

GlutenTox® Pro

Kit de detección de gluten en alimentos
y superficies



GlutenTox[®] Pro

Contenidos

1. Uso previsto	2
2. Introducción	2
3. Fundamento del test	2
4. Materiales suministrados (para 25 pruebas)	3
5. Materiales convenientes no suministrados	3
6. Condiciones de almacenamiento	3
7. Precauciones.....	3
8. Advertencias y limitaciones.....	3
9. Análisis de alimentos.....	4
9.1. Preparación y análisis de las muestras	4
9.2. Interpretación de resultados	7
10. Análisis de superficies.....	7
10.1. Preparación y análisis de las muestras	7
10.2. Interpretación de resultados	8
11. Control de calidad	8
12. Características analíticas	8
12.1. Sensibilidad.....	8
12.2. Especificidad.....	9
12.3. Validación interna.....	9
13. Propiedad intelectual.....	9
14. Referencias.....	9
Anexo 1	10
Anexo 2	11

1. Uso previsto

GlutenTox[®] Pro es una prueba rápida y fácil de usar que permite detectar el gluten* perjudicial para los celíacos, en alimentos y superficies**. (Los alimentos y superficies aprobados por la AOAC se muestran en el Anexo 1). Este kit está recomendado para consumidores, cocinas comerciales e industria y proporciona la posibilidad de elegir entre diferentes límites de detección de gluten de acuerdo con las necesidades del usuario final.

* no válido para alimentos hidrolizados.

** matrices validadas según los protocolos AOAC Performance Tested Methods (PTM)

- Alimentos: harina de arroz, pan, copos de avena, paté y yogur.
- Superficies: acero inoxidable, goma, plástico, madera pintada grado alimentario y cerámica.

2. Introducción

La celiaquía es una enfermedad que afecta al intestino delgado provocando la atrofia de las vellosidades intestinales, lo cual interfiere con la absorción de nutrientes tales como proteínas, grasas, hidratos de carbono, sales minerales y vitaminas. La causa de dicha enfermedad se debe a una respuesta inmunológica inapropiada al gluten (mezcla de proteínas presente en cereales) de trigo, cebada, centeno y, en menor medida, de avena [ref. 1 y 2], pudiendo producir diarrea, deficiencia de vitaminas y minerales, anemia y osteoporosis. La celiaquía afecta a personas de todas las edades.

En la actualidad, el único tratamiento del que disponen los enfermos celíacos es seguir una dieta estricta sin gluten durante toda su vida, un hecho que presenta grandes dificultades en la práctica, ya que el gluten, además de estar presente en multitud de alimentos, lo está también en aditivos y conservantes.

Según la Comisión del Codex Alimentarius y el Reglamento (CE)41/2009 sobre la composición y etiquetado de productos alimenticios apropiados para personas con intolerancia al gluten, para considerar un alimento "exento de gluten"(según el Codex) o "sin gluten" (según el reglamento CE), éste debe tener un contenido de gluten que no sobrepase las 20 partes por millón (ppm*).

* Miligramos de gluten por kilogramo de alimento.

3. Fundamento del test

GlutenTox[®] Pro es una prueba inmunocromatográfica (test de flujo lateral) para la detección de gluten en alimentos de muy diversa naturaleza y grado de procesamiento, desde materias primas hasta alimentos procesados. Además, GlutenTox[®] Pro permite llevar a cabo un control de la limpieza de las zonas de producción, mediante el análisis de las superficies de trabajo, requisito indispensable para prevenir el riesgo de contaminación en el producto final.

El test consiste en una etapa de extracción mediante un simple procedimiento que es común a todos los tipos de alimentos; y en una etapa de detección que se basa en la capacidad de reacción de los péptidos inmunotóxicos tipo 33mer del gluten, presentes en las muestras, con los anticuerpos conjugados coloreados (microesferas rojas unidas a anticuerpos monoclonales anti-gliadina33mer), fijados previamente en la tira [ref. 3 y 4]. El complejo formado avanza por capilaridad a lo largo de la tira. Si el resultado es positivo, aparece una línea de color ROJO en la zona de resultado de la tira. La ausencia de esta línea ROJA indica un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de gluten, la mezcla de conjugado avanza por la tira hasta la zona de control donde, si el test se ha realizado correctamente, deberá aparecer una línea de color AZUL (línea de control), por acumulación de microesferas de este color también incluidas en la tira.

Este test rápido es especialmente útil en el control rutinario del gluten para asegurar que los productos cumplen con un programa de análisis de peligros y puntos de control críticos (APPCC), y para garantizar el correcto etiquetado. También, permite, la toma rápida de decisiones y acciones correctivas cuando se haya producido alguna contaminación a lo largo de la cadena de producción.

4. Materiales suministrados (para 25 pruebas)

- Tira analítica GlutenTox[®] Pro (x25) en un tubo.
- Pipeta de plástico (x50).
- Cucharilla de plástico desechable (x25).
- Bote de **tapón amarillo** con solución de extracción (x25).
- Bote de **tapón azul** con solución de dilución (x25).
- Instrucciones de uso.

5. Materiales convenientes no suministrados

- Mortero o utensilios para triturar la muestra.
- Balanza (precisión 0,1 g).
- Reloj, preferentemente con cronómetro.
- Guantes desechables sin polvo.
- Alcohol etílico.

6. Condiciones de almacenamiento

Se debe almacenar el producto a una temperatura entre 15 – 25 °C (59 - 77 °F) hasta la vida útil del kit. Para conseguir un óptimo funcionamiento del ensayo, el producto debe almacenarse en su envase original, y utilizarse antes de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del tubo de tiras.

AVISO: El tubo con las tiras no debe abrirse hasta el momento de su uso. Todos los componentes del kit pueden eliminarse como un residuo normal en el hogar o ser reciclados.

7. Precauciones

- Para evitar contaminaciones que interfieran con el análisis, se recomienda el uso de guantes desechables sin polvo. Si no se dispone de ellos, extreme las precauciones lavándose las manos cuidadosamente antes del test.
- Una vez sacada la tira GlutenTox[®] Pro del tubo, debe utilizarse lo antes posible bajo estrictas condiciones de limpieza. Posteriormente cierre el tubo.
- No usar ningún elemento del kit después de la fecha de caducidad.
- No ingerir ninguna solución (líquido) del kit (la solución de extracción contiene alcohol [etanol]).
- Manténgase fuera del alcance de los niños.

8. Advertencias y limitaciones

- En cierto tipo de muestras, el gluten puede extraerse con menor eficiencia, por lo que se recomienda trabajar en condiciones de máxima sensibilidad (10 gotas del extracto sobre el bote de dilución de tapón azul), para garantizar la detección de un mínimo de 10 ppm. Estas muestras son las siguientes:
 - Alimentos que contienen ingredientes (hasta un 70%) con altas concentraciones de polifenoles o taninos (chocolate, té, café, vino, frutos rojos, legumbres como garbanzo y lenteja, etc.)
 - Muestras con antioxidantes, como son vitaminas A, E y C.
 - Alimentos tratados con temperaturas superiores a 180 °C / 356 °F.
- En matrices muy hidrolizadas como siropes, masa madre o cerveza, el contenido de gluten de la muestra se puede subestimar.

¡NOTA IMPORTANTE!

- **En estos casos se ha comprobado que siempre se consigue como mínimo una extracción del 50% del contenido total de gluten presente en la muestra. Por consiguiente, si se obtiene un resultado negativo realizando el ensayo al máximo de sensibilidad (con 10 gotas), se puede garantizar que el alimento contiene menos de 10 ppm de gluten, y, por lo tanto, se trata de un alimento “sin gluten” o “exento de gluten” apto para celíacos de acuerdo con la normativa en vigor.**
- En algunas muestras de alimentos con muy alto contenido en polifenoles o taninos, es decir, alimentos en los que el componente mayoritario (> 70%) sea chocolate, té, café, vino, frutos rojos, legumbres como garbanzo y lenteja, etc., el proceso de extracción puede ser insuficiente y, por tanto, subestimar la cantidad de gluten en la muestra. En estos casos se recomienda recurrir a GlutenTox® Sticks Plus*.
- Muestras de carácter gomoso pueden ser difíciles de analizar debido a la pasta densa que se forma cuando se mezcla con la solución de extracción provista con el kit GlutenTox® Pro. Por favor, contacte con su proveedor para que le asesore.

*Para más información consulte con su proveedor.

9. Análisis de alimentos

9.1. Preparación y análisis de las muestras

¡NOTA IMPORTANTE!

- **Antes de utilizar el kit, limpie con agua y jabón los materiales y las zonas con las que la muestra vaya a estar en contacto y aclare después con abundante agua. Tras la limpieza, es muy aconsejable pasar un trapo limpio humedecido con alcohol. Los materiales incluidos en el kit GlutenTox® Pro vienen listos para usar, y son desechables tras su uso.**

9.1.1. Si la muestra es líquida, agítela vigorosamente para homogeneizarla completamente antes de la toma de muestra.

Si la muestra es semilíquida o pastosa, remuévala con la ayuda de una varilla o cuchara perfectamente limpia para conseguir una mezcla homogénea.

Si la muestra es sólida, tritúrela lo máximo posible utilizando un mortero y/o una picadora doméstica perfectamente limpia. Si la muestra es muy dura (turrón, caramelos, etc.), rómpala previamente con un cuchillo o martillo para facilitar un triturado eficaz.

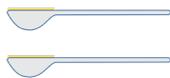
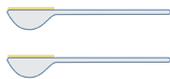
¡NOTA IMPORTANTE!

- **Si un alimento consta de varias partes, asegúrese de tomar una muestra representativa de cada una y de preparar una muestra final homogénea. Si no lo hace así y el gluten estuviera distribuido desigualmente en el alimento podría obtenerse un resultado falso negativo.**

9.1.2. Utilice medidas de enrase del alimento con la cucharilla suministrada siguiendo la Tabla 1 o si dispone de una balanza adecuada⁽¹⁾, pese 1 gramo de muestra. Si la muestra es líquida, use una medida de la cucharilla suministrada o, tome 1 mililitro de líquido.

⁽¹⁾ El uso de la balanza aumenta la precisión del proceso de análisis.

Tabla 1. Cantidad de muestra según tipo de alimento

Tipo Alimento	Ejemplos	Cucharadas
Harinas y alimentos en polvo	Harina de maíz, harina de arroz*, leche en polvo, especias, copos de avena*, etc.	
Alimentos porosos	Pan*, galletas, bizcochos, snacks, etc.	
Líquidos y salsas	Agua, agua de lavado, leche, zumo, leche condensada, yogur*, sopa, salsas, cremas, etc.	
Carnes, pescados y embutidos	Carnes, pescados, salchicha, morcilla, paté, conservas de carne y pescados, etc.	

* Matrices aprobadas por la AOAC.

- 9.1.3. Abra el bote de extracción de **tapón amarillo**. Añada el contenido de la cucharilla suministrada, 1 gramo o el mililitro, al **bote de extracción de tapón amarillo**.
- 9.1.4. Cierre el bote, agítelo vigorosamente durante al menos 2 minutos y déjelo reposar durante unos 5 minutos de forma que se queden los restos sólidos en el fondo del tubo. El tiempo de reposo dependerá del tipo de muestra.
- 9.1.5. Abra un **bote de dilución de tapón azul**. Con una pipeta de plástico desechable, tome aproximadamente, 1 mL de la muestra extraída, del **bote de extracción de tapón amarillo**. Añada **10, 4, 2 o 1 gotas** al **bote de dilución de tapón azul** según el límite de detección (LD) que se quiera conseguir (Tabla 2. Relación entre el nº de gotas de la muestra extraída y el Límite de Detección del test).

Tabla 2.

no. gotas	LD
10	5 ppm
4	10 ppm
2	20 ppm
1	40 ppm

Agítelo suavemente durante al menos 15 segundos.

- 9.1.6. Añada con una pipeta desechable nueva **10 gotas** del **bote de dilución de tapón azul** al tapón del mismo bote invertido. Ponga la zona algodonosa de la tira en contacto con el líquido del tapón azul hasta que este se absorba completamente. Déjela reposar en el tapón azul.
- 9.1.7. **Espere 10 minutos** para ver el resultado de la tira (si hay una alta concentración de gluten, los resultados pueden aparecer en menos tiempo, 1-2 minutos).

¡NOTA IMPORTANTE!

- **Esperar 10 minutos antes de leer el resultado. No deje la tira más tiempo del indicado sin leer, ya que el resultado podría variar.**

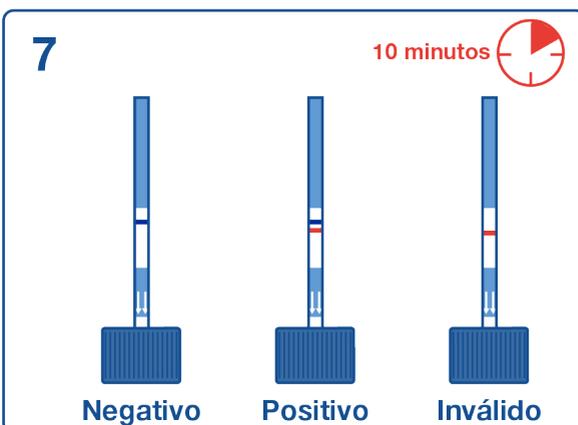
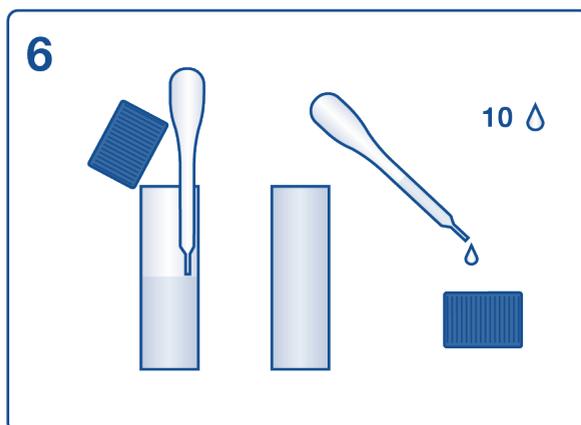
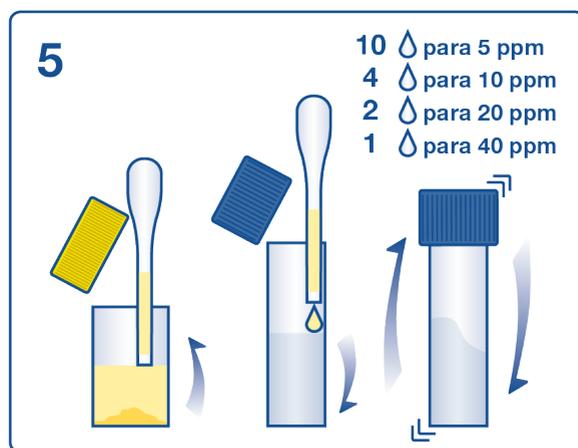
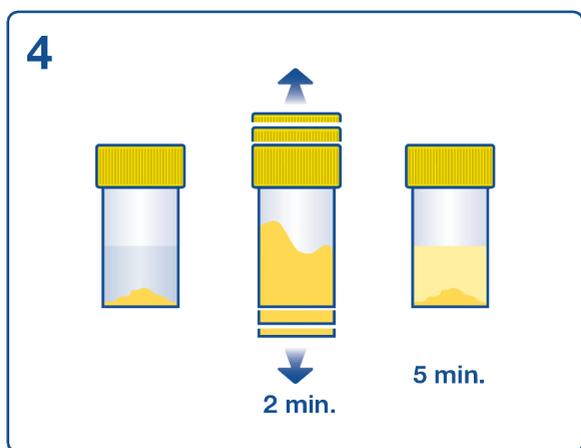
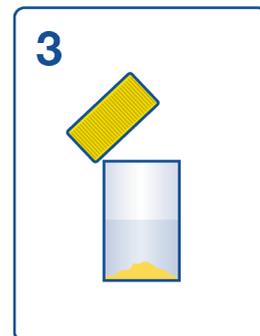
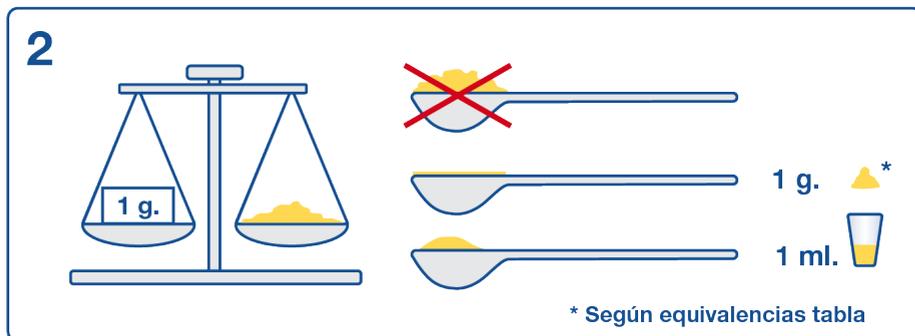
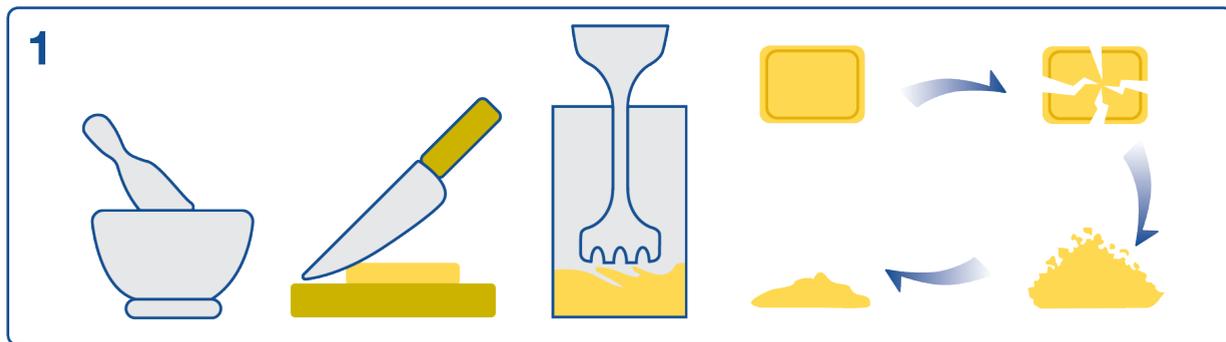


Figura 1. Preparación y análisis de las muestras.

9.2. Interpretación de resultados

Resultado negativo: Aparece una sola línea de color AZUL (línea de control) en la parte central de la tira.

Resultado positivo: Además de la línea de control (AZUL), también aparece una línea ROJA en la zona de resultado de la tira. La intensidad de la línea roja variará dependiendo de la concentración de gluten que contenga la muestra.

El límite de detección del ensayo depende del número de gotas (10, 4, 2 o 1 gotas) añadidas al bote de dilución de tapón azul en el paso 9.1.5. (ver Tabla 3).

Tabla 3. Interpretación de resultados ⁽²⁾

		Contenido de gluten en la muestra			
		10 gotas	4 gotas	2 gotas	1 gota
Resultado del test	Positivo	> 5 ppm	> 10 ppm	> 20 ppm	> 40 ppm
	Negativo	< 5 ppm	< 10 ppm	< 20 ppm	< 40 ppm

⁽²⁾ Estos resultados son cualitativos en cada límite de detección.

Resultado inválido: La línea de color AZUL no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de color ROJO. Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, realizar algún paso de forma incorrecta o el deterioro de los reactivos. Si esto ocurre, repita el test con una nueva tira siguiendo siempre el procedimiento correcto. Si el problema persiste deje de usar el test y contacte con su proveedor.

El propósito del test es la detección. Un resultado positivo podría requerir confirmación o pruebas adicionales.

10. Análisis de superficies

10.1. Preparación y análisis de las muestras

10.1.1. Frote la zona algodonosa de la tira (extremo inferior) sobre una superficie mínima de 16 cm² / 2,46 in² o sobre una línea de 40 cm / 15,6 in. La superficie seleccionada para analizar debe ser representativa de la superficie total objeto de estudio.

10.1.2. Abra el bote de dilución de tapón azul y coloque el tapón del mismo bote invertido sobre una superficie limpia. Añada con una pipeta desechable nueva 10 gotas del bote de dilución de tapón azul al tapón del mismo bote. Ponga la zona algodonosa de la tira en contacto con el líquido del tapón azul hasta que éste se absorba completamente. Déjela reposar en el tapón azul.

10.1.3. **Espera 10 minutos** para ver el resultado de la tira (si hay una alta concentración de gluten, los resultados pueden aparecer en menos tiempo, 1-2 minutos).

¡NOTA!: Las superficies aprobadas por la AOAC se enumeran en el Anexo 1.

¡NOTA IMPORTANTE!

- **Esperar 10 minutos antes de leer el resultado. No deje la tira más tiempo del indicado sin leer, ya que el resultado podría variar.**

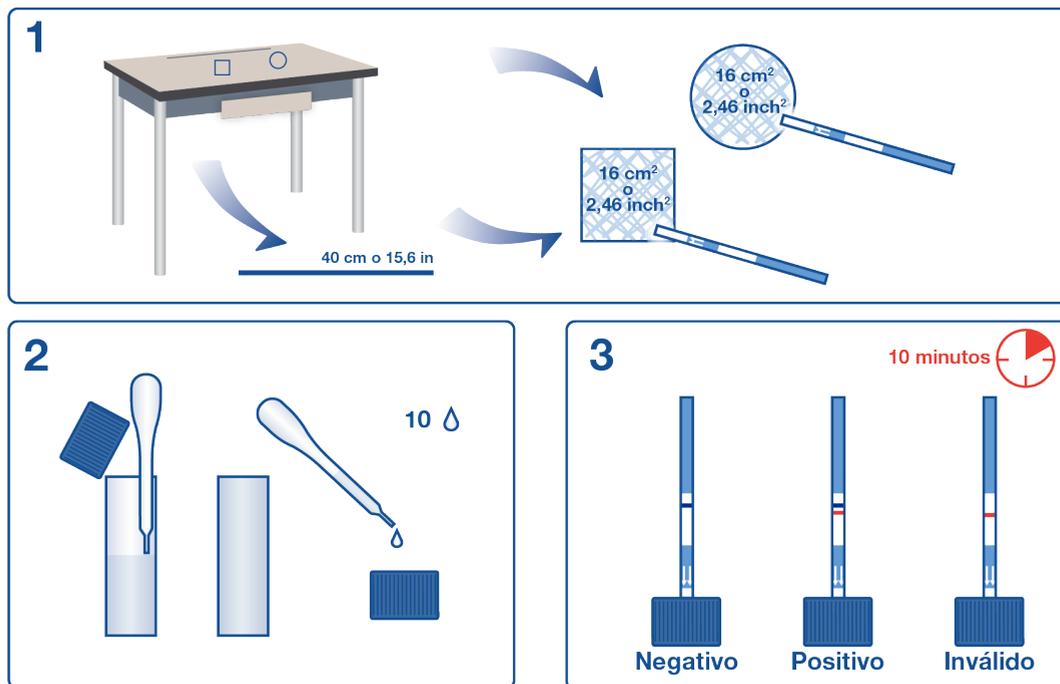


Figura 2. Procedimiento para análisis de superficies.

10.2. Interpretación de resultados

Resultado negativo: Aparece una sola línea de color AZUL (línea de control) en la parte central de la tira.

Resultado positivo: Además de la línea de control (AZUL), también aparece una línea ROJA en la zona de resultado de la tira.

Resultado inválido: La línea de control AZUL no aparece. Se aplican las mismas consideraciones que para el apartado 9.2. de resultados inválidos.

11. Control de calidad

El control interno está incluido en el test. La línea azul que aparece en la zona de control es el control interno del proceso, el cual verifica que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

12. Características analíticas

12.1. Sensibilidad

Análisis de alimentos

El límite de detección del ensayo es de 5 ppm, trabajando en condiciones de máxima sensibilidad (10 gotas). Este límite de detección se alcanza siempre en muestras simples, tales como materias primas, alimentos con poco grado de procesamiento y alimentos no tratados con calor.

La alta sensibilidad del test permite ampliamente el cumplimiento de las directrices del Codex Alimentarius y del Reglamento (CE)41/2009, que establece un límite de 20 ppm para considerar al alimento como "exento de gluten" o "sin gluten", respectivamente.

Análisis de superficies

El resultado obtenido del ensayo indica la presencia o ausencia de gluten en la superficie analizada, no pudiéndose extrapolar a valores de ppm de gluten.

Analizando una superficie de 16 cm² / 2,46 in² o una línea de 40 cm / 15,6 in el test es capaz de detectar un mínimo de 10 ng/cm² de gluten [ref. 5].

12.2. Especificidad

Este test es capaz de detectar específicamente la presencia de la fracción tóxica (33 mer) de las prolaminas de trigo (gliadina), centeno (secalina), y cebada (hordeína), y algunas variedades de avena [ref. 2] (avenina) que pueden ser tóxicas y, por lo tanto, perjudiciales para los celíacos. Sin embargo, no se observa señal positiva cuando las muestras contienen arroz, maíz, soja, trigo sarraceno, sésamo, mijo, teff, quinoa y amaranto, ingredientes vegetales seguros para los celíacos.

Nota: para calcular el gluten de una muestra con este test, el contenido de prolamina ha sido ajustado multiplicando por el factor = 2.

12.3. Validación interna

Además de las matrices alimentarias y de las superficies validadas según el protocolo AOAC Performance Tested Methods (PTM), enumeradas en el Anexo 1, para garantizar la capacidad del test de analizar un amplio rango de muestras de naturaleza diversa (alimentos, bebidas, productos de higiene bucal), se han ensayado diferentes muestras comerciales. Tras el análisis de las muestras con GlutenTox[®] Pro, en todos los tipos de matrices (ver Anexo 2) se obtuvieron resultados satisfactorios y concordantes con el contenido de gluten encontrado con el método validado por el Codex Alimentarius, lo cual demuestra la aplicabilidad del test sobre un amplio tipo de muestras.

13. Propiedad intelectual

Los inmunoreactivos usados en este kit se comercializan bajo licencia exclusiva de material biológico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

14. Referencias

1. SHAN L., et al.; "Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue"; Science; 2002; 297: 2275-9.
2. COMINO I., et al.; "Diversity in oat potential immunogenicity: basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease."; Gut; 2011; 60:915-922.
3. MORÓN B., et al.; "Sensitive detection of cereal fractions that are toxic to celiac disease patients by using monoclonal antibodies to a main immunogenic wheat peptide", Am. J. Clin. Nutr, 2008; 87:405-414.
4. MORÓN B., et al.; "Toward the Assessment of Food Toxicity for Celiac Patients: Characterization of Monoclonal Antibodies to a Main Immunogenic Gluten Peptide" PLoS ONE 2008; 3(5): e2294.
5. SÍGLEZ M.A., et al.; "Método de detección de gluten en superficies"; Alimentaria; 2010; 411:67-70.

Anexo 1. Matrices validadas según el protocolo AOAC Performance Tested Methods (PTM)

Grupo	Muestras testadas
Alimentos	Harina de arroz, pan, copos de avena, paté y yogur.
Superficies	Acero inoxidable, goma, plástico, madera pintada grado alimentario y cerámica.

Anexo 2. Muestras ensayadas para la validación interna de GlutenTox® Pro

Grupo	Muestras
Harinas y sémolas	Harina de maíz, harina de maíz precocida, sémola gruesa de maíz, harina de arroz*, harina de trigo sarraceno, copos de avena*
Leche y productos lácteos	Leche de vaca, leche con fibra soluble, leche con cereales, yogur natural y sabores*, queso de untar, mezcla de quesos rallados
Productos de panadería y productos elaborados a partir de cereales	Pan de molde, palillos de pan*, galletas, galletas con chocolate, magdalenas, bizcocho, copos de maíz, pastas, tortitas de maíz, tortitas de arroz, tortitas de espelta, aperitivos
Carnes y productos cárnicos	Carne de pavo picada, carne de pollo picada, embutido de pavo, paté*, nuggets de pollo, salchichas de cerdo, chorizo
Pescados y productos de la pesca	Bacalao, merluza
Verduras	Mezcla de lechugas variadas, verduras fritas
Caldos, sopas, cremas y mezclas deshidratadas	Caldo de verduras, sopa de arroz con pollo, sopa de verduras deshidratadas, pastillas de caldo, crema de verduras, crema de cacahuete
Salsas, aderezos, especias y condimentos	Aderezo de ensalada de yogur, salsa de tomate, salsa de soja, aderezo ensalada, ajo en polvo, pimentón en polvo, nata líquida para cocinar
Azúcares	Azúcar en polvo
Comidas y platos preparados	Albóndigas en salsa con guisantes, raviolis de carne al huevo, fabada
Alimentos grasos	Aceite de oliva, aceite de girasol, mantequilla, margarina, nata líquida
Alimentos ácidos	Salsa de tomate, vinagre de vino, vinagre de manzana, zumo de limón
Bebidas	Agua, agua de lavado, leche, zumo de frutas, bebida de soja, bebida de arroz, bebida de avena, refrescos
Productos de higiene bucodental	Pasta de dientes, enjuague bucal

* Matrices alimentarias aprobadas por la AOAC.

GlutenTox® Pro

Notas

GlutenTox® Pro

Notas

GlutenTox[®]•Pro

Notas



Americas:

Hygiena Headquarters

941 Avenida Acaso
Camarillo, CA 93012
1-805-388-8007

Hygiena Canada

2650 Meadowvale Blvd Unit 14
Mississauga, Ontario L5N 6M5
1-833-494-4362 (Toll-free)
or 1-416-686-7962

Hygiena Mexico, S.A. de C.V.

Calle 3 Anegas 409 Bodega 5, Col. Nueva Industrial
Vallejo, Delegación Gustavo A. Madero, C.P. 07700,
CDMX, México.
+52 (55) 5281-4108 y 5281-4146

International:

Hygiena International

8, Woodshots Meadow
Watford, Hertfordshire
WD18 8YU, UK
+44 (0)1923-818821

Hygiena (Shanghai) Trading Co., Ltd.

Rm.7K, No.518, Shangcheng Rd.
Pudong New District
Shanghai, China 200120
+86 21-5132-1081, +86 21-5132-1077,
+86 21-5132-1078

Hygiena Diagnóstica España S.L.

P. I. Parque Plata, Calle Cañada Real 31-35,
41900, Camas, Sevilla, Spain
+34 954-08-1276

www.hygiena.com

enquiries@hygiena.com