

Metodología analítica para la determinación de gluten en alimentos y bebidas basada en anticuerpo G12

Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Fiscalización y Control
INAL

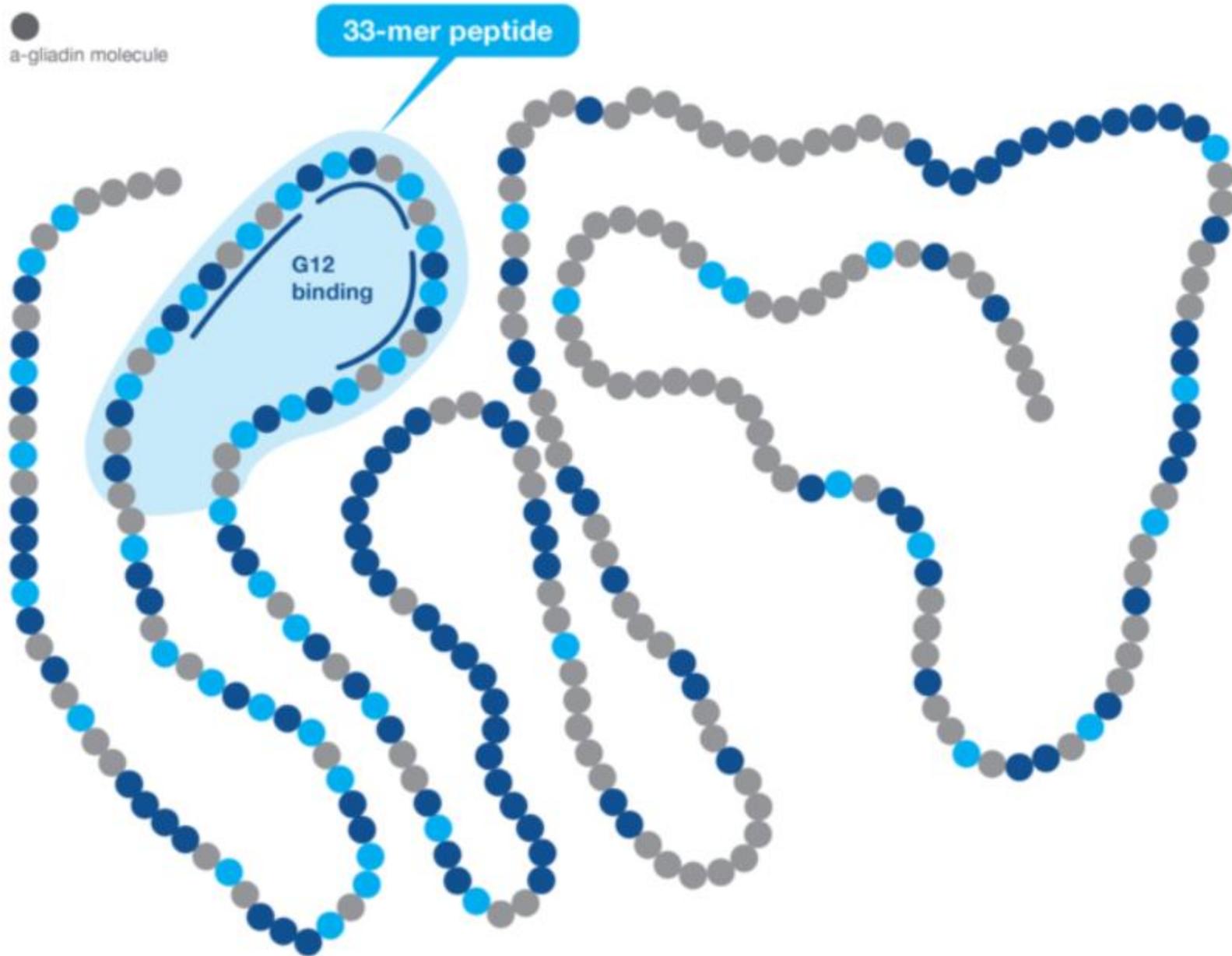
- ✓ Cuantificación de gluten de trigo, centeno, cebada y sus variedades cruzadas en diversos productos alimenticios
- ✓ El anticuerpo G12 utilizado se une a la secuencia QPQLPY del péptido de 33 unidades de la gliadina (33-mer) y secuencias relacionadas en centeno y cebada
- ✓ Algunos kits comerciales que actualmente están disponibles en el mercado son:

[AgraQuant \(Romer Labs\)](#) - Cuenta con validaciones oficiales de AACCC Internacional method 38-52.01 y AOAC official method analysis (OMA) 2014.03.

[GlutenTox sandwich ELISA G12 \(Higiene\)](#)

[GlutenTox Competitive ELISA G12 \(Higiene\)](#)

●
α-gliadin molecule



Qué secuencia peptídica reconoce el Ac G12?

- El anticuerpo G12 se generó contra el péptido de 33 unidades altamente inmunotóxico de la proteína α -gliadina que induce la enfermedad celíaca (Morón et al., 2008).
- El 33-mer es muy resistente a la degradación digestiva y por lo tanto es muy apropiado como marcador analítico.
- Más específicamente, la región de reconocimiento dentro del 33-mer es el epitopo hexamérico QPQLPY. Esta secuencia de reconocimiento se repite 3 veces dentro del péptido de 33 unidades de gliadina.
- El anticuerpo G12 reconoce prolaminas inmunotóxicas procedentes del trigo, cebada, centeno y también de algunas variedades de avena (Morón et al., 2008).

Kit AgraQuant® Gluten G12

Es un ELISA tipo sandwich para el análisis cuantitativo de residuos y trazas de gliadina en muestras de alimentos.

Las matrices pueden variar desde alimentos crudos hasta procesados.

También pueden utilizarse para validar procedimientos de limpieza o para ensayos de presencia de trazas alergénicas a través de aguas de enjuague o hisopos ambientales

Especificaciones:

Límite de detección (LOD): 2 ppm (2 mg/kg) gluten

Límite de cuantificación (LOQ): 4 ppm (4 mg/kg) gluten

Rango de cuantificación: 4 – 200 ppm (4 - 200 mg/kg) gluten

Formato de placa: 96 pocillos

Tiempo de ensayo: preparación de muestras – 120 minutos (aprox.)

Ensayo: tiempo total de incubación - 60 minutos



Kits GlutenTox® ELISA G12

Es un ensayo sandwich ELISA cuantitativo está diseñado para la determinación de la fracción inmunotóxica del gluten en muestras de alimentos.

Se utiliza generalmente para detección a concentraciones muy bajas. No presenta reactividad cruzada.

- Límite de Cuantificación (LOQ)= 1.6 ppm (gluten)
- Rango de cuantificación: 1.6 - 800 ppm de gluten
- Resultados en 1.5 horas



El GLUTENTOX® ELISA Competitivo G12, está diseñado para analizar una amplia gama de muestras hidrolizadas. No presenta reactividad cruzada.

- Límite de Cuantificación (LOQ)=3 ppm (gluten)
- Rango de cuantificación: 6.25 - 200 ppm de gluten
- Resultados en 1.5 horas

Incorporación de Laboratorio privado a la Red Federal de Laboratorios de Alimentos con la metodología acreditada por el OAA.

Propuesta: realizar una auditoría a fin de generar evidencia para evaluar el desempeño de la metodología y proponer su inclusión en el CAA.

➤ **EVALUACIÓN DOCUMENTAL**

- ✓ AOAC Official Method 2014.03 – Gluten in Rice Flour and Rice-Based Food Products. G12 Sandwich ELISA.
- ✓ Characterization of G12 Sandwich ELISA, a Next-Generation Immunoassay for Gluten Toxicity.
- ✓ Comparison of R5 and G12 Antibody-Based ELISA Used for the Determination of the Gluten Content in Official Food Samples.
- ✓ Procedimiento Técnico y Procedimiento de Validación.

➤ **AUDITORIA IN SITU**

- ✓ Ejecución del ensayo ELISA basado en G12
- ✓ Se evidenció la conformidad de los resultados obtenidos. No se evidenciaron desvíos.

Aclaraciones consulta pública



La determinación de gluten en alimentos realizada por laboratorios oficiales es la que especifica el CAA (Enzimoimmunoensayo ELISA R5 Méndez).

Esta puede ser de tipo sándwich o competitivo dependiendo del tipo de matriz a analizar (para alimentos fermentados o sometidos a hidrólisis el método que corresponde utilizar es el competitivo).

Ambos métodos se encuentran reconocidos como Official Method AOAC 2012.01 y 2015.05

El método de ensayo ELISA R5 es la metodología de referencia establecida en el Art. 1383 del CAA y recomendada por la Norma CODEX STAN 118-79.

Existen diferentes empresas y marcas que comercializan kits que cumplen con este formato.

anmat



Ministerio de Salud
Argentina

Muchas gracias!