BioSystems

| COD 14206 10 tests |
|---|
| Reactivos para la determinación de gluten en muestras de alimentos |
| Solo para uso *in vitro* en el laboratorio |

# GLUTEN R5 (alimentos) flow through

INMUNOENSAYO EN NITROCELULOSA

## INFORMACIÓN GENERAL

El gluten es la parte mayoritaria de la fracción proteica de los cereales. Debido a sus propiedades físico-químicas y su bajo precio, el gluten no solo está presente en los productos a base de cereales, sino también en otros alimentos como embutidos y helados y en medicamentos y cosméticos como aglutinante y espesante.

Para algunos individuos, el gluten produce un efecto patológico (enfermedad celiaca). La enfermedad es debida a que las proteínas tóxicas presentes en el gluten de los cereales dañan las áreas absortivas del intestino delgado. Estos individuos deben llevar una dieta estricta libre de gluten. En la Unión Europea, se ha establecido un límite máximo de 20 ppm de gluten para los alimentos que declaran "sin gluten" en la etiqueta, y de 100 ppm de gluten para alimentos que declaran "muy bajo en gluten". Se precisan sistemas con la sensibilidad adecuada para poder detectar trazas de gluten en los productos alimenticios.

## USO PREVISTO

El Gluten R5 (alimentos) Flow Through Test es un inmunoensayo sobre nitrocelulosa para el cribado de gluten en muestras de alimentos. Este ensayo cualitativo utiliza el anticuerpo monoclonal Mendez R5 altamente específico que permite detectar la presencia de bajos niveles (mg/Kg = ppm) de gluten de cereales en las materias primas alimentarias, alimentos parcialmente elaborados y muchos productos alimenticios terminados. La prueba puede ser realizada en pequeños laboratorios y por usuarios que no son técnicos.

## CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

El kit contiene 10 bolsas, cada una con:

**Extraction Solution** (Solución de Extracción). 1 tubo con solución amarilla.

**Diluent** (Diluyente). 1 tubo con solución incolora.

**Visualisation Solution** (Solución de Visualización). 1 tubo con solución rosada.

**Scoop** (Cucharilla).

**Spin tube** (Tubo de centrífuga).

**Pipette** (Pipeta). Para 150 µL.

**Cotton bud** (Bastoncillo con algodón).

**Test Unit** (Unidad del Test). En una bolsa protectora de aluminio.

## CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8 ºC. Los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas o de turbidez que no se redisuelve calentando ligeramente.
- Unidad del Test: roturas en el sobre contenedor, presencia de manchas en la membrana antes de utilizar. Usar solo si el desecante que hay en la bolsa de aluminio muestra color amarillo/verde pálido.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los componentes están listos para su uso.

## PRECAUCIONES

- Los componentes no contienen aditivos/conservantes que sean tóxicos o perjudiciales y son completamente seguros si se utilizan tal como se describe en estas instrucciones.
- No utilizar componentes caducados ni mezclar componentes de distintos lotes.
- Una vez abierta la bolsa protectora de aluminio, utilizar la Unidad del Test en el mismo día.

## TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Debe obtenerse una muestra homogénea y representativa del compuesto.

1. Los **polvos finos, harinas, pastas suaves y líquidos** no necesitan ninguna preparación.
2. **Muestras de alimentos no procesados**: cortar finamente, triturar o moler la muestra de alimento para obtener una consistencia homogénea. Cuanto menor sea el tamaño de partícula, más eficiente será la extracción y más exacto y consistente el resultado del ensayo.

## PROCEDIMIENTO

1. Abrir la bolsa y sacar los componentes. Mezclar por inversón varias veces los tres tubos que contienen líquidos (Notas 1 y 2).
2. Pesar 0,50 g (± 0,02 g) de muestra dentro del tubo de la Solución de Extracción. Utilizar el extremo plano, por donde se coge la cucharilla, para añadir el polvo. Alternativamente, llenar con muestra la cazoleta de 0,5 mL de la cucharilla (0,25-0,50 g, dependiendo de la densidad de la muestra). Si se trata de un polvo fino, asegurarse de que se encuentra bien comprimido en la cazoleta. Añadir la muestra así medida a la Solución de Extracción invirtiendo la cucharilla en la boca del tubo y golpeándola suavemente hasta verter todo su contenido sobre el líquido (Nota 3). Tapar el tubo con su tapón.
3. Mezclar el extracto agitando vigorosamente el tubo durante al menos 2 minutos para obtener la máxima recuperación del gluten de la muestra (Nota 4). Dejar el tubo en reposo durante al menos 10 minutos para facilitar la extracción del gluten. Agitar de nuevo el tubo vigorosamente durante al menos 2 minutos.
4. Dejar reposar durante 20 minutos para sedimentar la muestra sólida y obtener una capa sobrenadante clara. Alternativamente, centrifugar el tubo directamente. También puede utilizarse el tubo de centrífuga con el extracto hasta dos tercios de su capacidad. Cerrarlo con su tapón y centrifugar a 2.000 x g o más durante unos 5 minutos.
5. Llenar la pipeta con el extracto de muestra de color amarillo. Para ello, apretar el bulbo, poner el extremo de la pipeta en el extracto, debajo de una posible capa de grasa, y soltar entonces la presión en el bulbo hasta que la solución rebose el tubo medidor hacia el bulbo inferior.
6. Destapar el tubo de Diluyente. Añadir el contenido de la pipeta al tubo de Diluyente presionando el bulbo. Tapar el tubo de Diluyente y mezclar suavemente invirtiendo el tubo varias veces.
7. Abrir la bolsa de aluminio y sacar la Unidad del Test. En caso necesario, marcarla con datos sobre la muestra.
8. Destapar el tubo de Diluyente que contiene el extracto del alimento. Despacio y con cuidado verter su contenido en el pocillo de la Unidad del Test.
9. Dejar que el líquido sea completamente absorbido en la Unidad. Esto debe tardar 3-5 minutos (Nota 5).
10. Utilizando la parte final de la torunda de algodón del bastoncillo, limpiar suavemente la parte interior de la base del pocillo. Entonces, usando la parte lateral de la torunda limpiar también las paredes laterales y el borde superior del pocillo.
11. Abrir el tubo con tapón azul que contiene la Solución de Visualización. Verter el líquido despacio y con cuidado en el pocillo de la Unidad. Dejar que el líquido sea completamente absorbido en la Unidad. Esto debe tardar 2-3 minutos.

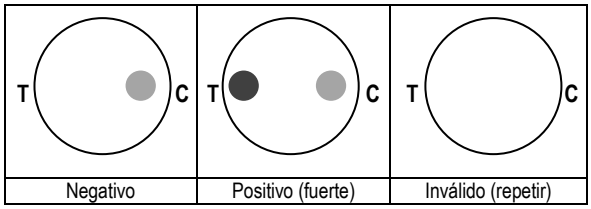
## LECTURA

Observar el resultado de inmediato con buena luz y a la distancia habitual de lectura.

**Resultado negativo.** Aparece una mancha redonda de color solamente en el lado "C" del pocillo.

**Resultado positivo.** Aparecen 2 manchas redondas de color: una en el lado "T" y otra en el lado "C" del pocillo. Una muestra que contenga 20-100 mg/kg de gluten debería dar una mancha "T" más débil o similar en intensidad de color que el de la mancha "C". Cuanto más oscura sea la mancha "T", mayor es la concentración de gluten presente en la muestra ensayada (Nota 6).

**Resultado inválido.** Ausencia de mancha de color en el lado "C". Repetir el ensayo con una nueva bolsa.



Se recomienda que se realicen pruebas de laboratorio adicionales de las muestras utilizando ensayos con mayor sensibilidad (por ejemplo: Biosystems Gluten ELISA kit, cod 14119) para confirmar los resultados y asegurar que los procesos para obtener alimentos libres de gluten son efectivos.

## CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

- Valor discriminante (cut-off): 4 mg/kg (ppm) (Nota 7)
- Especificidad: El test utiliza como reactivo anticuerpos monoclonales Mendez R5 que detectan predominantemente las fracciones alpha, gamma y omega de gliadinas, hordeinas o secalinas como marcadoras de gluten de diversas procedencias: trigo, centeno, trigo duro, kamut, espelta y (con menor actividad) cebada. El reactivo ha sido probado en el presente formato frente a un panel de muestras del ensayo de aptitud FAPAS conteniendo materias primas sin gluten, mezclas para hornear y productos terminados (tanto de derivados de trigo como libres de trigo).

## VALIDACIÓN

Un informe sobre Validación para el cliente está disponible bajo solicitud. Las prestaciones del ensayo han sido evaluadas por comparación con métodos confirmatorios de laboratorio ELISA.

## NOTAS

1. Si la Solución de Extracción no es completamente clara, calentar el tubo ligeramente en la mano o con agua caliente para redisolver.
2. Si se realiza más de un ensayo, se recomienda escribir la identificación o información de la muestra sobre los tubos de Extracción y Diluyente.
3. Para salsas y otros líquidos viscosos la cazoleta de la cucharilla puede romperse atrapándola en el tubo con el tapón y doblando el mango hacia abajo hasta que se rompa y caiga la cazoleta en el líquido. Agitar enérgicamente para dispersar la muestra adherida a la cazoleta.
4. Es más dificil de extraer el gluten de los alimentos procesados que de simples harinas o pastas. Para mejorar el proceso de extracción, calentar el tubo a 55-60 ºC en un bloque calefactor o en agua caliente y dejarlo 15 minutos, agitando ocasionalmente.
5. Si el extracto es particularmente viscoso o contiene partículas, se absorbe más lentamente. En ese caso, pasar al siguiente paso después de 8-10 minutos. Para ello, eliminar el líquido no absorbido vertiéndolo o utilizando papel absorbente.
6. Las muestras que contienen muy elevadas concentraciones de gluten teñirán de rosado todo el fondo del área de la prueba, generalmente de forma irregular. En estos casos debe poderse observar también una mancha fuertemente coloreada en el lado “T” y otra mancha coloreada en el lado “C”. Si se observa el fondo coloreado de rojo y no se observa la mancha en el lado “C”, repetir el ensayo añadiendo solo 2 gotas de extracto con la pipeta para comprobar si la muestra tiene un contenido muy alto de gluten.
7. Límite de detección (LOD) determinado usando el material de referencia de gliadina del Prolamin Working Group (PWG). El LOD de GFT-R5 son pocos microgramos por gramo de alimento, pero varía significativamente dependiendo de la composición y del procesamiento (particularmente térmico) del material que se está analizando. El LOD también depende de, entre otros factores: el procedimiento de muestreo; la preparación/homogeneidad de la muestra; la integridad estructural del gluten del cereal; su solubilidad durante la extracción y la reactividad en el ensayo. Se recomienda que se evalue la funcionalidad de GFT-R5 mediante la validación por comparación con métodos cuantitativos.



BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)
www.biosystems.global