

GlutenTox® Pro

Kit de detecção de glúten para
alimentos, bebidas e superfícies de
trabalho



GlutenTox[®]•Pro

Conteúdo

1. Finalidade	2
2. Introdução	2
3. Base de ensaio.....	2
4. Materiais fornecidos (para 25 testes)	3
5. Materiais úteis, mas não fornecidos	3
6. Condições de armazenamento	3
7. Precauções	3
8. Advertências e limitações	3
9. Alimentos.....	4
9.1. Preparação e análise das amostras.....	4
9.2. Interpretação dos resultados.....	7
10. Análise da superfície	7
10.1. Preparação e análise de amostras	7
10.2. Interpretação dos resultados.....	8
11. Controle de qualidade.....	8
12. Características analíticas	8
12.1. Sensibilidade	8
12.2. Especificidade	9
12.3. Validação interna.....	9
13. Propriedade intelectual	9
14. Referências	9
Apêndice 1	10
Apêndice 2	11

1. Finalidade prevista

O GlutenTox® Pro é um teste rápido e fácil de usar para a detecção de glúten*, prejudicial para quem sofre de doença celíaca; em alimentos** e superfícies**. (As matrizes alimentares e superfícies ambientais aprovadas pela AOAC estão listadas no Apêndice 1). Este kit é recomendado para consumidores, cozinhas comerciais e indústria e inclui a possibilidade de escolher diferentes níveis de detecção de glúten de acordo com os requisitos do usuário final.

* Não se aplica a fontes hidrolisadas de glúten.

** Matrizes validadas de acordo com os protocolos AOAC “Performance Tested Methods” (PTM):

- Matrizes alimentares: Farinha de arroz, pão, aveia em flocos, patê e iogurte.
- Superfícies ambientais: aço inoxidável, borracha, plástico, madeira pintada para uso alimentar e cerâmica selada.

2. Introdução

A doença celíaca é uma doença que danifica o intestino delgado, causando a atrofia das vilosidades intestinais, o que interfere na absorção de nutrientes como proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais e vitaminas. Esta doença é causada por uma resposta inadequada do sistema imunológico ao glúten (uma mistura de proteínas encontradas nos cereais) do trigo, da cevada, do centeio e, em menor grau, da aveia [ref. 1 e 2], levando a diarreia, deficiências vitamínicas e minerais, anemia e ossos finos (osteoporose). A doença celíaca afeta pessoas de todas as idades.

Atualmente, o único tratamento para quem sofre de doença celíaca é uma dieta rigorosa sem glúten por toda a vida, o que apresenta grandes dificuldades, pois o glúten, além de estar presente em muitos alimentos, também pode ser encontrado em aditivos e conservantes alimentares.

De acordo com a Comissão do Codex Alimentarius e o Regulamento (CE) n.º 41/2009 relativo à composição e à rotulagem dos alimentos adequados para pessoas com intolerância ao glúten, os alimentos podem ser considerados “sem glúten” se o seu teor de glúten não exceder 20 partes por milhão (ppm*).

* Miligramas de glúten por quilo de alimento.

3. Base do teste

O GlutenTox® Pro é um teste imunocromatográfico (fluxo lateral) para detecção de glúten em alimentos com diferentes composições e níveis de processamento, desde matérias-primas até produtos acabados. Além disso, pode ser utilizado para monitorar a limpeza das áreas de produção de alimentos por meio da análise de superfícies, um requisito essencial para prevenir o risco de contaminação cruzada no produto final.

O procedimento do teste envolve uma etapa de extração, realizada com um método simples e aplicável a todos os tipos de alimentos. A etapa de detecção baseia-se na reação entre os peptídeos imunitóxicos semelhantes ao 33mer do glúten e os conjugados coloridos (anticorpo monoclonal anti-gliadina 33mer / microesfera vermelha) previamente fixados na tira [ref. 3 e 4]. Esse complexo se desloca por capilaridade ao longo da tira. Quando o resultado é positivo, surge uma linha VERMELHA na região de resultados. A ausência dessa linha indica resultado negativo. Independentemente da presença ou ausência de glúten, a mistura do conjugado percorre a tira até a região de controle, onde, caso o teste tenha sido executado corretamente, aparece uma linha AZUL (linha de controle), formada pelo acúmulo de microesferas azuis também presentes na tira.

Esses testes rápidos são especialmente úteis no monitoramento de rotina do glúten, garantindo que os produtos atendam a um programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) e assegurando a rotulagem adequada. Além disso, permitem a tomada de decisões ágeis e a aplicação de medidas corretivas em situações de risco de contaminação ao longo da cadeia de produção.

4. Materiais fornecidos (para 25 testes)

- GlutenTox® Pro stick (x25) em um tubo.
- Pipeta de plástico (x50).
- Colheres de plástico descartáveis (x25).

- Frasco com tampa amarela com solução de extração (x25).
- Frasco com tampa azul com solução de diluição (x25).
- Folheto com instruções.

5. Materiais úteis para o teste, mas não fornecidos

- Almofariz ou qualquer outro utensílio para moer a amostra.
- Luvas descartáveis livres de pó.

- Balança (precisão 0,1 g).
- Álcool (etanol).
- Relógio (de preferência um cronômetro).

6. Condições de armazenamento

O produto deve ser armazenado a uma temperatura entre 15 e 25 °C durante todo o prazo de validade do kit. Para garantir o desempenho ideal do teste, recomenda-se manter o produto em sua embalagem original e utilizá-lo antes da data de validade impressa no tubo das tiras.

AVISO: O tubo com as tiras não deve ser aberto até o momento da utilização. Todos os componentes do kit são totalmente descartáveis no lixo comum ou recicláveis, quando apropriado.

7. Precauções

- Para evitar contaminações que interfiram na análise, recomenda-se o uso de luvas descartáveis livres de pó. Se você não tiver luvas descartáveis, lave bem as mãos antes do teste.
- Depois de retirar a tira de GlutenTox® Pro do tubo, ela deve ser usada o mais rápido possível em condições de limpeza rigorosas. Feche o tubo depois.
- Não utilize nenhum material do kit após a data de validade.
- Não beba nenhuma solução (líquido) do kit (a solução de extração contém álcool [etanol]).
- **Mantenha fora do alcance das crianças.**

8. Aviso e limitações

- Em certos tipos de amostras, o glúten pode ser extraído com menor eficiência e, portanto, recomenda-se trabalhar em condições de sensibilidade máxima (10 gotas do extrato no frasco de diluição com tampa azul) para garantir um limite de detecção de pelo menos 10 ppm. Essas amostras são as seguintes:
 - Alimentos que contenham ingredientes (até 70%) com altas concentrações de polifenóis ou taninos (por exemplo, chocolate, chá preto, café, vinho, frutas vermelhas, legumes como grão-de-bico ou lentilha, etc.)
 - Amostras com antioxidantes, como vitaminas A, E e C.
 - Alimentos tratados termicamente com temperaturas acima de 180 °C.
- Em matrizes extensivamente hidrolisadas, como cerveja, xaropes de glicose ou massas de fermentação natural, o teor de glúten da amostra pode ser subestimado.

NOTA IMPORTANTE!

- **Em matrizes hidrolisadas, verificou-se que pelo menos 50% do teor total de glúten presente na amostra é detectado. Portanto, se for obtido um resultado negativo trabalhando em condições de sensibilidade máxima (com 10 gotas), pode-se garantir que o alimento contém menos de 10 ppm de glúten e, portanto, pode ser considerado “sem glúten” adequado para celíacos, de acordo com a regulamentação vigente.**
- Em algumas amostras de alimentos com teor muito elevado de polifenóis e taninos — ou seja, quando o componente principal (até 70%) é chocolate, chá preto, café, vinho, frutas vermelhas, ou leguminosas como grão-de-bico e lentilhas — o processo de extração pode ser insuficiente e, consequentemente, subestimar a quantidade de glúten presente na amostra. Nesses casos, recomenda-se a utilização do GlutenTox® Sticks Plus*.
- Amostras do tipo goma podem ser difíceis de analisar devido à pasta espessa que se forma quando misturadas com a solução de extração fornecida no Kit de Teste GlutenTox® Pro. Por favor, peça orientação ao fornecedor do kit.

*Para mais informações, entre em contato com o seu fornecedor.

9. Alimentos

9.1. Preparação e análise de amostras de alimentos

NOTA IMPORTANTE!

- **Antes de utilizar o kit, limpe os utensílios e as áreas que entrarão em contato com a amostra com água e sabão e enxágue bem. Após a limpeza, é altamente recomendável limpá-los com um pano limpo umedecido com álcool. Os materiais incluídos no kit estão prontos para uso e podem ser descartados após o uso.**
- 9.1.1. Se a amostra for líquida, agite-a vigorosamente para homogeneizar completamente antes da amostragem. Se a amostra for semilíquida ou pastosa, remova-a com a ajuda de um palito ou colher limpa para misturá-la e obter uma mistura homogênea. Se a amostra for sólida, triture-a o máximo possível usando um almofariz e/ou um moedor/picador de carne doméstico que deve estar perfeitamente limpo. Se a amostra de alimento for muito dura (doces, nougat, etc.), fragmente-a com uma faca ou um pequeno martelo para obter uma trituração eficiente.

NOTA IMPORTANTE!

- **Se um alimento tiver várias partes, certifique-se de coletar uma amostra representativa de cada parte e prepare uma amostra final homogênea. Se não o fizer e o glúten estiver distribuído de forma desigual no alimento, poderá obter um falso negativo.**
- 9.1.2. Use a colher fornecida com quantidades niveladas de amostra, seguindo a Tabela 1. Caso você tenha uma balança adequada⁽¹⁾, pese 1 grama da amostra. Se a amostra for líquida, use uma colher nivelada ou retire 1 mililitro do líquido.

⁽¹⁾ O uso de uma balança aumenta a precisão do processo de análise.

Tabela 1. Quantidade de amostra dependendo do tipo de alimento

Tipo de alimento	Exemplos	Colher
Farinha, pós finos	Farinha de milho, farinha de arroz*, leite em pó, especiarias, aveia em flocos*	
Migalhas finas	Pão*, biscoitos, bolos, snacks, etc.	
Líquidos, bebidas e molhos	Água, água de enxágue, leite, suco, leite condensado, iogurte*, sopa, molho, creme, etc.	
Carne, peixe e charcutaria	Carne, peixe, embutidos, morcela, patê*, carne e peixe enlatados, etc.	

* Matrizes alimentares aprovadas pela AOAC.

- 9.1.3. Abra um **frasco de extração com tampa amarela**. Adicione a amostra (conteúdo da colher, ou 1 grama, ou 1 mililitro) ao **frasco de extração com tampa amarela**.
- 9.1.4. Feche o frasco, agite vigorosamente durante pelo menos 2 minutos e deixe repousar durante cerca de 5 minutos para que quaisquer sólidos assentem no fundo do tubo. O tempo de repouso dependerá do tipo de amostra.
- 9.1.5. Abra um **frasco de diluição com tampa azul**. Usando uma pipeta plástica descartável, retire aproximadamente 1 mL da amostra extraída do **frasco de extração com a tampa amarela**. Adicione **10, 4, 2 ou 1 gotas** da solução extraída ao **frasco de diluição com a tampa azul**, de acordo com o seu limite/limiar de detecção necessário (consulte a Tabela 2).

Tabela 2.

Misture suavemente por pelo menos 15 segundos

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

- 9.1.6. Usando uma pipeta plástica descartável nova, adicione **10 gotas** do **frasco de diluição com tampa azul** na própria tampa azul invertida. Coloque o lado de algodão da tira em contato com o líquido presente na tampa azul até que todo o líquido seja absorvido. Deixe repousar na tampa azul.
- 9.1.7. **Aguarde 10 minutos** para ver o resultado final (se houver uma alta concentração de glúten, o resultado pode aparecer em menos de 1-2 minutos).

NOTA IMPORTANTE!

- **Aguarde 10 minutos para ler o resultado. Não deixe a tira por mais tempo do que o indicado, pois os resultados podem variar.**

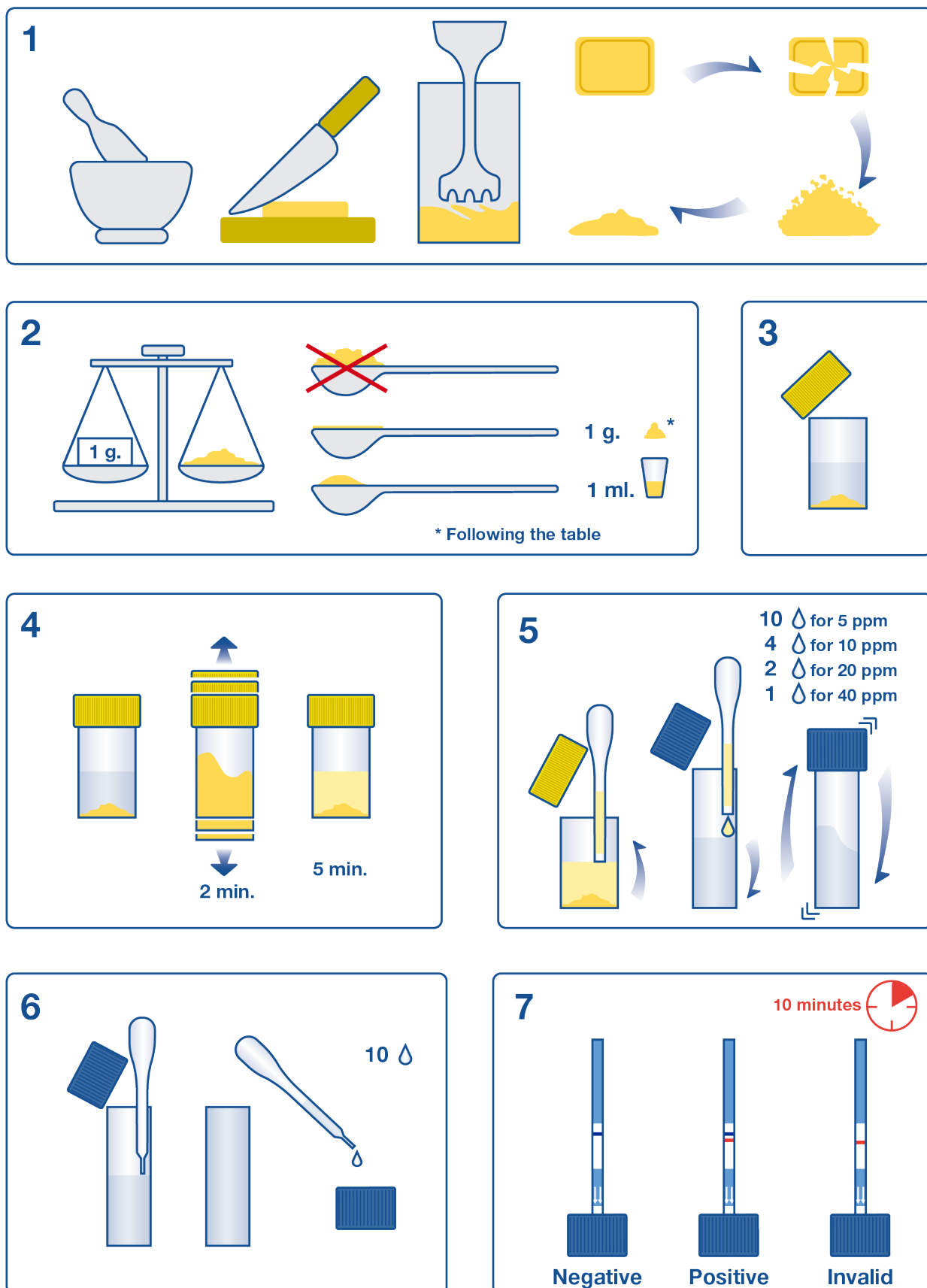


Figura 1. Preparação e análise das amostras.

9.2. Interpretação dos resultados d

Negativo: Uma única linha AZUL (linha de controle) aparece na parte central da tira (zona de controle).

Positivo: Além da linha de controle (AZUL), aparece uma linha VERMELHA (linha de resultado) na zona de resultado. A intensidade da linha vermelha na zona de resultados varia de acordo com a concentração de glúten presente na amostra.

O limiar de detecção depende do número de gotas (10, 4, 2 ou 1 gotas) adicionadas ao **frasco de diluição com tampa azul** na etapa 9.1.5. (ver Tabela 3).

Tabela 3. Interpretação dos resultados ⁽²⁾

		Limite de detecção			
		10 gotas	4 gotas	2 gotas	1 gota
Resultado do teste	Positivo	> 5 ppm	> 10 ppm	> 20 ppm	> 40 ppm
	Negativo	< 5 ppm	< 10 ppm	< 20 ppm	< 40 ppm

⁽²⁾ Os resultados são qualitativos para o limite de detecção.

Inválido: A linha de controle (AZUL) não aparece, independentemente de a linha de resultado aparecer (VERMELHA). As causas mais comuns para o aparecimento de um resultado inválido são: quantidade insuficiente de amostra, procedimento incorreto ou deterioração dos reagentes. No caso de resultados inválidos, é necessário repetir o experimento com um novo teste, sempre seguindo o procedimento correto. Se o problema persistir, entre em contato com o fornecedor e interrompa o uso do teste.

O objetivo deste teste é para triagem. Um resultado positivo pode exigir confirmação ou testes adicionais.

10. Análise de superfície

10.1. Preparação e análise da superfície

10.1.1. Friccione o lado com algodão da tira contra uma superfície de pelo menos 16 cm² e/ ou em uma linha de 40 cm. A área selecionada para análise deve ser representativa da área total de interesse.

10.1.2. Abra um **frasco de diluição com tampa azul** e coloque a tampa invertida sobre uma superfície limpa. Use uma pipeta plástica descartável nova para colocar **10 gotas** do **frasco de diluição na tampa azul**. Coloque o lado com algodão da tira em contato com o líquido presente na tampa azul até que todo o líquido seja absorvido. Deixe repousar na tampa azul.

10.1.3. **Aguarde 10 minutos** para ver o resultado final (se houver uma alta concentração de glúten, o resultado pode aparecer em menos de 1-2 minutos).

NOTA: As superfícies ambientais aprovadas pela AOAC estão listadas no Apêndice 1.

NOTA IMPORTANTE!

- **Aguarde 10 minutos para ler o resultado. Não deixe a tira por mais tempo do que o indicado, pois os resultados podem variar.**

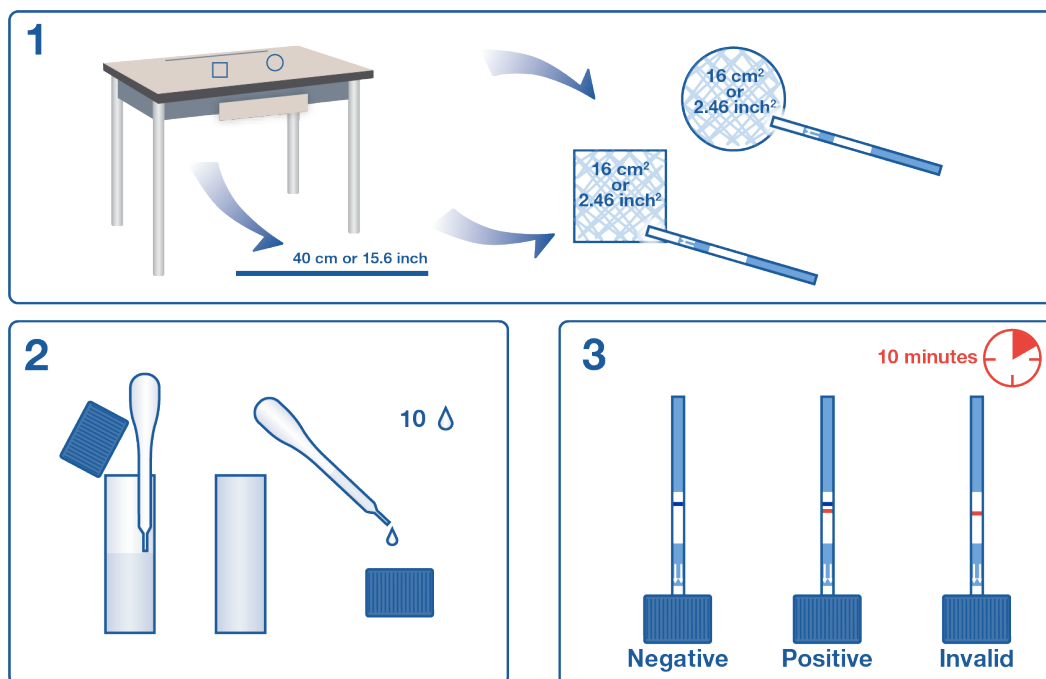


Figura 2. Procedimento para análise de superfícies.

10.2. Interpretação dos resultados

Negativo: Uma única linha AZUL (linha de controle) aparece na parte central da tira (zona de controle).

Positivo: Além da linha de controle (AZUL), aparece uma linha VERMELHA (linha de resultado) na zona de resultado.

A intensidade da linha vermelha na zona de resultados varia em função da concentração de glúten presente na amostra.

Inválido: A linha de controle (AZUL) não aparece, independentemente de a linha de resultado (VERMELHA) aparecer ou não. Aplicam-se as mesmas considerações do parágrafo 9.2 sobre resultados inválidos do teste.

11. Controle de qualidade

O controle interno está incluído no teste. A linha azul que aparece na tira é o controle interno do teste, que verifica se o volume da amostra é suficiente e se o procedimento seguido é adequado.

12. Características analíticas

12.1. Sensibilidade

Alimentos

O limite de detecção do ensaio é de 5 ppm, trabalhando com sensibilidade máxima (10 gotas). Este limite de detecção é sempre atingido em amostras simples, tais como matérias-primas, alimentos com baixo grau de processamento e alimentos não processados termicamente. A alta sensibilidade do teste está em total conformidade com as diretrizes do Codex Alimentarius e com o Regulamento (CE) 41/2009, que estabelece um limite de 20 ppm para considerar o alimento como “sem glúten”.

Análise de superfície

O resultado obtido com o teste indica a presença ou ausência de glúten na superfície analisada; não pode ser extrapolado para qualquer valor de glúten em ppm.

Resultados positivos em uma superfície de 16 cm² ou uma linha de 40 cm indicam uma detecção mínima de 10 ng/cm² de glúten na superfície [ref. 5].

12.2. Especificidade

Este teste pode detectar especificamente a presença da fração tóxica (33mer) das prolaminas do trigo (gliadina), centeio (secalina), cevada (hordeína) e também variedades de aveia [ref.2] (avenina) que podem ser tóxicas e, portanto, prejudiciais para pacientes celíacos. Além disso, o teste não apresenta reação cruzada com amostras que contenham arroz, milho, soja, trigo sarraceno, gergelim, milho, teff, quinoa e amarantho.

Nota: Para estimar o glúten numa amostra com este teste, o teor de prolamina foi ajustado multiplicando por um fator igual a 2.

12.3. Validação interna da

Além das matrizes alimentares e superfícies ambientais validadas de acordo com os protocolos AOAC Performance Tested Methods (PTM), listados no Apêndice 1, para garantir a capacidade do teste de analisar uma ampla gama de amostras de diferentes tipos (alimentos, bebidas, produtos de higiene oral), foram testadas diferentes amostras comerciais. Após analisar as amostras com o GlutenTox[®] Pro em todos os tipos de matrizes (ver Apêndice 2), os resultados foram satisfatórios e consistentes com o método validado pelo Codex Alimentarius, o que demonstra que o teste pode ser utilizado numa vasta gama de amostras.

13. Propriedade intelectual

Os imunorreagentes utilizados neste kit são comercializados sob licença exclusiva para material biológico do Conselho Nacional de Pesquisa da Espanha (CSIC).

14. Referências

1. SHAN L., et al.; "Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue"; Science; 2002; 297: 2275-9.
2. COMINO I., et al.; "Diversidade na imunogenicidade potencial da aveia: base para a seleção de variedades de aveia sem toxicidade na doença celíaca."; Gut; 2011; 60:915-922.
3. MORÓN B., et al.; "Detecção sensível de frações de cereais tóxicas para pacientes com doença celíaca usando anticorpos monoclonais contra um peptídeo imunogênico principal do trigo", Am. J. Clin. Nutr, 2008; 87:405-414.
4. MORÓN B., et al.; "Rumo à avaliação da toxicidade alimentar para pacientes celíacos: caracterização de anticorpos monoclonais contra um peptídeo imunogênico principal do glúten", PLoS ONE 2008; 3(5): e2294.
5. SÍGLEZ M.A., et al.; "Método de detecção de glúten em superfícies"; Alimentaria; 2010; 411:67-70.

Apêndice 1. Matrizes validadas de acordo com os protocolos AOAC Performance Tested Methods (PTM)

Grupo	Amostras testadas
Alimentos	Farinha de arroz, pão, aveia em flocos, patê e iogurte
Superfícies ambientais	Aço inoxidável, borracha, plástico, madeira pintada com tinta própria para uso alimentar e cerâmica selada.

Anexo 2. Amostras testadas para validação interna do GlutenTox® Pro da Higiene

Grupo	Amostras testadas
Farinha e sêmola	Farinha de milho, farinha de milho pré-cozida, sêmola de milho, farinha de arroz*, farinha de trigo sarraceno, aveia em flocos*
Produtos lácteos	Leite de vaca, leite com fibra solúvel, leite com cereais, iogurte natural ou aromatizado*, queijo para barrar, mistura de queijos ralados
Produtos assados e cereais	Torradas, palitos de pão*, biscoitos, biscoitos de chocolate, madeleines, bolos, flocos de milho, massas, panquecas de milho, bolos de arroz, bolos de espelta, snacks
Produtos à base de carne	Peru picado, frango picado, linguiça de peru, patê*, nuggets de frango, linguiça de porco, linguiça calabresa
Produtos da pesca	Bacalhau e pescada
Legumes	Mistura de alface, legumes fritos
Caldo, sopas, cremes e misturas secas	Caldo de legumes, sopa de arroz com frango, sopa de legumes desidratada, cubos de caldo, sopa de legumes, manteiga de amendoim
Molhos, temperos e condimentos	Molho de iogurte para salada, ketchup, molho de soja, molho para salada, alho em pó, páprica em pó, creme de leite
Açúcares	Açúcar refinado
Refeições e pratos preparados	Almôndegas com molho e ervilhas, ravioli de carne com massa de ovo, feijão cozido
Alimentos gordurosos	Azeite, óleo de girassol, manteiga, margarina, creme de leite
Alimentos ácidos	Molho de tomate, vinagre de vinho, vinagre de maçã, suco de limão
Bebidas e água	Água, água para enxaguar, leite, sucos de frutas, bebidas de soja, bebidas de arroz, bebidas de aveia, refrigerantes
Produtos de higiene oral	Pasta de dentes, enxaguante bucal

* Matrizes alimentares aprovadas pela AOAC.



Américas:

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

Hygiena Canadá
2650 Meadowvale Blvd, Unidade
14 Mississauga, Ontário L5N
6M5 1-833-494-4362 (ligação
gratuita)
ou 1-416-686-7962

Hygiena México, 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 e 5281-4146

Internacional:

Hygiena International 8,
Woodshots Meadow
Watford, Hertfordshire
WD18 8YU, Reino
Unido
+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, Sevilha, Espanha
+34 954-08-1276

www.hygiena.com
enquiries@hygiena.com