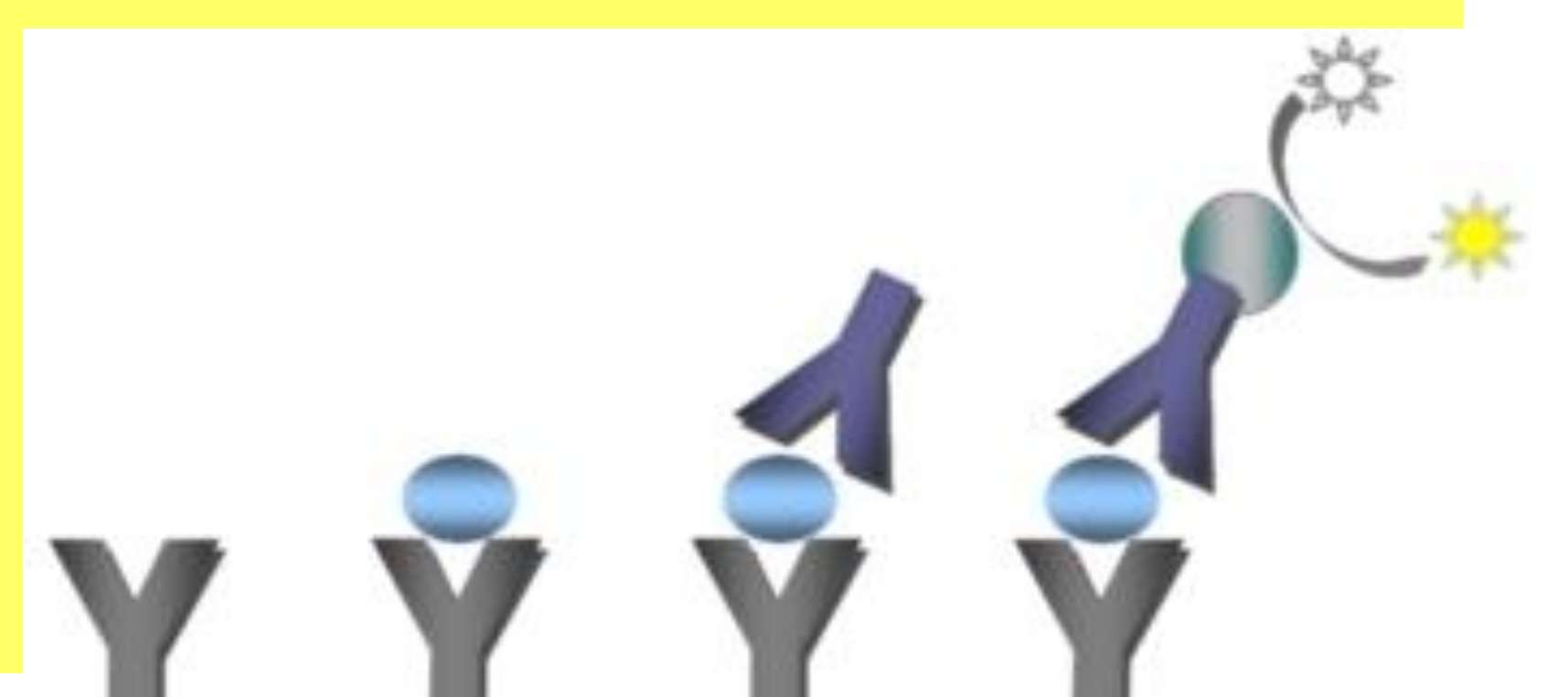
Què detecten?

- **Electroquímics:** canvis en potencial, pH, o en substàncies electroactives. Varis detecten *S. Typhimurium*.
- **Termomètrics:** calor generat en reaccions enzimàtiques.
- **Òptics:** variacions en la llum (absorció, fluorescència, dispersió, refracció...). Detecten *E. coli* O157:H7 en carn picada o suc de poma.
- **Piezoelèctrics:** canvis directes de massa a la superfície del biosensor.

Mètode tradicional Vs Mètode ràpid.

El mètode tradicional per detectar toxina botulínica és el bioassaig en ratolins, que consisteix en injectar intraperitonealment la toxina a un ratolí, i injectar sèrum en un altre ratolí control, i veure si el ratolí que ha rebut la toxina mor.

S'han desenvolupat mètodes ràpids basats en ELISA per la detecció de toxina botulínica.⁴



Així doncs, s'ha vist que els tres grups d'eines de detecció de proteïnes (biosensors, mètodes d'identificació proteòmica i mètodes ràpids) poden ser molt útils en la detecció d'agents que amenacen la innocuïtat dels aliments. Tot i així no estan instaurats completament a la cadena alimentària. Perquè ho estiguessin caldria que hi hagués una validació universal de cada mètode per l'aliment a què donarà servei i que fossin capaços de detectar més d'un patògen d'una sola vegada.

Referències Bibliogràfiques

1. Agencia Española de Seguridad Alimentaria. (2005). *Aplicaciones de la Biotecnología en Seguridad Alimentaria*.
2. Gallardo et al. (2013). Proteomics and its applications for food authentication and food-technology research. *TrAC*
3. Mandal et al. (2011). Methods for rapid detection of foodborne pathogens: *Am. J. Food Technol*
4. Cheng et al. (2012). Current Methods for Detecting the Presence of Botulinum Neurotoxins in Food and Other Biological Samples.

Referències de les imatges

- Cottrell(2011). Protein identification using MS/MS data. *JProteomics*, 74(10), 1842–1851
Byrne, et al (2009). Antibody-based sensors: Principles, problems and potential for detection of pathogens and associated toxins. *Sensors*, 9(6), 4407–4445.