

Póster

Desarrollo de un kit de ELISA para detectar beta-lactoglobulina lácteas



Núñez Daza Pastora M^a y Martín Bermudo Francisco

Departamento de Células Troncales, CABIMER, Avda. Americo Vesputio s/n. Parque Científico y Tecnológico
Cartuja41092 - Sevilla (SPAIN)

Palabras clave: b-lactoglobulina; ELISA; alérgeno.

RESUMEN

La alergia a la leche, en especial de vaca, ocupa el primer lugar en importancia entre las alergias alimentarias en niños, afectando aproximadamente al 3% de la población en el primer año de vida. La complejidad creciente de los alimentos hace que sea difícil detectar la presencia de proteínas lácteas e identificarlas en el etiquetado. La b-lactoglobulina es una proteína del lactosuero de la leche de mamíferos, que no está en la leche humana, y por lo tanto actúa como alérgeno. El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema que permita detectar la presencia de b-lactoglobulina en diferentes matrices alimentarias y biológicas. Para ello hemos empleado una técnica inmunológica, tipo enzimo-inmunoensayo (ELISA). Las razones es que es una técnica sencilla, rápida, de bajo coste y con una especificidad y sensibilidad elevada. Como anticuerpo primario se han testado anticuerpos policlonales producidos en conejo y pollo. Como anticuerpos secundarios se han empleado anticuerpos policlonales producido en conejo, a los que se les unía un sistema de detección (preferentemente HRP) para la lectura de la placa. Se probaron distintas diluciones de los anticuerpos primarios y secundarios y del alérgeno (b-lactoglobulina). Se ensayaron distintas condiciones de bloqueo y lavado, así como los tiempos de incubación mas adecuados. Esto nos permitió seleccionar como anticuerpos primarios más eficientes los anticuerpos policlonales producidos en conejo. Además, se han fijado las condiciones idóneas para desarrollar el ELISA. Finalmente, el kit de ELISA desarrollado se ha probado sobre diferentes tipos de leche (vaca, cabra, oveja, humana, fórmulas de iniciación y soja). El kit fue lo suficientemente específico, sensible y reproducible para detectar y medir la presencia de b-lactoglobulina en las leches de vaca, cabra, oveja y fórmula de iniciación. Así mismo, no detectó b-lactoglobulina en la leche humana y de soja. El kit que hemos desarrollado podrá tener varios usos según la matriz donde se quiera detectar la b-LG. Si la matriz es alimentaria, servirá para detectar la b-lactoglobulina en distintos alimentos, teniendo en este caso una utilidad para controlar el fraude alimentario. En un futuro habrá que comprobar si el kit funciona en una matriz biológica (plasma o heces). En este caso permitirá detectar la ingesta de proteínas lácteas en la dieta de los niños alérgicos a las proteínas lácteas.

BIBLIOGRAFIA

- G. Kontopidis, C. Holt, and L. Sawyer. (2004) Invited Review: β -Lactoglobulin: Binding Properties, Structure and Function. *J. Dairy Sci.* 87:785–796
- Ruth de Luis, María Lavilla, Lourdes Sánchez, Miguel Calvo, María D. Pérez (2009). Development and evaluation of two ELISA formats for the detection of b-lactoglobulin in model processed and commercial foods. *Food Control* 20. 643-647.
- Cristina Pelaez-Lorenzo, Jose Carlos Diez-Masa, Isabel Vasallo, and Mercedes De Frutos. Development of an Optimized ELISA and a Sample Preparation Method for the Detection of β -Lactoglobulin Traces in Baby Foods. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 1664–1671
- Sirpa Jylhä, Soili Mäkinen-Kiljunen, Tari Hahtela, Hans Söderlund, Kristiina Takkinen, and Marja-Leena Laukkanen (2009). Selection of recombinant IgE antibodies binding the β -lactoglobulin allergen in a conformation-dependent manner. *Journal of Immunological Methods* 350. 63–70.