

vt

informe de vigilancia tecnológica

mi+d

vt
9

técnicas analíticas para la detección de gluten en alimentos

José Manuel González

Esther García

José Luis Fernández

Lara Gago

Javier Benito

www.madrimasd.org

círculo cib
de innovación en biotecnología
Madrid **madri+d**

CEIM
CONFEDERACIÓN EMPRESARIAL
DE MADRID - CEOE


Comunidad de Madrid
CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN
Dirección General de Universidades e Investigación



informe de vigilancia tecnológica

técnicas analíticas para la detección de gluten en alimentos

José Manuel González

Esther García

José Luis Fernández

Lara Gago

Javier Benito

www.madrimasd.org

cibt
círculo
de innovación en biotecnología
madri+d

CEIM
CONFEDERACIÓN EMPRESARIAL
DE MADRID - CEOE


Comunidad de Madrid
CONSEJERÍA DE EDUCACIÓN
Dirección General de Universidades e Investigación

Colección dirigida por:

José de la Sota Ríos

Colección coordinada por:

Fundación para el conocimiento madri+d
CEIM



El Círculo de Innovación en Biotecnología (CIBT) se enmarca dentro del IV Plan Regional de Investigación Científica e Innovación Tecnológica (IV PRICIT). El CIBT es una iniciativa de la Dirección General de Universidades e Investigación de la Comunidad de Madrid en el que participan el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y la Universidad Complutense de Madrid (UCM) que delegan la gestión del mismo en Parque Científico de Madrid (PCM).

El presente informe de Vigilancia Tecnológica ha sido elaborado a petición de la Asociación de Celiacos de Madrid.

Los autores agradecen la colaboración ofrecida por la comunidad científica y empresarial en la elaboración del presente Informe de Vigilancia Tecnológica, en concreto agradecen la colaboración prestada por Rafael Linares (Univ. Rey Juan Carlos), Ascensión Marcos y Esther Nova (Instituto del Frío, CSIC), Cristina Molina Rosell y Yolanda Sanz (IATA-CSIC) y en especial a las personas que han revisado el texto del informe:

- Manuel José Aguirre y Carolina Janer (Imbiosis)
- Manuela Márquez y Blanca Esteban (Asociación de Celiacos de Madrid)
- Eduardo Arranz. Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM-Universidad de Valladolid-CSIC)

Todos los derechos están reservados. Se autoriza la reproducción total o parcial de este informe con fines educativos, divulgativos y no comerciales citando la fuente. La reproducción para otros fines está expresamente prohibida sin el permiso de los propietarios del copyright.

- © De los textos: Los autores
- © De la colección «vt» y de la presente edición:
CEIM
Dirección General de Universidades e Investigación

Diseño: base12 diseño y comunicación s.l.

Ilustraciones: Los autores

Impresión: Elecé Industria Gráfica

Depósito Legal: M-18.501-2007

ISBN-13: 978-84-611-6460-8

- 5 RESUMEN EJECUTIVO
- 7 CAPÍTULO 1
Introducción
- 11 CAPÍTULO 2
Extracción y detección de gluten en alimentos
- 15 CAPÍTULO 3
Técnicas analíticas para la detección
de gluten en alimentos
- 3.1 Ensayo inmunoenzimático ELISA (PÁG. 17)
 - 3.2 Técnica de PCR (PÁG. 20)
 - 3.3 Técnica Western Blot (PÁG. 22)
 - 3.4 Espectrometría de masas (PÁG. 24)
 - 3.5 Técnicas cromatográficas (PÁG. 26)
 - 3.6 Biosensores y *lab-on-a-chip* (PÁG. 27)
 - 3.7 Tiras inmunocromatográficas (PÁG. 28)
- 29 CAPÍTULO 4
Regulación y control de los alimentos sin gluten
- 31 CAPÍTULO 5
Retos en la detección de gluten y enfermedad celíaca
- 33 CAPÍTULO 6
Perspectivas en la detección
de gluten y enfermedad celíaca
- 37 CAPÍTULO 7
Casos prácticos de I+D
- Caso práctico 1 (PÁG. 39)
 - Caso práctico 2 (PÁG. 40)
 - Caso práctico 3 (PÁG. 42)
- 45 CAPÍTULO 8
Resumen y conclusiones
- 49 CAPÍTULO 9
Anexos
- Anexo I. Catálogo de grupos de investigación (PÁG. 50)
 - Anexo II. Proyectos de investigación (PÁG. 66)
 - Anexo III. Solicitudes de patentes publicadas (PÁG. 68)
 - Anexo IV. Entorno empresarial (PÁG. 70)
 - Anexo V. Metodología empleada y estrategias
de búsqueda (PÁG. 72)
- 77 CAPÍTULO 10
Referencias, glosario y abreviaturas

RESUMEN EJECUTIVO

Las personas celíacas sufren intolerancia al gluten, conjunto de proteínas presentes en el trigo, la cebada, el centeno y la avena. La exposición de los celíacos a estas proteínas ocasiona atrofia en las vellosidades intestinales y una absorción inadecuada de los nutrientes de los alimentos.

El tratamiento de esta enfermedad consiste en suprimir el gluten de la dieta de por vida. El gluten está presente en los productos elaborados con los cereales mencionados previamente, pero también en muchos otros alimentos donde es utilizado como espesante para dar textura a ciertos alimentos, como fuente de proteínas vegetales, como sustituto de las proteínas animales para reducir costes, etc.

La legislación europea actual obliga a incluir en la lista de ingredientes de un alimento la presencia del gluten en su producción, así como la presencia de otros alérgenos conocidos (lactosa, proteínas de huevo, etc.). Las técnicas analíticas de detección de gluten son las herramientas con las que cuentan las asociaciones de celíacos y la industria agroalimentaria para realizar un control de la presencia de gluten en los alimentos. La detección de gluten presenta ciertas complicaciones y actualmente se investiga sobre las modificaciones que sufre el gluten durante la elaboración de los productos alimenticios y la detección final de sus fragmentos tóxicos, con el objetivo de mejorar los métodos de detección.

Aproximadamente una de cada 100 personas sufre esta enfermedad, aunque no todos los afectados desarrollan los síntomas, lo que dificulta el diagnóstico. Las asociaciones de celíacos asesoran sobre la dieta sin gluten y el manejo de la enfermedad, y son de gran ayuda para la superación de los problemas sociales, profesionales y psicológicos, que conlleva el mantenimiento estricto de una dieta sin gluten de por vida. Sólo en la Asociación de Celíacos de Madrid, ingresan más de 700 nuevos socios cada año.

CAPÍTULO 1

Introducción

La **enfermedad celíaca** (EC) es una patología gastrointestinal de origen autoinmune que consiste en una intolerancia permanente al gluten. El **gluten** es un conjunto de proteínas vegetales de reserva presentes en los cereales. Las proteínas tóxicas para los pacientes celíacos son proteínas del gluten denominadas prolaminas (fracciones del gluten solubles en alcohol), que se encuentran en el trigo, la cebada, el centeno y la avena. Las prolaminas reciben un nombre diferente dependiendo del cereal del que procedan: gliadinas (trigo), hordeínas (cebada), secalinas (centeno), aveninas (avena). Existen dudas en cuanto a la toxicidad de la avena, ya que este cereal tiene un contenido en prolamina inferior al de los cereales antes mencionados. Es deseable, por tanto, la ampliación de conocimientos en cuanto a la posible toxicidad de la avena.

Por otro lado, estudios recientes* también confirman que las gluteninas (fracciones del gluten insolubles en alcohol) son tóxicas para los celíacos.

La ingesta de gluten por el enfermo celíaco provoca una lesión progresiva de las vellosidades intestinales, cuya consecuencia más importante es la disminución de la absorción de nutrientes.

La sintomatología de esta enfermedad es amplia y variada: diarrea crónica, pérdida de peso, distensión abdominal, vómitos, dolor abdominal recurrente, cambios de carácter, falta de apetito, anemia y retraso del crecimiento en niños. Sin embargo, los síntomas pueden estar ausentes, lo que dificulta el diagnóstico.

Aproximadamente una de cada cien personas padecen esta enfermedad, siendo la enfermedad crónica intestinal más frecuente en España. Su base genética justifica que pueda haber más de un paciente celíaco dentro de una misma familia. Se puede presentar tanto en niños como en adultos y es dos veces más frecuente en el sexo femenino que en el masculino.

Sólo una de cada siete personas afectadas presenta los síntomas mencionados, mientras las seis restantes no presentan síntoma aparente alguno pero sí una lesión de las vellosidades. Este estado silente de la enfermedad puede hacer que el diagnóstico se retrase y que aparezcan complicaciones, ya que el riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes (diabetes, tiroiditis, artritis reumatoide, etc.) y/o linfoma aumenta con el tiempo de exposición al gluten.

Mediante un examen clínico cuidadoso y una analítica de sangre, que incluya los marcadores serológicos de enfermedad celíaca (anticuerpos antitransglutaminasa tisular) se establece el diagnóstico de sospecha de la enfermedad. El conocimiento reciente de diferentes formas clínicas de enfermedad celíaca (clásica, atípica, silente,

* En referencia a la posible toxicidad de las gluteninas existen ya estudios, como los llevados a cabo por el Dr. F.Koning (Holanda) y el Dr. P.J.Ciclitira (Inglaterra) en los que se ha evaluado su toxicidad, y parece que sí resultan tóxicas.

latente, potencial, etc.), ha venido a demostrar que no siempre se puede establecer un diagnóstico clínico o funcional de la enfermedad celíaca. Por ello, para el diagnóstico de certeza de la enfermedad celíaca es **imprescindible** realizar una **biopsia intestinal**. Para realizar esta prueba es necesario que no se haya retirado el gluten de la dieta.

Una vez diagnosticada la enfermedad, el tratamiento consiste en seguir una dieta estricta sin gluten de manera permanente. Con este tratamiento se repara la mucosa intestinal y los síntomas desaparecen. En la actualidad se investiga sobre otros tratamientos muy prometedores, pero el único existente hoy día es el seguimiento de la dieta exenta de gluten. Por este motivo, los métodos de detección de gluten en los alimentos constituyen una herramienta básica para el control de la enfermedad (1).

CAPÍTULO 2

Extracción y detección de gluten en alimentos

En la elaboración de alimentos existen diversos puntos críticos susceptibles de provocar la contaminación con gluten de los alimentos cuando en la misma fábrica o cadena de producción se elaboran productos con y sin gluten.

El consumo de productos manufacturados conlleva asumir riesgos potenciales a los pacientes celíacos, ya que el gluten puede ser añadido a un producto como ingrediente, aditivo, o bien éste puede contenerlo por razones tecnológicas del proceso de fabricación. Por lo tanto el gluten puede estar presente no sólo en los productos elaborados a partir de las harinas de trigo, cebada, centeno y avena, como pan, pastas, pasteles y galletas, sino también en embutidos y derivados cárnicos, salsas, aperitivos, golosinas, comidas preparadas, etc. e, incluso, en ciertos medicamentos como excipiente.

El proceso completo de la cuantificación del gluten presente en un alimento puede resumirse en el esquema de la Figura 1. Una de las etapas críticas es la **extracción del gluten** del alimento. Durante el proceso de elaboración, los alimentos se someten a tratamientos térmicos y a otros procesos que pueden modificar la estructura del gluten. Esta modificación y la heterogeneidad de los alimentos suponen una barrera para la correcta extracción del gluten de los alimentos.

El método tradicional de extracción del gluten consiste en la utilización de una mezcla etanol-agua al 60%. La eficiencia del proceso puede mejorarse, especialmente para la extracción del gluten en alimentos procesados con calor, añadiendo a la muestra antes de la extracción definitiva en etanol sustancias reductoras y desnaturalizantes para solubilizar los agregados de gluten producidos por el calor. La disolución que contiene estas sustancias se ha patentado en España con el nombre de *cocktail* de extracción de gluten (en la patente, cuyo número de publicación es el ES2182698, figuran el Dr. Méndez y colaboradores como inventores y ha sido licenciada a la empresa Imbiosis, caso práctico 2 del epígrafe 7).

Características deseables de un método analítico de detección de gluten

- **Sensibilidad.** Capacidad de detectar gluten hasta concentraciones de partes por millón¹.
- **Selectividad.** El método debe detectar exclusivamente el gluten tóxico y no otros compuestos con propiedades similares. En la detección de gluten se utilizan con frecuencia anticuerpos, elementos de reconocimiento muy específicos. A pesar de ello, se conocen algunas sustancias que interfieren en la detección.

¹ Partes por millón (ppm). 1 ppm equivale a 1 miligramo de gluten por kilogramo de alimento.

- *Fiabilidad.* Los métodos deben estar diseñados para que los resultados analíticos puedan ser reproducibles en distintos laboratorios.
- *Bajo coste de análisis.* El coste del análisis puede ser bajo si el equipamiento utilizado no es demasiado costoso y se optimiza el gasto en reactivos y el tiempo necesario para cada análisis.
- *Rápido.* Un tiempo corto de análisis posibilita abaratar el coste del análisis y poder realizar gran número de análisis por día.
- *Validado.* Tanto el método analítico de detección de gluten como el de extracción deben estar validados. Para poder validar el método de detección se necesita un material de referencia certificado.

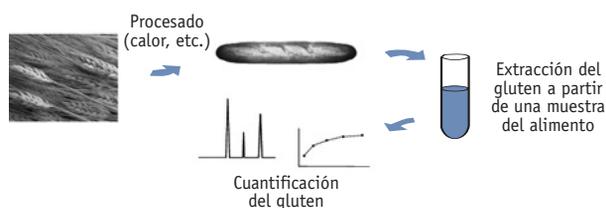


FIGURA 1. *Procedimiento de cuantificación del gluten en un alimento.*

Seguidamente, se debe detectar la cantidad de gluten presente mediante un método analítico. La cuantificación del gluten se realiza mediante la medida de una señal experimental que debe compararse con la señal obtenida en iguales circunstancias con un patrón de referencia de concentración conocida. Es el proceso conocido como calibración. Una calibración adecuada es necesaria para poder realizar con éxito una cuantificación precisa de gluten. En ciertos estudios se han obtenido distintos valores de gluten en una determinada muestra dependiendo de la gliadina utilizada como patrón en la calibración. Por tanto, existe una necesidad urgente de desarrollar un estándar de gliadinas. El Grupo de Trabajo de la Prolamina² trabaja en el desarrollo de este estándar. La gliadina europea, desarrollada hasta el momento, se ha obtenido de una mezcla de harinas de distintas variedades europeas de trigo (2). Esta gliadina europea no ha sido certificada todavía porque el Instituto de Materiales y Medidas de Referencia (IRMM) considera que esta gliadina no reúne las condiciones óptimas para su certificación.

² El Grupo de Trabajo de la Prolamina es un conjunto de expertos que, desde hace más de 20 años, trabaja con el objetivo de desarrollar métodos analíticos adecuados para la detección de gluten en alimentos.

CAPÍTULO 3

Técnicas analíticas para la detección de gluten en alimentos

En este epígrafe se describen diferentes técnicas utilizadas para la detección de gluten en alimentos. Algunas de las técnicas descritas están muy implantadas en el control del gluten en los alimentos, como los ensayos ELISA, la técnica PCR, *Western Blot*, espectrometría de masas, cromatografía y tiras inmunocromatográficas. Por último se describen las técnicas más novedosas en la detección de gluten, entre las que se encuentran los biosensores y *lab-on-a-chip*.

3.1 Ensayo inmunoenzimático ELISA

La técnica ELISA (del inglés *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) consiste en un ensayo basado en el principio inmunológico del reconocimiento y unión de los anticuerpos a las moléculas que reconocen como extrañas (antígenos). Es un método inmunológico clásico, enormemente utilizado para una gran cantidad de aplicaciones, por ejemplo, en diagnóstico clínico, detección de virus, búsqueda de anticuerpos, etc. En el caso de la detección de gluten se utilizan anticuerpos que reconocen fragmentos presentes en las proteínas del gluten (antígeno).

En este ensayo se produce una unión del anticuerpo al antígeno sobre una superficie (generalmente el fondo del tubo de ensayo o similar) a la que previamente el anticuerpo o el antígeno se ha unido. Alguno de los componentes del ensayo (anticuerpo o antígeno) se encuentra unido a una enzima que catalizará la formación de un producto coloreado, que podrá ser cuantificado mediante la medida de la luz absorbida por dicho compuesto (espectrofotometría).

Existen distintos tipos de ensayos ELISA, siendo los más utilizados en la detección de gluten los ensayos tipo sandwich y los ensayos competitivos. En el ELISA tipo sandwich se utilizan dos anticuerpos, el anticuerpo primario y el anticuerpo secundario, unido a la enzima. En este ensayo se establece la unión directa del gluten a los dos anticuerpos, quedando el antígeno “atrapado” entre ambos (ver Figura 2). En el ELISA competitivo se incuba la muestra con el anticuerpo para después añadir esta preparación sobre una superficie recubierta de antígeno (por ejemplo, gliadinas de trigo) de tal forma que se une a la superficie el anticuerpo libre no unido al gluten de la muestra. Finalmente se detecta la cantidad de anticuerpo libre; cuanto más anticuerpo libre es detectado, menos cantidad de gluten contiene la muestra.

Para la detección de gluten se han propuesto distintos anticuerpos y métodos de detección. A continuación se tratará el método de Skerrit (3) y el método basado en el anticuerpo R5 (4). El primero ha sido utilizado, en el pasado, a nivel internacional.

El método propuesto por Skerrit y Hill fue validado internacionalmente por la AOAC³. La sensibilidad original de este método era de 160 ppm, aunque se ha distribuido comercialmente bajo distintas marcas, optimizándose hasta conseguir sensibilidades de 20 ppm. El método detecta prolaminas del trigo y centeno resistentes a alta temperatura, que pueden ser extraídas del alimento después de ser cocinadas sin perder su capacidad de unión al anticuerpo.

³ AOAC, Association of Official Analytical Chemists.

El método propuesto por el grupo del Dr. Méndez (CNB-CSIC, Madrid) está basado en el anticuerpo R5, que reconoce un fragmento de 5 aminoácidos ampliamente repetido en el gluten. Este método permite la detección de gluten de trigo, centeno y cebada, incluso después del tratamiento de los alimentos con calor. Para detectar gluten de avena, el mismo grupo ha desarrollado un ensayo ELISA específico para avena. La sensibilidad de este método es de 3 ppm de gluten, siendo por ello particularmente apropiado para el análisis de gluten en el intervalo de baja concentración (20-200 ppm). Este método ha obtenido, recientemente, el reconocimiento Tipo I⁴ del Comité del Codex Alimentarius⁵ sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras. Varias casas comerciales distribuyen los kits de detección de gluten basados en este método (ver Anexo IV).

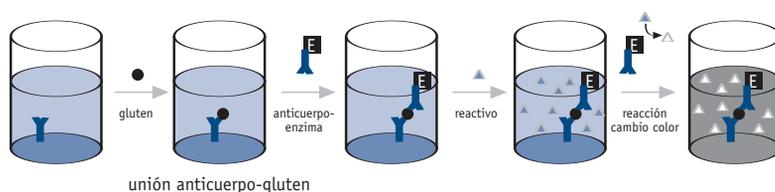


FIGURA 2. Ensayo inmunoenzimático ELISA tipo sandwich. *En este tipo de ensayos, el anticuerpo (en azul) se encuentra adherido al fondo del tubo de reacción. Cuando se añade la muestra, las moléculas de gluten (en negro) se unen al anticuerpo. A continuación, se añade nuevo anticuerpo unido a una enzima y al añadir el reactivo final, la enzima cataliza la reacción de formación de un producto coloreado en la mezcla.*

⁴ La Comisión del Codex Alimentarius clasifica los métodos analíticos en tres tipos: Tipo I, II y III. Los métodos Tipo I ofrecen el mayor grado de fiabilidad en lo que respecta a la cuantificación e identificación de la estructura del analito. Se denominan, a veces, métodos de referencia.

⁵ El Codex Alimentarius o Código Alimentario es un conjunto de normas alimentarias desarrolladas por una comisión creada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

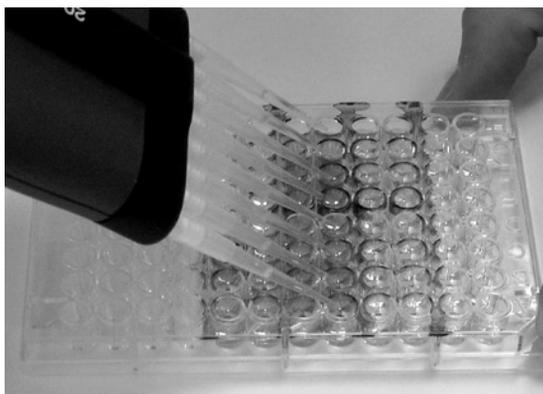


FIGURA 3. Realización de un ensayo ELISA sobre placa de 96 pocillos (Imagen por cortesía de Imbiosis).

Puntos fuertes

- Simple en su realización.
- Rapidez: tiempo medio del ensayo ELISA en placa de, aproximadamente, 2 horas.
- Económico, versátil y robusto.
- Alta sensibilidad (3 ppm de gluten).
- La detección se realiza por medio de dispositivos ópticos.
- No produce reacciones cruzadas frente a prolaminas no tóxicas de maíz o arroz.

Puntos débiles

- Pueden producirse falsos negativos cuando se desnaturalizan las proteínas por cambios de presión, temperatura o concentración de sales.
- Posibilidad de reacciones cruzadas entre proteínas estrechamente relacionadas.

3.2 Técnica de PCR

La tecnología de PCR⁶ o reacción en cadena de la polimerasa consiste en la obtención de múltiples copias de un fragmento específico de ácido desoxirribonucleico (ADN) situado entre regiones de secuencia conocida a partir de una muestra compleja de ADN. La amplificación de ese fragmento elegido permite realizar su detección y estudio posterior.

Esta tecnología fue desarrollada a principios de los años 80 por Kary Mullis y sus colaboradores y, desde su descubrimiento, se ha convertido en una herramienta de biología molecular indispensable, con aplicaciones tales como la búsqueda de mutaciones en enfermedades hereditarias, criminalística y ciencia forense, análisis genéticos, pruebas de paternidad, identificación de especies y búsqueda de microorganismos patógenos. Hoy en día, el proceso de amplificación de fragmentos de ADN se encuentra automatizado.

Mediante PCR se puede detectar gluten de **manera indirecta**. Esta técnica detecta el ADN responsable de la síntesis de las proteínas del gluten, proceso conocido como expresión génica y que constituye la base del funcionamiento de todos los seres vivos. Si en el diseño del ensayo PCR se utiliza un fragmento presente en gliadinas, secalinas, hordeínas y aveninas puede detectarse el ADN de todos los cereales con prolaminas tóxicas.

⁶ PCR, Polymerase Chain Reaction.

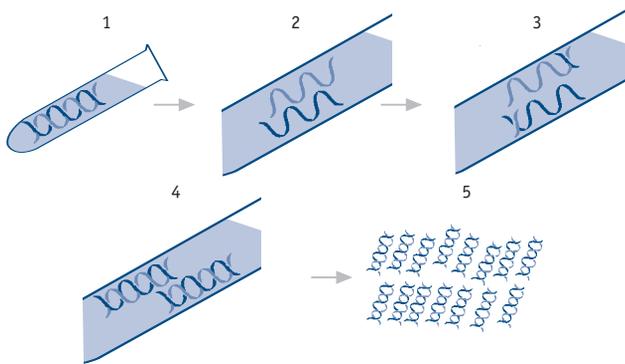


FIGURA 4. Reacción en cadena de la polimerasa. 1. *Obtención de moléculas de ADN.* 2. *Separación de las hebras de la doble hélice calentando a 90 °C.* 3. *Unos fragmentos de ADN se unen a las hebras de ADN en la posición correcta.* 4. *La enzima ADN polimerasa, que se añade al medio, sintetiza dos nuevas copias de las hebras de ADN.* 5. *El proceso completo genera gran número de copias de la molécula de ADN original.* Adaptado de: http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/illpres/pcr.html

Puntos fuertes

- Sensibilidad muy alta en la detección del ADN (5-50 picogramos de ADN).
- Permite identificar la especie de la que proviene el gluten presente, muy útil para identificar el origen de una contaminación cruzada.
- El ADN es menos susceptible de ser degradado durante el procesado de los alimentos.

Puntos débiles

- Se requiere tiempo y personal cualificado en el análisis.
- El ADN puede fragmentarse durante el procesamiento de los alimentos.
- Técnica indirecta para detectar gluten (no cuantifica la presencia de gluten, sino la del ADN que codifica para el gluten).

3.3 Técnica Western Blot

La técnica *Western Blot* es, al igual que los ELISA, un inmunoensayo diseñado para detectar proteínas en muestras complejas. La detección final de las proteínas (el gluten) se realiza mediante la unión de anticuerpos específicos anti-gluten y la utilización de enzimas unidas a estos mismos anticuerpos gracias a las cuales puede registrarse su unión al gluten. El nombre de esta tecnología proviene de la transferencia de proteínas o *blotting*, característica principal de este tipo de ensayos, en los que se produce la inmovilización de las proteínas sobre membranas sintéticas, seguido de la detección.

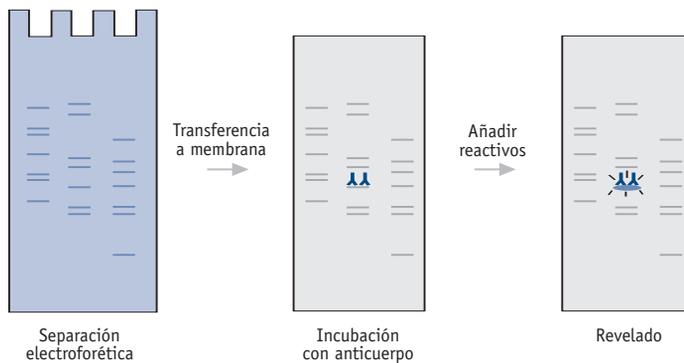


FIGURA 5. *Western Blot*.

Los procedimientos de *Western Blot* constan de varias etapas. En una primera etapa se separan las proteínas, en función de su tamaño, mediante un proceso denominado electroforesis en gel que utiliza una corriente eléctrica para la separación de las proteínas. A continuación, con el objetivo de hacer accesibles las proteínas para su detección por el anticuerpo, se transfieren a membranas sintéticas donde se localizan sobre la superficie de la membrana para su detección. Por último, se produce la unión específica de la proteína a los anticuerpos y éstos son detectados gracias a la enzima unida a ellos. Existen distintos métodos de detección, por ejemplo el quimioluminiscente, basado en una reacción química para la formación de un producto cuya energía se emite en forma de luz.

La técnica *Western Blot* es utilizada como una prueba confirmatoria de los resultados de un ELISA cuando se detecta presencia de gluten.

Puntos fuertes

- Útil para identificar si el gluten de la muestra proviene de trigo, cebada o centeno.
- Método altamente específico.
- Sensibilidad de 5-10 ppm de gluten en función del anticuerpo utilizado.
- Valor confirmatorio al acoplar el proceso de caracterización del tamaño del gluten con la unión específica de los anticuerpos.
- Eficaz en la detección de proteínas insolubles.
- Método muy adecuado para la detección del contenido en gluten de alimentos crudos y procesados.

Puntos débiles

- Método lento (se necesitan 48 horas para realizar un análisis completo).
- Se requiere formación y especialización adecuada de los analistas.

3.4 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una técnica analítica utilizada para medir la masa molecular de compuestos químicos o biológicos, deducir datos estructurales e identificarlos. Para el análisis de gluten se ha empleado la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF⁷ (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz acoplada a un detector de tiempo de vuelo).

En la espectrometría de masas las muestras son ionizadas, es decir dotadas de carga, porque los iones son más fáciles de manipular que las moléculas neutras. En la ionización MALDI los analitos se mezclan con una matriz orgánica y se convierten en iones mediante la acción de un láser. Esta técnica de ionización de la muestra es muy apropiada para moléculas no volátiles de alta masa molecular, como las proteínas. En el analizador de tiempo de vuelo (TOF) los iones se separan en función de su masa y carga tras ser acelerados en el vacío por un campo eléctrico. El tiempo que tardan en recorrer el analizador depende de estos dos parámetros y permite determinar la masa.

Esta técnica puede aplicarse a la detección de gluten en extractos de cereales. El análisis del gluten de trigo, centeno, cebada y avena proporciona el patrón de masas característico de las prolaminas de estos cereales (gliadinas, secalinas, hordeínas y aveninas, respectivamente) y permite la compleja identificación de las prolaminas del gluten [5].

⁷ MALDI-TOF, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight.

Puntos fuertes

- Rapidez del análisis (pocos minutos).
- Manipulación de la muestra sencilla.
- Reproducibilidad.
- Precisión en la determinación de la masa de las prolaminas.
- Puede indicar la especie de la que proviene el gluten.
- La interpretación rutinaria de los espectros es relativamente sencilla.

Puntos débiles

- Instrumentación compleja.
- Equipamiento costoso.
- No es una técnica cuantitativa.
- El equipo requiere instalaciones amplias.
- Complejo proceso de elaboración de librerías de perfiles de espectros.
- Compleja calibración del equipo.

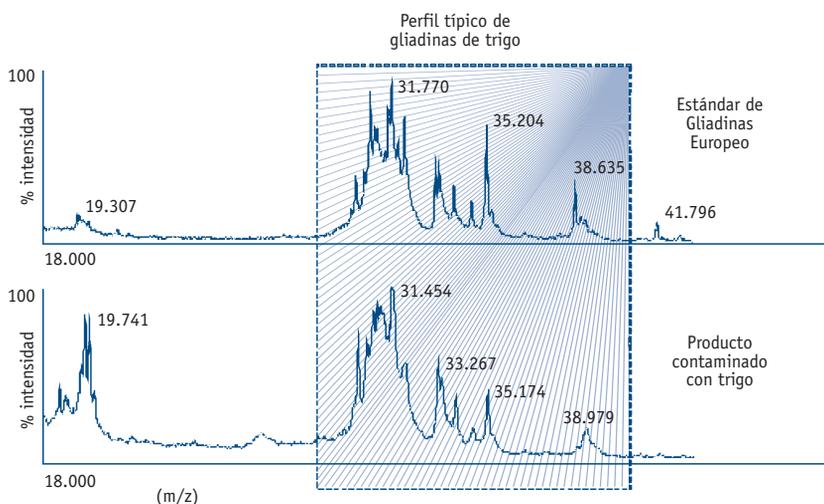


FIGURA 6. Ejemplo de espectro de masas MALDI-TOF. Resultados de los análisis de dos muestras, la gliadina europea y un producto contaminado con trigo, donde pueden observarse las señales (representadas por picos de mayor altura) correspondientes a las gliadinas del trigo. Los números que aparecen corresponden a las masas de estas moléculas. (Imagen por cortesía de Imbiosis).

3.5 Técnicas cromatográficas

La cromatografía es un método físico de separación, en el que los componentes se distribuyen en dos fases, la fase móvil y la estacionaria. El análisis de muestras alimentarias puede realizarse mediante cromatografía líquida, en la que la fase móvil es un líquido, por tanto los componentes de la muestra deben ser solubles en ese líquido. Las especies separadas se pueden caracterizar mediante los detectores apropiados.

Mediante cromatografía se puede detectar la presencia en alimentos de péptidos y proteínas en general y de gluten en particular y se puede también cuantificar su concentración. La separación puede realizarse en función de la carga, el tamaño, la hidrofobicidad...

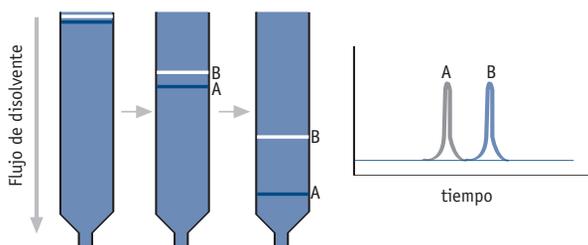


FIGURA 7. Cromatografía líquida. Se aplica la muestra en la parte superior de una columna de cromatografía. El disolvente fluye por la columna y los componentes de la muestra se van separando según viajan por el lecho de la columna. Finalmente, se detecta la elución (salida) de cada compuesto en función del tiempo.

Puntos fuertes

- Gran capacidad para la separación de distintos péptidos.

Puntos débiles

- Se requiere mucho tiempo para el análisis.
- Difícil de automatizar para muchas muestras.

3.7 Tiras inmunocromatográficas

La detección de gluten mediante tiras inmunocromatográficas es un método muy sencillo y rápido, similar a los test de embarazo. El gluten debe extraerse de la muestra de alimento utilizando una disolución de extracción. Después de la extracción, la muestra se aplica sobre la tira, donde se encuentran los anticuerpos que reconocen el gluten unidos a esferas coloreadas de látex. El gluten unido a estos anticuerpos se desplaza a través de la tira en un proceso cromatográfico de separación. Finalmente, el gluten y el anticuerpo unido se inmovilizan en una región de la tira, donde se puede detectar la presencia del gluten como una banda coloreada.

Las tiras permiten detectar el gluten sin necesitar complejo material de laboratorio, de tal manera que las empresas que disponen de laboratorio con pequeñas infraestructuras para tratamiento de muestras pueden realizar el análisis fácilmente. La detección ofrece un resultado positivo o negativo para el gluten pero no permite conocer su concentración.

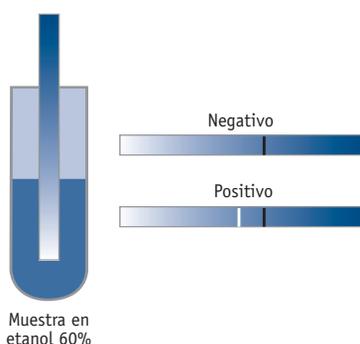


FIGURA 9. *Ensayo de una tira inmunocromatográfica.*

Puntos fuertes

- Es el método más sencillo de todos.
- Rápido.
- Interpretación visual.

Puntos débiles

- No permite conocer la concentración de gluten en la muestra.

CAPÍTULO 4

Regulación y control de los alimentos sin gluten

La Norma General de Etiquetado, Presentación y Publicidad de los Productos Alimenticios, aprobada por el **Real Decreto 1334/1999**, del 31 de julio de 1999 fue modificada por el Real Decreto 2220/2004 que entró en vigor el 26 de noviembre del año 2005. Según este Real Decreto los fabricantes tienen la obligación de mencionar los cereales que contienen gluten en el listado de ingredientes de los productos, siempre que los añadan de una forma intencionada, independientemente de la cantidad utilizada y siempre que sigan presentes en el producto terminado, aunque sea de forma modificada.

Este Real Decreto deroga el Reglamento anterior que establecía la obligatoriedad de que un ingrediente compuesto figurara en la lista de ingredientes bajo su denominación solo cuando tal compuesto estuviera presente en más de un 25 %.

Dicho Real Decreto es un avance importante, sin embargo sólo se aplica a ingredientes añadidos intencionadamente, pero no a los residuos accidentales, no tiene en cuenta las trazas de alérgenos y no armoniza el uso de etiquetado preventivo (“puede contener...”). Por otro lado, tampoco establece métodos analíticos oficiales de detección de gluten que permitan conocer, con fiabilidad, si hay gluten presente en ciertos alimentos.

El Comité del **Codex Alimentarius** sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) ha validado un método de detección de gluten en alimentos, un método inmunoenzimático basado en el anticuerpo R5, descrito en el capítulo 3.1. El Codex Alimentarius o Código Alimentario es un conjunto de normas alimentarias desarrolladas por la comisión creada a tal efecto por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). El establecimiento de este código responde al deseo de proteger la salud de los consumidores, asegurar unas prácticas de comercio claras y promocionar la coordinación de todas las normas alimentarias acordadas por las organizaciones gubernamentales y no gubernamentales.

En cuanto a los niveles máximos de gluten admitidos para considerar un alimento libre de gluten, la Norma Codex sobre Alimentos Exentos de Gluten (CODEX STAN 118-1981), revisada en la última reunión del Comité del Codex sobre Nutrición y Alimentos para Regímenes Especiales (CCNFSDU) celebrada en Tailandia (30/10-3/11/2006), propone que los productos elaborados a partir de ingredientes que no contienen gluten no superen las 20 ppm de gluten, mientras que si el producto ha sido elaborado con ingredientes obtenidos a partir de trigo, centeno, cebada, avena, escaña común, o sus variedades cruzadas, de los que se ha eliminado el gluten, el contenido en gluten no supere las 100 ppm, pero estos cambios en la Norma están pendientes de aprobación.

CAPÍTULO 5

Retos en la detección de gluten

Los retos y barreras existentes en el desarrollo de métodos de detección del gluten constituyen las áreas prioritarias que necesitan un mayor impulso para mejorar el proceso de detección. La mejora en los métodos de detección de gluten en alimentos sería un gran avance para los enfermos celíacos que deben seguir una dieta sin gluten de por vida.

La extracción del gluten es uno de los retos fundamentales en el proceso de detección del gluten. La extracción del gluten a partir de alimentos procesados puede ser muy compleja y la matriz alimentaria en la que se encuentra el gluten complica, en muchos casos, su extracción. Además, algunas sustancias presentes en ciertos alimentos pueden interferir con el proceso de extracción. En la elaboración de los alimentos es corriente la utilización de tratamientos térmicos, enzimáticos, etc. que hidrolizan y modifican las moléculas del gluten. Estas modificaciones químicas del gluten complican el proceso de extracción.

Otro reto en la detección es el aumento de la sensibilidad de los métodos existentes, consiguiendo detectar cantidades cada vez menores de gluten. Asimismo, sería deseable aumentar la reproducibilidad de la extracción y posterior detección del gluten.

Por otro lado, un estándar de gliadina es fundamental para conseguir homogeneidad en los resultados analíticos. Sin embargo, recientemente, el Instituto de Materiales y Medidas de Referencia ha comunicado que la gliadina europea creada por el Grupo de Trabajo de la Prolamina no reúne las condiciones óptimas para su certificación.

En cuanto a toxicidad, los métodos analíticos disponibles detectan distintos péptidos tóxicos presentes en el gluten. No obstante, es necesario seguir investigando para identificar todos los péptidos tóxicos en gliadinas y también en gluteninas.

CAPÍTULO 6

Perspectivas en la detección de gluten
y en la investigación sobre la enfermedad celíaca

Para la elaboración del presente Informe se solicitó a distintos expertos sobre detección de gluten y enfermedad celíaca (ver casos prácticos del apartado 7) la realización de un cuestionario para valorar las perspectivas de desarrollo de las técnicas de detección de gluten. Estos expertos señalan que el desarrollo de métodos analíticos existentes y otros métodos que están en fase de investigación se realizará a corto y medio plazo (5-10 años). Asimismo opinan que el desarrollo de nuevas terapias para la enfermedad celíaca se producirá a medio y largo plazo (10-15 años).

Distintos grupos de investigación han comenzado el desarrollo de métodos analíticos que detectan gluteninas además de gliadinas, puesto que las gluteninas pueden presentar toxicidad. A este método se le pueden unir otros según se vaya obteniendo más información acerca de la toxicidad del gluten. Aparte de estas novedades, los desarrollos más prometedores relacionados con las tecnologías de detección son los biosensores y *lab-on-a-chip* que ofrecen procedimientos de extracción y detección de gluten de forma automatizada.

También existen buenas perspectivas en el área de nuevos alimentos, aptos para su utilización en la dieta sin gluten. Varias líneas de investigación buscan conseguir alimentos funcionales que incorporan bacterias intestinales probióticas para restablecer el equilibrio intestinal y prevenir el desarrollo de la enfermedad celíaca. Los organismos probióticos son bacterias vivas que permanecen activas en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos.

El desarrollo de nuevos cereales es también un área muy interesante, en la que existen distintas líneas de investigación relacionadas con la mejora genética de cereales para eliminar o reducir la fracción tóxica de su composición, buscando al mismo tiempo mantener una buena calidad de esos cereales para procesos alimentarios como la panificación.

En el desarrollo de nuevas terapias para la enfermedad celíaca se han realizado avances importantes gracias, en parte, al conocimiento de los procesos moleculares que conducen a la respuesta inmunitaria al gluten y que permiten la identificación de posibles dianas para el tratamiento de la enfermedad (presentadas en el cuadro resumen que aparece más adelante).

Una de las estrategias terapéuticas más prometedoras es el desarrollo de una terapia oral basada en la utilización de una enzima: prolil endopeptidasa, que ha demostrado, en el laboratorio, ser capaz de eliminar la toxicidad del gluten hidrolizando los péptidos tóxicos [7]. El grupo del Dr. Khosla (Univ. Stanford, EE.UU.) ha desarrollado esta terapia, que se encuentra en fase preclínica, es decir, la fase previa al comienzo de los ensayos clínicos.

En EE.UU. se está realizando un ensayo clínico con un fármaco oral de Alba Therapeutics, denominado AT-1001. Este fármaco ha superado con éxito el ensayo clínico fase I y se encuentra en estos momentos en la fase II⁸. El objetivo de este ensayo clínico fase II es evaluar la seguridad y tolerancia de dosis orales de este fármaco en enfermos celíacos que siguen una dieta sin gluten.

El compuesto AT-1001 es un antagonista del receptor intestinal de la zonulina. Este receptor facilita el transporte pasivo de macromoléculas a través de los intersticios intestinales, siendo este transporte el mayor canal de entrada de proteínas intactas y antígenos en el cuerpo humano. Se ha descrito que en la enfermedad celíaca se produce un aumento de la permeabilidad intestinal y de la expresión de la zonulina, que podría permitir la entrada de los péptidos tóxicos del gluten estimulando la respuesta inmunitaria [8].

Por otro lado, el grupo del Dr. Anderson del Walter and Eliza Hall Institute for Medical Research (Melbourne, Australia) ha desarrollado otra posible terapia basada en una diana distinta. Este grupo propone la utilización de un péptido, creado por modificación de un péptido tóxico del gluten, para el desarrollo de una inmunoterapia altamente específica que pueda inducir tolerancia al gluten. Este péptido es un antagonista del gluten capaz de unirse a los antígenos de histocompatibilidad HLA DQ2, bloqueando la unión de péptidos tóxicos a este antígeno. La realización de los ensayos clínicos pertinentes de esta terapia experimental correrá a cargo de una compañía establecida en Melbourne, Nexpep⁹. Esta compañía se encuentra en un proceso de ampliación de capital, y espera poder comenzar los ensayos clínicos en 2008.

Estas estrategias son muy prometedoras, pero aún están lejos de materializarse en fármacos o terapias disponibles para los pacientes, puesto que aún se encuentran en fase experimental o de ensayo clínico. Debe tenerse en cuenta que el procedimiento necesario para la aprobación de un nuevo fármaco o terapia es largo, alrededor de 10 años, en los que se evalúa la efectividad e inocuidad de la terapia por medio de distintos ensayos clínicos.

8 Alba Therapeutics
<http://www.albatherapeutics.com>

9 Nexpep
<http://www.nexpep.com.au/nex>

Perspectivas en la detección de gluten y en la investigación sobre la enfermedad celíaca

Técnicas de detección

- Detección de gluteninas.
- Biosensores y *lab-on-a-chip*.
- Técnicas automatizadas.

Alimentos

- Alimentos funcionales probióticos para restablecer el equilibrio intestinal.
- Mejora genética de cereales para reducir su fracción tóxica.

Investigación sobre la enfermedad celíaca[9]

- Búsqueda de factores genéticos no HLA¹⁰ de susceptibilidad a la enfermedad celíaca.
- Determinación de la cantidad de gluten tolerada por los pacientes celíacos.
- Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca.
- Inhibición de la transglutaminasa 2, enzima que modifica químicamente los péptidos del gluten, causando una mayor toxicidad de los mismos.
- Bloqueo de la unión de péptidos tóxicos al complejo HLA (inicio de la respuesta inmune que se desencadena en la mucosa de los enfermos celíacos) mediante la competición con péptidos análogos sintéticos no estimuladores de los linfocitos T.
- Inhibición de la migración de los linfocitos T evitando la llegada de linfocitos T a la mucosa intestinal.
- Inmunomodulación, regulación de la acción de los linfocitos T.
- Bloqueo de los mediadores de la cascada inflamatoria.

¹⁰ HLA. Antígenos de histocompatibilidad, del inglés *Human Leukocyte Antigens*. La función biológica de las moléculas HLA consiste en la presentación de péptidos cortos a los linfocitos T. Estas moléculas juegan un papel fundamental en la regulación del sistema inmune y por esta razón existen numerosas enfermedades de origen inmune asociadas a HLA.

CAPÍTULO 7

Casos prácticos de I+D

A continuación se describen varios casos prácticos de grupos de investigación y empresas de la Comunidad Autónoma de Madrid cuyas líneas de trabajo se centran en el área de la detección de gluten y enfermedad celíaca.

La información recogida en este epígrafe se ha obtenido mediante unos cuestionarios que han cumplimentado los propios investigadores. Esta información incluye los recursos humanos destinados a la investigación, las principales líneas de investigación y proyectos más recientes en los que han participado. Asimismo, se muestran las patentes que conforman su cartera tecnológica.

Finalmente, se enumeran las aplicaciones futuras de su investigación así como los retos y tendencias más importantes en detección de gluten y enfermedad celíaca que pretenden reflejar el futuro inmediato de estas áreas de interés.

Caso práctico 1

Grupo de investigación

Instituto del Frío (CSIC)

www.if.csic.es

Departamento de Metabolismo y Nutrición

Investigadora principal

Ascensión Marcos

amarcos@if.csic.es

<i>Personal</i>	<i>Formación</i>	<i>Áreas de interés</i>
<ul style="list-style-type: none">· 2 doctores· 1 becario	<ul style="list-style-type: none">· Biología· Farmacia	<ul style="list-style-type: none">· Desarrollo de nuevas terapias en enfermedad celíaca

Principales líneas de investigación del grupo

- Estudio de propiedades inmunomoduladoras de bacterias probióticas.
 - Prevención de la enfermedad celíaca.
-

Proyectos de investigación financiados

<i>Proyecto de investigación</i>	<i>Financiación</i>
Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca mediante el estudio de las interacciones entre los factores genéticos, la alimentación y el patrón de colonización microbiana en neonatos y lactantes.	PIF-CSIC

Aplicaciones futuras de su actividad investigadora

- Diseño de estrategias de prevención del desarrollo de la enfermedad.
-

Perspectivas de desarrollo de las diferentes aplicaciones en detección de gluten y nuevas terapias para la enfermedad celíaca

Medio plazo (10 años)

- Desarrollo de nuevas terapias para la enfermedad celíaca.
-

Caso práctico 2

Empresa

Imbiosis

www.imbiosis.com

Director gerente

Manuel José Aguirre

info@imbiosis.com

<i>Personal</i>	<i>Formación</i>	<i>Áreas de interés</i>
<ul style="list-style-type: none"> · 1 doctor · 2 becarios · 1 técnico · 2 licenciados 	<ul style="list-style-type: none"> · Biología · Química · Bioquímica · Gestión y Administración de Empresas 	<ul style="list-style-type: none"> · Técnicas de detección de gluten en alimentos

Principales líneas de investigación

- Nuevos métodos de análisis de gluten en alimentos.

Proyectos de investigación financiados

<i>Proyecto de investigación</i>	<i>Financiación</i>
Desarrollo de tecnología para extraer y analizar con fiabilidad el gluten de alimentos de alta complejidad (gran número de ingredientes o ingredientes que dificulten la extracción/detección).	PROFIT
Desarrollo de un biosensor óptico para la determinación en tiempo real de gluten en alimentos.	–

Aplicaciones futuras de su actividad investigadora

- Dar solución a la inexistencia de procedimientos de demostrada eficiencia para la extracción cuantitativa en alimentos de matrices complejas.
- Automatización del proceso de análisis de gluten.
- Desarrollo de protocolos específicos para la extracción del gluten de alimentos complejos con el objetivo de eliminar la variabilidad existente en las determinaciones de gluten. Los métodos de extracción optimizados en función del tipo de producto podrán ser utilizados de forma habitual en los laboratorios de análisis especializados.
- Satisfacer la demanda, por parte de la industria, de disponer de métodos de cuantificación de gluten más rápidos, baratos y susceptibles de ser incorporados a la cadena de producción. La automatización de la cuantificación de gluten mediante el empleo de un biosensor óptico podría ser la solución que reclama la industria agroalimentaria.

Patentes o solicitudes de patente

- Licencia en exclusiva de la patente W002092633: Method for extracting gluten contained in heat - processed and non- heat- processed foodstuffs, compatible with an enzyme - linked immunosorbent assay, composition and kits comprising said composition.
-

Oferta de servicios

- Servicio de detección y cuantificación de gluten en alimentos por diversas técnicas:
 - Cuantitativas: ELISA R5 Sandwich (gluten nativo), ELISA R5 Competitivo (gluten hidrolizado), ELISA Competitivo de Avena.
 - Confirmatorias: Western Blot R5, PCR cuantitativa, espectrometría de masas MALDI-TOF.
 - Asesoramiento técnico.
 - Comercialización de la “Solución Cocktail” que permite la extracción completa del gluten en alimentos procesados con calor.
-

Perspectivas de desarrollo de las diferentes aplicaciones en detección de gluten y nuevas terapias para la enfermedad celíaca

<i>Corto plazo (5 años)</i>	<i>Medio plazo (10 años)</i>	<i>Largo plazo (15 años)</i>
<ul style="list-style-type: none">· Mejora de las técnicas actuales de detección de gluten en alimentos.· Desarrollo de nuevas técnicas de detección de gluten en alimentos.· Degradación enzimática del gluten en la ingesta/digestión de alimentos.	<ul style="list-style-type: none">· Desarrollo de nuevas técnicas de detección de gluten en alimentos.· Desarrollo de nuevas terapias para la enfermedad celíaca.	<ul style="list-style-type: none">· Desarrollo de nuevas terapias para la enfermedad celíaca.

Barreras y limitaciones en la investigación

- Heterogeneidad de los alimentos a la hora de aplicar una técnica concreta para la determinación del gluten.
 - Susceptibilidad del gluten a sufrir modificaciones a causa de procesos industriales de elaboración de alimentos.
 - Escasez de conocimiento sobre la base genética de la enfermedad.
 - Complejidad de los mecanismos de la reacción autoinmune que genera la enfermedad.
-

Caso práctico 3

Grupo de investigación

Universidad Rey Juan Carlos

www.urjc.es

Facultad de Ciencias de la Salud

Investigador principal

Rafael Linares García-Valdecasas

rafael.linares@urjc.es

<i>Personal</i>	<i>Formación</i>	<i>Áreas de interés</i>
<ul style="list-style-type: none"> · 8 doctores · 2 técnicos · 3 licenciados · 1 diplomado 	<ul style="list-style-type: none"> · Biología · Medicina · Farmacia · Odontología · Fisioterapia 	<ul style="list-style-type: none"> · Diagnóstico de la enfermedad celíaca. · Desarrollo de nuevas terapias en enfermedad celíaca. · Diagnóstico del aparato locomotor y sistema nervioso periférico y establecer estilos de vida para prevención y/o terapias de posibles disfunciones.

Principales líneas de investigación del grupo

- Valoración de los parámetros antropométricos relacionados con el crecimiento.
- Valoración de la fuerza muscular, con estudios isocinéticos.
- Valoración con electromiografía de la conducción nerviosa.
- Evaluar el desarrollo psicomotor en niños menores de 14 años.
- Analizar el estado de salud bucodental.
- Analizar la influencia de los estilos de vida en la salud de las personas con Enfermedad Celíaca.

Aplicaciones futuras de su actividad investigadora

- Detección precoz de las alteraciones del aparato locomotor, para la prevención de trastornos que puedan repercutir en el desarrollo psicomotor del paciente, esto llevaría a un tratamiento temprano que evitaría las posibles deficiencias en el adulto.
- Informar, asistir y dar apoyo en relación a los estilos de vida de las personas con Enfermedad celíaca y sus familias, también para proveer la información necesaria para que los que sufren de esta condición entiendan y puedan confrontarse con la enfermedad celíaca facilitando una alta calidad de vida y el mantenimiento de la salud.
- Desarrollar y distribuir información de confianza en relación a los hábitos saludables para ayudar a vivir una vida libre de gluten.
- Incrementar el conocimiento sobre la influencia de los estilos de vida de las personas con Enfermedad Celíaca, a todos los profesionales que tienen relación con esta enfermedad, fabricantes de comidas y fármacos, la industria de servicio de comida, los medios de comunicación y al público.

Perspectivas de desarrollo de las diferentes aplicaciones en detección de gluten y nuevas terapias para la enfermedad celíaca

Corto plazo (5 años)

- Posibilidad de crear nuevos protocolos de estimulación psicomotora.
-

Medio plazo (10 años)

- Modificación de los estilos de vida y su repercusión en el área social.
-

CAPÍTULO 8

Resumen y conclusiones

Los enfermos celíacos sufren intolerancia al gluten, proteína vegetal presente en algunos cereales como trigo, cebada, centeno y, posiblemente, avena. El único tratamiento disponible para estos enfermos es una dieta sin gluten de por vida que revierte los síntomas de la enfermedad. El gluten está presente en los alimentos elaborados con estos cereales pero también forma parte de muchos otros alimentos, e incluso medicamentos, donde esta proteína cumple funciones diversas, espesante, fuente de proteína vegetal, etc. Además, puede aparecer en ciertos alimentos simplemente por contaminación cruzada.

Debido a ello, es importante el desarrollo y la mejora continua de las técnicas analíticas para la detección de esta proteína en los alimentos, que ofrecen un servicio básico a las empresas alimentarias, asociaciones de celíacos y a los propios pacientes. La técnica de detección idónea es aquella que presenta una alta sensibilidad, selectividad y fiabilidad. A lo largo del presente informe se ha realizado una descripción de las principales técnicas utilizadas, hoy en día, para la detección del gluten. También se han analizado otras técnicas que se encuentran en fase de desarrollo y son muy prometedoras.

Se ha realizado un análisis de los retos y perspectivas de la detección del gluten en alimentos, a la vez que se ha incluido información acerca del diagnóstico y la terapia de la enfermedad celíaca. En los anexos del informe se encontrará información relativa al entorno científico, tecnológico y empresarial implicado en la detección de gluten y estudio de la enfermedad celíaca.

El entorno científico en España, en este campo, cuenta con grupos de referencia en el desarrollo de métodos de detección de gluten. Varios equipos de investigación españoles centran su investigación en otros aspectos relacionados con el gluten y la enfermedad celíaca, como el estudio de la genética de la enfermedad, investigación de organismos probióticos para restablecer el equilibrio intestinal, mejora genética de cereales y desarrollo de nuevos productos de panificación sin gluten.

Toda la información relativa a las patentes detectadas más relevantes en distintas áreas, como la detección y extracción del gluten y el diagnóstico y la terapia de la enfermedad celíaca se presenta en el anexo III. El análisis de esta información permite concluir que las solicitudes de tecnologías relacionadas con la detección de gluten están, mayoritariamente, basadas en la utilización de anticuerpos anti-gliadina. No obstante, una solicitud de la Universidad de Leipzig, en Alemania, describe péptidos cortos con capacidad de unión a la gliadina que pueden ser utilizados para la detección de gluten como alternativa a los anticuerpos.

La inhibición de la enzima transglutaminasa ha originado la solicitud de diversas patentes sobre compuestos inhibidores de esta enzima y también sobre el uso de péptidos que pueden ser modificados por la enzima como tratamiento para la enfermedad.

Los péptidos asociados a los receptores de las células T del sistema inmune, péptidos de unión a la prolamina, también han sido propuestos como terapia. De la Universidad de Stanford en Estados Unidos proviene una solicitud que reivindica el efecto de una enzima proil endopeptidasa en la degradación de péptidos tóxicos del gluten. La enzima podría ser administrada oralmente para atenuar la toxicidad del gluten en el paciente.

Por último, en el anexo IV se recopila la información de varias empresas facilitando los servicios que prestan y los productos que comercializan. Dentro de esta relación de empresas figuran varios de los laboratorios de análisis autorizados por la Federación de Asociaciones de Celíacos de España (F.A.C.E). Esta Federación gestiona la marca de garantía "Controlado por F.A.C.E". Los productos acreditados con esta marca de garantía pueden contener como máximo 20 ppm de gluten. Otras empresas, que figuran en el citado anexo, ofrecen otros servicios o productos, como la comercialización de reactivos, *kits* y tiras de detección de gluten.

CAPÍTULO 9

Anexos

ANEXO I. Catálogo de grupos de investigación

En este catálogo se recogen los principales grupos de investigación que trabajan en el desarrollo de métodos de detección de gluten en alimentos y enfermedad celíaca, incluyendo las líneas y proyectos de investigación. Las distintas fichas se organizan en un bloque de grupos españoles, a su vez presentados por temática y localización geográfica y en otro bloque los grupos relevantes del resto de países.

Grupos españoles

DETECCIÓN DE GLUTEN

Andalucía

Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada
<http://biotec.conzepto.com/>

Grupo de Bioquímica y Parasitología Molecular

Departamento de Parasitología
Facultad de Ciencias
Granada

Investigador: Antonio Osuna Carrillo de Albornoz. Tel.: 958 24 41 63. aosuna@ugr.es

Líneas de investigación:

- Determinación de gluten en harinas y alimentos dietéticos especiales para celíacos.

Proyectos de investigación:

- Diseño y optimización de inmunosensores para la detección de gluten. 2001-2004. MEC.
- Desarrollo y optimización de un nuevo método rápido inmunocromatográfico para la determinación de gluten en alimentos dietéticos: utilización de biosensores. 2003-2004. Acciones Coordinadas Plan Andaluz de Investigación.
- Desarrollo de sistemas analíticos rápidos para la determinación cuantitativa y cualitativa de gluten (gliadina) en harinas y alimentos dietéticos especiales para celíacos. 1999-2002.

Universidad de Granada
<http://www.ugr.es>

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II

Facultad de Farmacia
Granada

Tel.: 958 243 838

Investigador: Ángel Gil Hernández. Tel.: 958 24 38 40. agil@ugr.es

Líneas de investigación:

- Biología Molecular. Determinación de microorganismos patógenos, transgénicos y gluten.

Proyectos de investigación:

- Aplicaciones prácticas de la Biología Molecular a la determinación de microorganismos patógenos, transgénicos y gluten. 2005-2006.

Universidad de Jaén
<http://www.ujaen.es>

Grupo de Biotecnología Aplicada a Ecopatología y Conservación

<http://www.ujaen.es/serv/vicinv/grupinv/datosgrupo.php?grupo=82>

Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología

Facultad de Ciencias Experimentales

Paraje Las Lagunillas, s/n. Edificio B-3

23071 Jaén

Tel.: 953 21 18 72. Fax: 953 21 18 73

Investigador: Francisco J. Márquez Jiménez. Tel.: 953 21 27 97. jmarquez@ujaen.es

Líneas de investigación:

- Diseño y optimización de inmunosensores para la detección de gluten.

Proyectos de investigación:

- Diseño y optimización de inmunosensores para la detección de gluten. 2002-2003. MCYT.

Universidad de Málaga
<http://www.uma.es>

Grupo de Biología Molecular y Biotecnología de Plantas

<http://www.bmbq.uma.es/fmp>

Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Química Orgánica

Facultad de Ciencias

Campus de Teatinos

29071 Málaga

Tel.: 952 13 20 41

Investigador: Francisco Cánovas. Tel.: 952 13 23 58. canovas@uma.es

Líneas de investigación:

- Detección de gluten de trigo en alimentos para bebés.

Cataluña

Univesitat Rovira i Virgili
http://www.urv.net/es_index.html

Grupo de Bioingeniería y Bioelectroquímica

<http://www.etseq.urv.es/BBG/technology/tech.htm>

Departamento de Ingeniería Química

Avinguda Països Catalans, 26

Campus Sescelades

43007 Tarragona

Tel.: 977 55 96 03. Fax: 977 55 96 21

Investigadores: Ciara O'Sullivan. Tel.: 977 55 81 74. ckosulli@etse.urv.es.

Ioanis Katakis. Tel.:977 55 96 55. ioanis.katakis@urv.net

Líneas de investigación:

- Desarrollo de protocolos de extracción cuantitativa del gluten presente tanto en alimentos crudos como elaborados. Desarrollo de métodos de detección rápida, económica, precisa y fácil del gluten en los alimentos.

Proyectos de investigación:

- Quantification of Coeliac Disease toxic gluten in foodstuffs using a Chip system with integrated Extraction, Fluidics and biosensoric detection. 2003-2006. UE.

Madrid

Agencia Española de Seguridad Alimentaria
<http://www.iesa.msc.es>

Servicio de Biotecnología

Carretera de Pozuelo-Majadahonda Km. 5
28220 Majadahonda (Madrid)
Fax: 91 509 79 32

Investigador: Ana Isabel Ortiz. Tel.: 91 509 70 41. aiortiz@isciii.es

Líneas de investigación:

- Seguridad alimentaria. Detección de gluten en alimentos.

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC-UAM)
<http://www.cnb.uam.es>

Grupo de Enfermedad celíaca y Alzheimer

http://www.cnb.uam.es/groups/DEM/lineas_dpto4/enrique_mendez/index_html
Departamento de Estructuras de Macromoléculas
Campus de Cantoblanco
C/ Darwin 3. 28049 Madrid
Tel.: 91 585 46 70. Fax: 91 585 45 06

Investigador: Enrique Méndez. Tel.: 91 585 48 42. emendez@cnb.uam.es

Líneas de investigación:

- Desarrollo de nuevos instrumentos de diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer (EA). Desarrollo de métodos de detección de gluten en alimentos mediante ensayos inmunoenzimáticos, espectrometría de masas y PCR.

Proyectos de investigación:

- Desarrollo de tecnología de inmunosensores e inmunocromatografía para el diagnóstico de la Enfermedad Celíaca y la detección de gluten en alimentos. 2001-2003. MEC.
- Desarrollo de tecnologías rápidas de detección de gluten en alimentos y el diagnóstico de la Enfermedad Celíaca. 2002-2003. PROFIT.
- Desarrollo de técnicas para el análisis de proteínas y péptidos de interés biológicos por espectrometría de masas. 1999-2002. MEC.
- Desaminación e hidrólisis ácida "In Vitro" y digestión "Ex Vivo" de las proteínas del Gluten. 2005-2007. MCYT.

País Vasco

Universidad del País Vasco
<http://www.ehu.es>

Área de Nutrición y Bromatología

Facultad de Farmacia
Paseo de la Universidad, 7
01006 Vitoria
Fax: 945 013 014

Investigador: Edurne Simón Magro. Tel.: 945 013 069. edurne.simon@ehu.es

Líneas de investigación:

- Detección de gluten en alimentos.

DIAGNÓSTICO Y TERAPIA DE LA ENFERMEDAD CELÍACA

Andalucía

Universidad de Granada

<http://www.ugr.es>

<http://www.ugr.es/~inmuno/Investigacion/Molina.htm>

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III e Inmunología

Facultad de Medicina. Granada

Tel.: 958243535

Investigador: Ignacio J. Molina Pineda de las Infantas. Tel.: 958 24 35 22. imolina@ugr.es

Líneas de investigación:

- Linfocitos T y su contribución al desarrollo de enfermedades inmunológicas humanas.

Proyectos de investigación:

- Papel funcional de los receptores CD94/NKG2 en linfocitos T CD4+ y su contribución al desarrollo de enfermedades inmunológicas humanas. MEC.

Universidad de Sevilla

<http://portal.us.es>

Grupo de Biotecnología de la Interacción Planta-Microorganismo Beneficioso

<http://alojamientos.us.es/dmicropara>

Departamento de Microbiología y Parasitología

Facultad de Farmacia

C/ Profesor García González, 2 4ª Planta. 41012 Sevilla

Tel.: 95 455 67 63. Fax: 95 462 81 62

Investigador: Manuel Megías Guijo. Tel.: 95 455 67 66. megiasg@us.es

Líneas de investigación:

- Utilización de proteasas bacterianas para la degradación de proteínas de cereales con interés clínico (enfermedad del celiaco).

Asturias

Hospital Central de Asturias

<http://www.hca.es>

Servicio del Aparato Digestivo

http://www.hca.es/html/memorias/Memoria_huca2002/paginas/cientifica/digestivo.html

C/ Celestino Villamil, s/n. 33006 Oviedo

Tel.: 985 10 80 00. Fax: 985 10 61 00

Investigador: Luis Rodrigo Sáez. Tel.: 985 108 058. lrodrigos@terra.es

Líneas de investigación:

- Relación del alelo MICA-A5.1 con las formas atípicas de presentación de la enfermedad celíaca en pacientes HLA-DQ2 negativos. Genes relacionados con el desarrollo de la enfermedad celíaca. Asociación entre enfermedad celíaca y enfermedades autoinmunes hepáticas colestásicas. Formas neurológica y hepática de la enfermedad celíaca.

Castilla León

Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM-UVA-CSIC)
<http://www.ibgm.med.uva.es/es/index.php>

Departamento de Pediatría e Inmunología, Obstetricia y Ginecología, Nutrición y Bromatología

Psiquiatría e Historia de la Ciencia

Facultad de Medicina

Universidad de Valladolid

C/ Ramón y Cajal, 7

47005 Valladolid

Tel.: 983 42 31 86. Fax: 983 18 38 12

Investigador: Eduardo Arranz. Tel.: 983 18 48 43. earranz@med.uva.es

Líneas de investigación:

- Estudios sobre los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de los distintos tipos de lesión intestinal integrados en el espectro de cambios asociados a la sensibilidad al gluten en el intestino. Mecanismos moleculares de lesión intestinal en la sensibilidad al gluten. Nuevas estrategias terapéuticas. Inmunomodulación.

Proyectos de investigación:

- Determinación de la expresión m-RNA de citoquinas y otros factores reguladores por RT-PCR en el intestino de pacientes con enfermedad celíaca. 2004-2005. Junta de Castilla y León.
- Marcadores de actividad, evolución y pronóstico en las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino. 2003-2006. Fondo de Investigaciones Sanitarias.
- Estrategias de inhibición de la respuesta inmune innata y adquirida frente al gluten en un modelo *ex vivo* de cultivo de biopsia intestinal con péptidos sintéticos. 2007-2008. Junta de Castilla y León.

Cataluña

Hospital Sant Joan de Deu
<http://www.hsjdbcn.org/index.jsp>

Laboratori de Gastroenterologia

Passeig de Sant Joan de Déu, 2

08950 Esplugues de Llobregat (Barcelona)

Investigador: Carmen Farré Masip. Tel.: 93 253 21 00. farre@hsjdbcn.org

Líneas de investigación:

- Optimizar los recursos diagnósticos para mejorar el diagnóstico y seguimiento de la EC. Realizar una labor divulgativa de la enfermedad entre profesionales sanitarios y pacientes colaborando con las Asociaciones de celíacos.

Comunidad Valenciana

Hospital Universitario La Fe
<http://www.fundacionlafe.org>

Servicio de Gastroenterología Pediátrica

Avenida Campanar, 21
46009 Valencia

Tel.: 963 86 27 00. Fax: 963 46 23 30

Investigador: Carmen Ribes

Líneas de investigación:

- Tratamiento y prevención de la enfermedad celíaca.

Proyectos de investigación:

- Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca mediante el estudio de las interacciones entre los factores genéticos, la alimentación y el patrón de colonización intestinal en neonatos y lactantes. 2005-2007. Proyectos Intramurales de Frontera-CSIC.

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos - CSIC
<http://www.iata.csic.es>

Laboratorio de Microbiología

Apartado 73
46100 Burjassot (Valencia)

Tel.: 96 390 00 22. Fax: 96 363 63 01

Investigador: Yolanda Sanz Herranz. yolsanz@iata.csic.es

Líneas de investigación:

- Bacterias intestinales con potencial probiótico. Prevención de la enfermedad celíaca.

Proyectos de investigación:

- Selección de bacterias intestinales con potencial probiótico para restablecer el equilibrio intestinal y mejorar la calidad de vida de la población celíaca. 2005-2008. CICYT.
- Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca mediante el estudio de las interacciones entre los factores genéticos, la alimentación y el patrón de colonización intestinal en neonatos y lactantes. 2005-2007. Proyectos Intramurales de Frontera-CSIC.

Instituto de Biomedicina de Valencia - CSIC

Unidad de Genética y Medicina Molecular

<http://www.ibv.csic.es/es/UMM.htm>

C/ Jaume Roig, 11
4601 Valencia

Tel.: 96 339 17 60

Investigador: Francesc Palau Martínez. Tel.: 96 339 37 73. fpalau@ibv.csic.es

Líneas de investigación:

- Genética de la Enfermedad Celíaca.

Madrid

Hospital Infantil Universitario La Paz
<http://www.hulp.es>

Servicio de Gastroenterología y Nutrición.

Pº Castellana, 261

28046 Madrid

Tel.: 91 727 70 00

Investigador: Isabel Polanco Allué. Tel.: 91 727 71 29

Líneas de investigación:

- Tratamiento y prevención de la enfermedad celíaca.

Proyectos de investigación:

- Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca mediante el estudio de las interacciones entre los factores genéticos, la alimentación y el patrón de colonización intestinal en neonatos y lactantes. 2005-2007. Proyectos Intramurales de Frontera-CSIC.

Hospital de Fuenlabrada
<http://www.hospitaldefuenlabrada.org>

Servicio de Pediatría

Cº del Molino 2

28942 Fuenlabrada (Madrid)

Tel.: 91 600 6000

Investigador: Enriqueta Román

Líneas de investigación:

- Tratamiento de la enfermedad celíaca.

Proyectos de investigación:

- Registro español de pacientes celíacos (REPAC)

Instituto del Frío (CSIC)
<http://www.if.csic.es>

Departamento de Metabolismo y Nutrición (DMN)

C/ José Antonio Novais, 10

Ciudad Universitaria

28040 Madrid

Tel.: 91 544 56 07. Fax: 91 549 36 27

Investigadoras: Ascensión Marcos. Tel.: 91 549 00 38. amarcos@if.csic.es

Esther Nova Rebato. Tel.: 91 549 00 38. enova@if.csic.es

Líneas de investigación:

- Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca mediante el estudio de las interacciones entre los factores genéticos, la alimentación y el patrón de colonización microbiana en neonatos y lactantes.

Proyectos de investigación:

- Identificación de estrategias de prevención de la enfermedad celíaca mediante el estudio de las interacciones entre los factores genéticos, la alimentación y el patrón de colonización intestinal en neonatos y lactantes. 2005-2007. Proyectos Intramurales de Frontera-CSIC.
- Evaluación de la inmunocompetencia y el estado nutricional de la población celíaca. Valoración de las propiedades inmunomoduladoras de potenciales probióticos. 2005-2008. MEC.

Universidad Rey Juan Carlos

<http://www.urjc.es>

<http://www.cs.urjc.es>

Departamento de Ciencias de la Salud III. Área de Anatomía y Embriología Humana

Facultad de Ciencias de la Salud

Edificio Departamental I (Alcorcón)

Avda Atenas, s/n

28922 Alcorcón (Madrid)

Tel.: 91 488 88 00. Fax: 91 488 89 04

Investigador: Rafael Linares García-Valdecasas. Tel.: 91 488 88 12. rafael.linares@urjc.es

Líneas de investigación:

- Valoración del estado funcional del aparato locomotor de las personas celíacas.

País Vasco

Hospital de Cruces

<http://www.hospitalcruces.com>

Departamento de Pediatría-Gastroenterología

Plaza de Cruces s/n

48903 Barakaldo (Vizcaya)

Tel.: 94 600 6000

Investigador: Juan Carlos Vitoria Cormenzana

Líneas de investigación:

- Enfermedad celíaca.

Proyectos de investigación:

- Enfermedad celíaca oculta en mujeres embarazadas y en mujeres con trastornos de la gestación. 2004-2006. Instituto de Salud Carlos III-Fondo de Investigaciones Sanitarias.

Hospital de Cruces

<http://www.hospitalcruces.com>

Unidad de Investigación

Plaza de Cruces s/n

48903 Barakaldo (Vizcaya)

Tel.: 94 600 6000

Investigador: José Ramón Bilbao Catalá

Líneas de investigación:

- Genética de la enfermedad celíaca.

Proyectos de investigación:

- Identificación y caracterización de marcadores de susceptibilidad genética y potenciales dianas de prevención en la autoinmunidad: enfermedad celíaca (dc) y diabetes tipo 1 (t1dm). 2004-2007. Sanidad País Vasco
- Estudio de la activación génica por estimulación con gliadina en biopsia intestinal de pacientes con enfermedad celíaca. 2004-2007. Instituto de Salud Carlos III-Fondo de Investigaciones Sanitarias.

NUEVOS ALIMENTOS LIBRES DE GLUTEN

Andalucía

Instituto de Agricultura Sostenible de Córdoba - CSIC

<http://www.ias.csic.es>

http://www.ias.csic.es/barro_losada_francisco.htm

Finca Alameda del Obispo

14080 Córdoba

Tel.: 957 49 92 00

Investigador: Francisco Barro Losada. Tel.: 957 49 92 44. ge1balof@uco.es

Líneas de investigación:

- Mejora de la calidad de cereales. Transformación genética de cereales.

Proyectos de investigación:

- Hibridación interespecífica y biotecnología en la mejora de cereales. 2001-2003. MEC.

Castilla León

Universidad de Valladolid

<http://www.uva.es>

Departamento de Tecnología de Alimentos

E.T.S Ingenierías Agrarias

Avda. Madrid, 57

34004 Palencia

Tel.: 979 10 83 00

Investigador: Manuel Gómez Pallares. Tel.: 979 10 83 59. pallares@iaf.uva.es

Líneas de investigación:

- Análogos de gluten.

Proyectos de investigación:

- Mejora de la red de gluten y creación de estructuras análogas mediante interacción de proteínas, hidratos de carbono y enzimas. 2005-2008. MEC.

Comunidad Valenciana

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos - CSIC
<http://www.iata.csic.es>

Grupo de Cereales y Panificación

Departamento de Ciencia de los Alimentos

Apartado 73

46100 Burjassot (Valencia)

Tel.: 96 390 00 22. Fax: 96 363 63 01

Investigador: Cristina Molina Rosell. crosell@iata.csic.es

Líneas de investigación:

- Productos de panificación, pan de maíz, para necesidades especiales.

Proyectos de investigación:

- Obtención de productos de panificación para necesidades específicas. 2006-2009. CYTED.
 - Mejora de la calidad del pan de maíz, en el contexto de alimento funcional. 2006-2007. CSIC-CONICET.
-

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos - CSIC
<http://www.iata.csic.es>

Grupo de Levaduras de Panadería

<http://www.iata.csic.es/Personas/Personas/PrietoAntonio/PrietoAntonio.htm>

Departamento de Biotecnología de los Alimentos

Apartado 73

46100 Burjassot (Valencia)

Tel.: 96 390 00 22. Fax: 96 363 63 01

Investigador: José Antonio Prieto. Tel.: 96 390 23 03. prieto@iata.csic.es

Líneas de investigación:

- Desarrollo de nuevos alimentos libres de gluten.

Proyectos de investigación:

- Development of new gluten-free baked goods with improved structural and nutritional properties. 2003-2005. UE.
-

Universidad Politécnica de Valencia
<http://www.iad.upv.es>

Grupo de Química, Microestructura y Mejora Genética en los Procesos Agroalimentarios

<http://carta.cc.upv.es/knl/carta/grupo.jsp?aux=323>

Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo

Camino de Vera, s/n

46022 Valencia

Tel.: 96 387 70 56

Investigador: Isabel Pérez Munuera. iperez@tal.upv.es

Líneas de investigación:

- Tratamientos enzimáticos para reforzar la estructura proteica de los cereales.

Proyectos de investigación:

- Microestructura de matrices alimentarias con funcionalidad equivalente a la red del gluten del trigo. 2005-2008. MEC.

Grupos extranjeros

Celiac Sprue Research Foundation

<http://www.celiacsprue.org>

P.O. Box 61193
9430 Palo Alto, Estados Unidos
Tel.: 650 251 9865

Investigador: Gary M. Gray

Líneas de investigación:

- Fisiología gastrointestinal y enfermedades digestivas, incluida la enfermedad celíaca.
-

Fascoda Food Consultancy

Coehoornsingel 44
7201 Ad Zutphen, Holanda
Investigador: Frederik Janssen. Tel.: 31 575 515948. fwjanssen@chello.nl

Food Research Institute Prague

<http://www.vupp.cz>

Department of Nutritive Substances

Radiová 7
10231 Praga, República Checa
Investigador: Dana Gabrovská. Tel.: 420 296 762. d.gabrovska@vupp.cz

Líneas de investigación:

- Análisis de productos alimentarios (proteínas, vitaminas, gliadina, ácidos grasos, etc...). Desarrollo de recetas para productos para nutrición especial y dietética (diabetes, celiaquía, fenilcetonuria).
-

Gastroenterology Rayne Institute

St. Thomas Hospital
4th Floor Lambeth Wing
SE1 7EH
Londres. Reino Unido
Tel.: +44 207 9605529. Fax: +44 207 2610667
Investigador: Paul J. Ciclitira. Tel.: 0207 620 2597. paul.ciclitira@kcl.ac.uk

Líneas de investigación:

- Investigaciones sobre la enfermedad celíaca e inflamatoria del intestino. Identificación de las fracciones tóxicas en cereales. Métodos de análisis para la cuantificación de la fracción tóxica celíaca. Estudio de los mecanismos de la enfermedad celíaca. Detección y caracterización de cereales (trigo, cebada, centeno) sin componentes tóxicos para los individuos con enfermedad celíaca y que mantengan las características tecnológicas de los productos originales.

German Research Centre for Food Chemistry
<http://www.dfal.de>

Grupo de relaciones estructura/función de biopolímeros

Lichtenbergstraße 4
85748 Garching, Alemania

Investigador: Herbert Wieser. Tel.: (089) 289 1417

Líneas de investigación:

- Desarrollo de métodos de caracterización de biopolímeros vegetales. Determinación de fracciones tóxicas en biopolímeros.

Hospital Necker París
<http://www.necker.fr>

Grupo de interacciones del epitelio intestinal con el sistema inmunitario

http://www.necker.fr/irnem/detail_unites.asp?ID=15

156 rue de Vaugirard
75730 París cedex 15, Francia

Investigador: Nadine Cerf-Bensussan. Tel.: 0140615637. cerf@necker.fr

Líneas de investigación:

- Aparato digestivo y enfermedad celíaca. Interacciones sistema inmune-epitelio intestinal.

Institut National de la Recherche Agronomique Nantes
<http://www.nantes.inra.fr/>

Grupo de alergias alimentarias a proteínas vegetales

http://www.nantes.inra.fr/nantes_eng/les_recherches/biopolymeres/allergie_aux_proteines_vegetale
BP 71667

44316 Nantes, Francia

Investigador: Sandra Denery-Papini. Tel.: 33 02 40 67 50

Líneas de investigación:

- Identificación y caracterización de los alérgenos mayoritarios y de las estructuras moleculares (epítomos) implicadas en la alergia al trigo

Universidad de Nápoles Federico II
<http://www.unina.it>

Laboratorio Europeo para el estudio de las enfermedades alimentarias

<http://www.elfid.unina.it>

Departamento de Gastroenterología
80138 Nápoles, Italia

Investigador: Salvatore Auricchio

Riccardo Troncone. troncone@unina.it

Líneas de investigación:

- Genética de la enfermedad celíaca. Análisis de la respuesta inmune del organismo a la exposición a prolaminas tóxicas. Alergias alimentarias.

Universidad de Oslo

Hospital Universitario Rikshospitalet

Instituto de Inmunología
Oslo, Noruega

Investigador: Ludvig M. Sollid. l.m.sollid@medisin.uio.no

Líneas de investigación:

- Inmunogenética funcional. Enfermedades autoinmunes. Bases moleculares de la enfermedad celíaca.

Universidad de Tampere

<http://www.uta.fi>

Department of Gastroenterology and Alimentary Tract Surgery

Tampere University Hospital and Medical School

P.O. Box 607

33014 Tampere, Finlandia

Investigador: Katri Kaukinen. Tel.: 358 3 311 6696. katri.kaukinen@uta.fi

Líneas de investigación:

- Efecto de las trazas de gluten en el tratamiento de la enfermedad celíaca. Toxicidad de la avena.

Universidad de Tampere

<http://www.uta.fi>

Grupo de estudio de la enfermedad celíaca

<http://www.uta.fi/~llmama/cdstudy/index.htm>

Centro de Investigación en Pediatría

Facultad de Medicina

Building Finn-Medi 3

33014 Tampere, Finlandia

Investigador: Markku Mäki. Tel.: +358 3 3551 8400. markku.maki@uta.fi

Líneas de investigación:

- Aspectos de investigación básica y clínica de la enfermedad celíaca. Papel de la nutrición en la salud de los enfermos celíacos. Diagnóstico no invasivo para detectar etapas tempranas de la enfermedad.

Universidad Leiden

<http://www.leiden.edu>

Departamento de inmunohematología y transfusión de sangre

Centro Médico Universidad Leiden

Albinusdreef 2

2300 Leiden, Holanda

Investigador: Frits Koning. Tel.: 071 526 6673. fkoning@lumc.nl

Líneas de investigación:

- Bases moleculares de la regulación inmune.

Universidad Leipzig
<http://www.uni-leipzig.de>

Grupo de Factores Inmunológicos de Intolerancia Gastrointestinal a Proteínas

Instituto of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics
Liebigstr. 27

04103 Leipzig, Alemania

Investigador: Thomas Mothes. Tel.: 49 0341 97 222. mothes@medizin.unileipzig.de

Líneas de investigación:

- Incompatibilidades inmunológicas con proteínas alimentarias, como ejemplo, la enteropatía sensible a gluten. Especificidad de epitopos de anticuerpos encontrados en enfermos celíacos. Mejoras en el diagnóstico de la enfermedad y en los mecanismos de la enfermedad. Desarrollo de métodos de detección de gluten.

Universidad Nacional de La Plata
<http://www.exactas.unlp.edu.ar>

Cátedra de Inmunología

Facultad de Ciencias Exactas

Calle 115 y 47

1900 La Plata, Argentina

Tel.: 54 221 4226977

Investigador: Fernando G. Chirido. fchirido@biol.unlp.edu.ar

Líneas de investigación:

- Desarrollo de métodos de detección de gluten y certificación de alimentos aptos para consumo por enfermos celíacos, mediante el análisis del contenido de prolaminas tóxicas en productos alimenticios.

Universidad Stanford
<http://www.stanford.edu>
<http://www.stanford.edu/dept/chemistry/faculty/khosla>

Facultad de Química

Palo Alto, Estados Unidos

Investigador: Chaitan Khosla. Tel.: 650 723 6538. khosla@stanford.edu

Líneas de investigación:

- Desarrollo de una terapia oral para el tratamiento de la enfermedad celíaca. Inhibidores de la enzima transglutaminasa 2 y de las células T mediante péptidos análogos al gluten.

Universidad Umea
<http://www.umu.se>

Paediatrics, Dept. of Clinical Sciences

90187 Umea, Suecia

Investigador: Anneli Ivarsson. Tel.: 46 90 785 3344. anneli.ivarsson@epiph.umu.se

Líneas de investigación:

- Prevención de la enfermedad celíaca.

Università Politecnica delle Marche de Ancona
<http://www.unian.it>

Instituto di Clinica Pediatrica

Medicina e chirurgia

Via Corridoni, 11

60123 Ancona, Italia

Investigador: Carlo Catassi. Tel.: 071 596 23. catassi@tin.it

Líneas de investigación:

- Estudios de tolerancia y tratamiento de la enfermedad celíaca.

University Children´s Hospital Tübingen

<http://www.medizin.uni-tuebingen.de/kinder/index.php>

Laboratorio de Gastroenterología

<http://www.medizin.uni-tuebingen.de/kinder/labor/gastroenterologisches-labor/>

Hoppe-Seyler-Str. 1

72076 Tübingen (Alemania)

Investigador: Martin Stern. Tel.: 07071-29 83820

Líneas de investigación:

- Determinación de los anticuerpos implicados en la enfermedad celíaca.

University of Dublin

<http://www.tcd.ie>

http://healthsciences.tcd.ie/pls/public/staff.detail?p_unit=immunology&p_name=cfighery

Department of Immunology

St. James's Hospital

James's Street

Dublin, Irlanda

Investigador: Conleth Feighery. Tel.: 353 1 608 3432. con.feighery@tcd.ie

Líneas de investigación:

- Inmunodeficiencias, enfermedades autoinmunes, Granulomatosis de Wegener, enfermedad celíaca.

Victoria University of Wellington

<http://www.vuw.ac.nz>

http://www.vuw.ac.nz/sbs/staff/staff_research_fellows/vaneckertrenate/vaneckertrenate.aspx

School of Biological Sciences

Room KK 707, New Kirk Building, Kelburn Campus

Wellington, Nueva Zelanda

Investigador: Renate van Eckert. Tel.: 044635233. renate.vaneckert@vuw.ac.nz

Líneas de investigación:

- Detección de proteínas en alimentos relacionadas con enfermedades, alergias/intolerancias. La línea principal es la detección de gluten en alimentos.

Walter and Eliza Hall Institute for Medical Research
<http://www.wehi.edu.au>

División de Autoinmunidad y Transplantes

1G Royal Parade, Parkville Victoria
3050 Melbourne, Australia
Tel.: 61 3 9345 2555

Investigador: Robert Anderson. banderson@wehi.edu.au

Líneas de investigación:

- Desarrollo de una inmunoterapia peptídica altamente específica para inducir tolerancia al gluten.

ACRÓNIMOS UTILIZADOS EN EL ANEXO I

CICYT	Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología
CONITED	Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina
CYTED	Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo
EC	Enfermedad celíaca
MCYT	Ministerio de Ciencia y Tecnología
MEC	Ministerio de Educación y Ciencia
PN	Plan Nacional de Investigación I+D+i
PROFIT	Programa de Fomento de la Investigación Técnica
UE	Unión Europea

ANEXO II. Proyectos de investigación

En este anexo se detallan los proyectos de investigación relativos a las técnicas de detección de gluten y enfermedad celíaca de grupos extranjeros, clasificados en distintas categorías según la naturaleza del proyecto.

Diagnóstico y terapia de la enfermedad celíaca

Título: High throughput development of drugs for immunotherapy of autoimmune diseases.

Centro: Academisch Ziekenhuis Leiden

Periodo: 2004-2008

Financiación: UE

Título: Evaluation of the prevalence of the coeliac disease and its genetic components in the european population.

Centro: Amylum-Belgium NV

Responsable: Bruno Jarry

Periodo: 2000-2003

Financiación: UE

Título: European platform for research on prevention and treatment of coeliac disease: a multidisciplinary approach to integrate basic scientific knowledge in clinical applications and food industry.

Centro: Centro Médico Universidad Leiden

Periodo: 2005-2007

Financiación: UE

Título: Coeliac disease-monitoring & diagnosis using an integrated chip system.

Centro: Trace Biotech AG

Responsable: Wolfgang Künnecke

Periodo: 2001-2002

Financiación: UE

Título: The Role of Tissue Transglutaminase in Inducing Gluten T Cell Response and Autoantibody Formation in Coeliac Disease.

Centro: Universidad de Oslo

Institute of Immunology

Responsable: Ludvig M. Sollid

Financiación: UE

Título: Coeliac disease - a food induced disorder. Exploration and exploitation of T cell stimulatory gluten peptides.

Centro: Universidad Oslo

Institute of Immunology

Responsable: Toril Johansson

Periodo: 2001-2004

Financiación: UE

Título: **New Chitosan Formulations for the Prevention and Treatment of diseases and dysfunctions of the digestive tract (Hypercholesterolemia, overweight, ulcerative colitis and celiac disease) (CHITOSANPEROS).**

Centro: Università Politecnica delle Marche

Periodo: 2005-2007

Financiación: UE

Nuevos alimentos libres de gluten

Título: **Enzymes modifications of macromolecules from wheat used in bread making.**

Centro: Conservatoire National des Arts et Metiers

Periodo: 2004-2005

Financiación: UE

ANEXO III. Solicitudes de patentes publicadas

Los datos presentados a continuación resumen las principales solicitudes de patentes relacionadas con las técnicas de detección de gluten y enfermedad celíaca publicadas en los últimos años. En primer lugar se enumeran las solicitudes de patentes relacionadas con el diagnóstico y terapia de la enfermedad celíaca y en último lugar se recogen algunas solicitudes sobre extracción y detección de gluten.

<i>Número de publicación</i>	<i>Contenido técnico</i>	<i>Solicitante</i>	<i>Año de publicación</i>
------------------------------	--------------------------	--------------------	---------------------------

Diagnóstico y terapia de la enfermedad celíaca

US2006052308	Tratamiento del cáncer, enfermedad celíaca y dermatitis herpetiforme mediante administración de un compuesto dihidroxisoxazol con actividad inhibitoria transglutaminasa.	Univ. Stanford	2006
US2006002917	Tratamiento contra la enfermedad celíaca y/o dermatitis herpetiforme que comprende la administración al paciente de una dosis efectiva de una glutenasa, que atenúa la toxicidad del gluten en el paciente.	Univ. Stanford	2006
US2004115750	Detección de enfermedades inducidas por gluten p. ej. enfermedad celíaca, en una muestra de sangre conteniendo glóbulos rojos mediante reacción de la transglutaminasa (tTG) liberada por los glóbulos rojos con anticuerpos anti-tTG para formar complejos antígeno-anticuerpo.	M. Maeki (inventor)	2004
US2003032060	Nuevos polipéptidos PRO aislados p. ej. PR01800, PR0539 y PR0982, de la familia de la proteína N-acetilglucosaminiltransferasa, útiles para diagnosticar, tratar o prevenir trastornos inmunes e inflamatorios.	Genentech	2003
W003066079	Nuevos péptidos o epítopos susceptibles de deamidación por transglutaminasa, útiles para el tratamiento de la enfermedad celíaca o una enfermedad autoinmune, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus sistémico eritromatoso o diabetes.	Academisch Ziekenhuis Leiden	2003
W002083722	Nuevos receptores HLA-DQ restrictivos de células T y péptidos de unión a HLA-DQ derivados de la prolamina para tratar enteropatías inmunes como la enfermedad celíaca, giardiasis y alergias alimentarias infantiles.	Academisch Ziekenhuis Leiden	2002
CN1304042	Kit para la detección de anticuerpos gliadina en el suero de pacientes y su método de preparación.	Wu Guangyao	2001
EP0905518	Nuevos péptidos antigénicos del gluten y métodos para su aislamiento, útiles como agentes diagnósticos y para el tratamiento de la intolerancia al gluten, i.e. enfermedad celíaca (EC).	Academisch Ziekenhuis Leiden	1999
US5817523	Diagnóstico de la enfermedad celíaca - utilizando fragmento de gliadina para inducir la formación de anticuerpo antiendomiso en cultivo.	A. Picarelli (inventor)	1998

<i>Número de publicación</i>	<i>Contenido técnico</i>	<i>Solicitante</i>	<i>Año de publicación</i>
------------------------------	--------------------------	--------------------	---------------------------

Extracción y detección de gluten

W02006004394	Detección de gluten o sus residuos peptídicos en muestras de, p. ej. trigo, que requiere incubar la muestra con un anticuerpo y determinar si el anticuerpo está unido al péptido.	Academisch Ziekenhuis Leiden	2006
W02005085847	Detección de alérgenos mediante anticuerpos monoclonales que reconocen leche nativa y desnaturalizada, albúmina de huevo, alérgenos del trigo y cacahuete, que incluye la utilización de caseína alphas1 alphas2, beta-lactoglobulina, ovoalbúmina, gliadina o Arah1.	Prima Meat Packers Ltd.	2005
ES2239545	ELISA competitivo para la detección de gluten hidrolizado y sus aplicaciones.	Consejo Superior de Investigaciones Científicas	2005
DE10154458	Nuevos heptapéptidos que unen gliadina, útiles para el análisis de alimentos para detectar prolaminas que causan la enfermedad celíaca.	Univ. Leipzig	2003
ES2182698	Procedimiento para la extracción de gluten en alimentos procesados y no procesados por calor, compatible con ELISA, composición y kits que comprenden dicha composición.	Consejo Superior de Investigaciones Científicas	2003
W00175451	Cuantificación de proteínas de cereales en un sustrato mediante hidrólisis parcial y medida inmunoquímica usando al menos un anticuerpo.	Agronomique Inst. Nat. Rech.	2001
ES2142720	Procedimiento de cuantificación del gluten en alimentos mediante espectrometría de masas MALDI-TOF.	Consejo Superior de Investigaciones Científicas	2000
GB2207921	Anticuerpo monoclonal contra la proteína omega-gliadina de trigo - utilizado para la detección y cuantificación de gluten en alimentos, bebidas y fármacos.	Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org. (CSIR)	1989

ANEXO IV. Entorno empresarial

En este anexo se detalla la información relativa a empresas que comercializan productos relacionados con detección de gluten en alimentos, y empresas que ofrecen servicios de detección de gluten. En las fichas de las empresas se encontrarán los datos sobre los servicios y productos que ofrecen estas empresas.

Applus Norcontrol S.L.U.

España

www.applusagroalimentario.com

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Aquimisa S.L.

España

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Biomedal, S.L.

España

www.biomedal.es

Servicios: Empresa que trabaja en la identificación de enzimas que hidrolizan el gluten, con la tecnología que permite detectar la formación de péptidos / partículas tóxicas.

BMB Hospitalaria, S.L.

España

Productos: Test para la enfermedad celíaca BIOCARD™. Test inmunocromatográfico rápido para la detección cuantitativa de anticuerpos anti-transglutaminasa mediante sangre de la yema del dedo.

Biotecnal, S.A.

España

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Ceinal, S.A. (Grupo Silliker)

España

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Chemical Control

Italia

www.chemicalcontrol.it

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Imbiosis

España

www.imbiosis.com

Servicios: Servicios de detección y cuantificación de gluten en alimentos por diversas técnicas. Técnicas cuantitativas: ELISA R5 Sandwich (gluten nativo), ELISA R5 competitivo (gluten hidrolizado), ELISA competitivo de avena. Técnicas confirmatorias: Western Blot R5, PCR cuantitativa, espectrometría de masas MALDI-TOF.

Productos: Solución "cocktail" de extracción de gluten.

Ingenasa

España

www.ingenasa.es

Servicios: Biotecnología aplicada a sanidad animal. ~~Tiras inmunocromatográficas (anticuerpo R5).~~

Productos: Ingezim Gluten. Kits ELISA (anticuerpo R5).

Laboratorio Lacater

España

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Neogen Corporation

Estados Unidos

<http://www.neogen.com>

Productos: Kits de detección de prolaminas mediante ELISA tipo sandwich.

Neotron S.p.A.

Italia

www.neotron.it

Servicios: Servicio de detección de gluten por inmunoensayo.

Operon

España

www.operon.es

Servicios: Tiras inmunocromatográficas (anticuerpo R5).

Productos: Sticks gluten.

Raisio Diagnostics (antes Diffchamb)

Finlandia

www.diffchamb.com

Servicios: Kits ELISA (anticuerpo Skerrit y R5).

Productos: Transia Gluten, Transia Prolamin.

r-Biopharm

Alemania

www.r-biopharm.com

Servicios: Kits ELISA (anticuerpo R5).

Productos: Ridascreen Gliadin, RidaQuick Gliadin.

Sistemas Genómicos

España

www.sistemasgenomicos.com

Servicios: Servicio de detección de gluten por PCR.

Tepnel Biosystems

Reino Unido

www.tepnel.com/ag_bio_and_food_testing/allergens_overview.asp

Servicios: Kits ELISA y ensayos rápidos (tiras inmunocromatográficas).

Productos: Biokits Gluten Assay kit, Biokits Rapid Gluten test kit.

ANEXO V. Metodología empleada y estrategias de búsqueda

Vigilancia tecnológica

La elaboración del presente informe de vigilancia tecnológica requiere la realización de distintas actividades, como la búsqueda en bases de datos de publicaciones científicas, de patentes, proyectos de investigación y grupos de investigación, así como en portales de interés sobre legislación, noticias, ayudas y subvenciones, eventos, etc. A continuación se proporcionan enlaces a estas bases de datos y portales de interés en el ámbito de las técnicas de detección de gluten y enfermedad celíaca.

1. Publicaciones científicas

1.1 Buscadores científicos

Para la elaboración de este informe, fundamentalmente, se han utilizado dos buscadores científicos:

- *Scirus*: buscador de publicaciones científicas y de páginas web de contenido científico. (www.scirus.com)
- *Isi Web of knowledge*: índices de impacto de las revistas científicas, citas de cada artículo o autor y listados de investigadores relevantes en cada materia. Permite la búsqueda de artículos científicos a través de las citas. Requiere suscripción. (La mayor parte de los centros de investigación en España tienen acceso desde el 2004). (<http://portal.isiknowledge.com>)
- *Pub Med* (www.pubmed.gov)

Y las siguientes bases de datos que pertenecen a diferentes editoriales *on-line* de revistas científicas (requieren suscripción):

- *Science Direct* (www.sciencedirect.com)
- *Springer* (www.springerlink.com)
- *Blackwell publishing* (www.blackwellpublishing.com)

Palabras clave

Las principales palabras clave que se han utilizado para realizar las búsquedas sobre métodos de detección de gluten en las bases de datos de revistas científicas, patentes y proyectos son las siguientes:

<i>Detección de gluten</i>	
<i>Castellano</i>	<i>Inglés</i>
extracción gluten	gluten extraction
detección gluten	gluten detection
prolaminas	prolamins
gliadinas	gliadins
secalinas	secalins
hordeínas	hordeins
aveninas	avenins
cereal	cereal
trigo	wheat
centeno	rye
cebada	barley
avena	oats
alérgeno	allergen

Enfermedad celíaca

<i>Castellano</i>	<i>Inglés</i>
enfermedad celiaca/celiaquía	coeliac/celiac disease/celiac sprue
HLA DQ2 DQ8	HLA DQ2 DQ8
enfermedad digestiva	digestive disease

1.2 Revistas científicas especializadas

En este apartado se han incluido algunas de las revistas en las que pueden aparecer artículos relacionados con los métodos de detección de gluten en alimentos y enfermedad celíaca.

Detección de gluten en alimentos y enfermedad celíaca

Journal of Cereal Science

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/07335210>

Best Practice & Research Clinical Gastroenterology

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/15216918>

Trends in Food Science and Technology

<http://www.elsevier.com/locate/tifs>

The Journal of Immunology

<http://www.jimmunol.org>

Cereal Chemistry

http://www.nonprofitjournals.org/journals/cereal_chemistry.htm

Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition

<http://www.jpjn.org>

Journal of Agricultural and Food Chemistry

<http://pubs.acs.org/journals/jafcau/index.html>

American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology

<http://ajpgi.physiology.org>

European Journal of Gastroenterology and Hepatology

<http://www.eurojgh.com>

Food Microbiology

www.elsevier.com/locate/inca/622833

2. Patentes

Una patente es un título otorgado por el Estado que concede un derecho de explotación exclusivo de una invención en todo el territorio nacional por un periodo de tiempo determinado. Es decir, con la concesión de una patente se excluiría a otros de fabricar, usar, vender o importar la invención. Para que un producto o proceso sea patentable es necesario que cumpla ciertos requisitos:

- *Novedad*: no debe existir publicación alguna que incluya el tema que se desee patentar y no debe haber patentes publicadas que recojan reivindicaciones o descripciones técnicas que se deseen patentar.
- *Actividad inventiva*: no ha de ser obvio para un experto en la materia.
- *Aplicación industrial*.

A través de las patentes se pueden identificar las tendencias del mercado y los últimos desarrollos industriales y conocer las áreas ya investigadas. En el Anexo III se incluyen las patentes detectadas que pueden ser de interés para la detección de gluten y enfermedad celíaca.

Para realizar las búsquedas de patentes y solicitudes de patente se puede recurrir a las siguientes bases de datos de acceso gratuito:

- (www.wipo.int). Organización mundial de propiedad intelectual. Tiene un buscador de patentes de todos los países.
- EPO (www.european-patent-office.org). Oficina Europea de Patentes. Tiene un buscador que permite buscar patentes de numerosos países, además de las europeas (Esp@cenet <http://ep.espacenet.com>) que resulta bastante intuitivo y sencillo en comparación con otros.
- Depatisnet (www.depatistnet.de). Buscador de patentes de todo el mundo proporcionado por la Oficina Alemana de Patentes y Marcas.
- USPTO (www.uspto.gov). Oficina de Patentes y Marcas Estadounidense. Tiene un buscador de patentes estadounidenses.
- OEPM (www.oepm.es). Oficina Española de Patentes y Marcas. Tiene un buscador de patentes españolas y europeas.
- JPO (<http://www.jpo.go.jp>). Oficina Japonesa de Patentes. Tiene un buscador de patentes japonesas (solamente están traducidos al inglés los resúmenes)

Para la detección de las patentes de interés se pueden realizar búsquedas por:

La empresa que patenta. En el Anexo IV se ha incluido una relación de empresas con tecnologías comerciales y en desarrollo de detección de gluten.

- *El inventor.*
- *El número de publicación o solicitud.*
- *Palabras clave* (algunas de las utilizadas por el CIBT se recogen en el apartado 1 de este anexo).
- Los *códigos de la clasificación internacional de patentes* (International Patent Classification, IPC). (www.wipo.int/classifications/ipc/ipc8/). Esta clasificación se hace mediante categorías, dentro de ellas, en varias áreas. En el caso de las patentes recogidas en este informe los códigos IPC más habituales son:

<i>A61K 38/00</i>	Preparaciones medicinales que contienen péptidos.
<i>A61K 39/00</i>	Preparaciones medicinales que contienen antígenos o anticuerpos.
<i>C07K</i>	Péptidos.
<i>C12Q</i>	Procesos de medida, investigación o análisis en los que intervienen enzimas o microorganismos.
<i>C12N</i>	Microorganismos o enzimas; composiciones que los contienen.
<i>G01N 33/53</i>	Ensayos inmunológicos; ensayos en los que interviene la formación de uniones bioespecíficas; materiales a este efecto.

3. Proyectos de investigación

A través de los proyectos concedidos se puede tener una visión general de las tendencias en las investigaciones en una determinada área y el tipo de aplicaciones/productos que reciben mayor cantidad de fondos públicos. En el epígrafe 0 de este informe se incluyen los proyectos detectados.

Para realizar búsquedas de proyectos de investigación se recomienda consultar los siguientes enlaces:

- Proyectos financiados por la UE: CORDIS
<http://cordis.europa.eu/search/index.cfm?dbname=proj>
- Proyectos nacionales:
MEC www.mec.es/ciencia/proyectos
CDTI www.cdti.es
- Proyectos regionales:
madr+d <http://www.madrimasd.org>
GREC <https://webgrec.ub.edu>

Las búsquedas se pueden realizar por palabras clave, institución, investigador, etc.

4. Grupos de investigación

Es interesante identificar los grupos de investigación que desarrollan sus actividades en el campo de interés de la empresa. A través de Internet se pueden visitar algunos buscadores que facilitan información de este tipo:

- En el *buscador de Madrid+d*, en la sección de “Investigadores”, se pueden seleccionar “grupos de investigación”, y a través de alguna palabra clave se pueden encontrar los grupos con líneas de investigación de interés.
<http://buscador.madrimasd.org/BuscadorMadrimasd/default.asp>
- En las *Oficinas de Transferencia Tecnológica (OTT)* y las *Oficinas de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI)*, de diferentes universidades y centros de investigación, se pueden encontrar listados con los diferentes grupos de investigación que forman parte de ellos. Algunos ejemplos son:
 - OTT del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. www.csic.es/ott
 - OTRI de la Universidad Complutense de Madrid. www.ucm.es/info/otri
 - OTRI de la Universidad Autónoma de Madrid. <http://www.fg.uam.es>

5. Otros enlaces de interés

Recursos web:

Búsqueda de información de ensayos clínicos en EE.UU.
<http://clinicaltrials.gov>

Asociación de Celiacos de Madrid.
www.celiacosmadrid.org/index.html

Federación de Asociaciones de Celiacos de España.
www.celiacos.org

Asociación de Celiacos de Italia.
<http://www.celiachia.it/>

Asociación de Celiacos de Reino Unido.
<http://www.coeliac.co.uk>

Centro de la Enfermedad Celiaca en la Universidad de Columbia (Estados Unidos).
<http://www.celiacdiseasecenter.columbia.edu>

Juventud Celiaca Europea.
<http://www.aoecs.de.vu>

Fundación de la Enfermedad Celiaca (Estados Unidos).
<http://www.celiac.org>

Servidores de noticias:

www.consumaseguridad.com

CAPÍTULO 10

Referencias, glosario y abreviaturas

Referencias

- (1) Asociación de celíacos de Madrid (<http://www.celiacosmadrid.org>).
- (2) van Eckert, R. *et al.* (2006). Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation. *Journal of Cereal Science*, 43(3): 331-341.
- (3) Skerritt, J.H. y Hill, A.S. (1990). Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods. *J. Agric. Food Chem.*, 38: 1771-1778.
- (4) Sorell, L. *et al.* (1998). An innovative sandwich ELISA system based on an antibody cocktail for gluten analysis. *FEBS Lett.*, 439(1-2): 46-50.
- (5) Camafeita, E. *et al.* (1997). Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric micro-analysis: the first non-immunological alternative attempt to quantify gluten gliadins in food samples. *J. Mass Spectrom.*, 32(9): 940-7.
- (6) Pal, R. *et al.* (2005). An integrated microfluidic device for influenza and other genetic analyses. *Lab Chip*, 5(10): 1024-32.
- (7) Siegel, M. *et al.* (2006). Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue. *Chem. Biol.*, 13(6): 649-58.
- (8) Wang, W. *et al.* (2000). Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J. Cell Sci.*, 113 Pt 24: 4435-40.
- (9) Chirido, F.G. *et al.* (2005). Enfermedad celíaca. Nuevas perspectivas terapéuticas basadas en un mejor conocimiento de su patogenia molecular. *Acta. Gastroenterol. Latinoam.*, 35(3): 183-189.

Glosario

- Anticuerpos.** Proteínas secretadas por los linfocitos B del sistema inmune para responder de manera específica frente a sustancias extrañas al organismo.
- Antígeno.** Molécula que es reconocida como extraña por el sistema inmune, por ejemplo, proteínas en la superficie de la membrana de microorganismos patógenos.
- Aveninas.** Proteínas del gluten de la avena.
- Biosensor.** Dispositivo compacto de análisis que incorpora un elemento de reconocimiento biológico.
- Codex Alimentarius.** Conjunto de normas alimentarias desarrolladas con el objetivo de proteger la salud de los consumidores.
- Gliadinas.** Proteínas tóxicas del gluten de trigo para los celíacos.
- Gluten.** Conjunto de proteínas vegetales de reserva presentes en los cereales.
- Hordeínas.** Proteínas del gluten de la cebada tóxicas para los celíacos.
- Marca de Garantía.** Signo o medio que certifica las características comunes, en particular la calidad, los componentes y el origen de los productos o servicios elaborados o distribuidos por personas debidamente autorizadas y controladas por el titular de la marca.
- Péptido.** Molécula compuesta por unos pocos aminoácidos, elemento estructural de las proteínas.
- Probiótico.** Bacterias vivas que permanecen activas en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos.
- Prolamina.** Proteínas del gluten tóxicas para los celíacos.
- Proteína.** Polímeros formados por un número elevado de aminoácidos. Muy abundantes en el cuerpo humano, donde pueden realizar gran número de funciones diversas, estructurales y funcionales.
- Secalinas.** Proteínas del gluten de centeno tóxicas para los celíacos.

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico.
EC	Enfermedad celiaca.
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
HLA	Antígenos de histocompatibilidad. Moléculas que juegan un papel fundamental en la regulación del sistema inmune.
MALDI-TOF	<i>Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight</i> . Desorción/ionización mediante láser asistida por matriz acoplada a un detector de tiempo de vuelo.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.
ppm	Partes por millón. Miligramo de analito por kilogramo de muestra.