

Producción de anticuerpos antigliadinas de conejo y su potencial utilidad en la detección de gliadinas en alimentos.

Autores: Asero E. Goyeneche M.A. y Margheritis A.I.

Laboratorio Integral de Análisis de gliadinas en alimentos (LIAGA). Fac. de Agronomía. UNICEN. Azul. Bs.As.
Argentina

E-mail: analiarn@azul.faa.unicen.edu.ar

La celiaquía es una enfermedad inflamatoria autoinmune que afecta la mucosa del intestino delgado de individuos genéticamente susceptibles en aproximadamente 1% de la población mundial desencadenada por la ingesta del gluten proveniente de los cereales trigo, avena, centeno y cebada (TACC). El único tratamiento actualmente es la exclusión del gluten de la dieta de por vida, y con ello se logra la remisión de los síntomas y se evitan complicaciones a largo plazo. El análisis para detección de gliadinas debe realizarse en todas las matrices alimentarias, ya que puede existir TACC aún en alimentos insospechados por contaminación cruzada o por los aditivos que contienen. La metodología de análisis oficial en Argentina para determinar gliadinas en alimentos es el inmunoensayo ELISA competitivo secuencial (ECS). Debido a que los anticuerpos policlonales utilizados en este ensayo no son comerciales es necesario obtenerlos y poner a punto el ECS. Los objetivos del trabajo fueron producir anticuerpos policlonales antigliadinas específicos en conejos, evaluar su aplicación en el ECS por comparación de ensayos con anticuerpos de referencia (Laboratorio de Investigaciones de Sistema Inmune -LISIN- de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP) y analizar la aptitud de un panificado de arroz desarrollado por nosotros. En el marco de un Convenio Específico con la Escuela Secundaria Agraria N° 8115, localidad de Azul, se utilizaron 4 conejos de su criadero y a cada uno se le realizó 5 inoculaciones con una suspensión de gliadina estándar, de acuerdo con protocolo certificado por la Comisión de Bienestar Animal de la UNICEN. Se realizó la titulación de anticuerpos antigliadinas en los sueros obtenidos y posteriormente se llevó a cabo una curva de calibración para el ECS (logit p vs. log C de gliadina), en iguales condiciones que los ensayos con los anticuerpos de referencia. Se hicieron tres ensayos, las curvas por duplicado y las muestras por sextuplicado. El título de los anticuerpos fue entre 1:900 y 1:2700 y se mantuvo estable hasta la última inmunización. Las curvas de calibración con los anticuerpos obtenidos respecto a los de referencia presentaron buena linealidad en amplio rango de concentraciones de 0.6 a 10 ng/mL con un R^2 superior a 0,90 y una sensibilidad menor pero aceptable. La precisión del ensayo fue evaluada en las condiciones optimizadas descriptas previamente. La repetibilidad determinada mediante los tres ensayos diferentes mostró coeficientes de variación menores a 4%. En todos los casos la mayor dispersión se encontró en valores menores a 80 ng/mL. Respecto a la reproducibilidad el coeficiente de variación del logit p fue menor a 5 %. El contenido de gliadinas presente en el pan de arroz con los anticuerpos desarrollados fue menor a 10 mg/mL siendo similar al valor obtenido con los de referencia, resultando el producto libre de gluten, apto para su consumo por celíacos según el rango permitido por el Código Alimentario Argentino.

Palabras clave: *Celiaquía, ELISA competitivo secuencial, pan de arroz.*