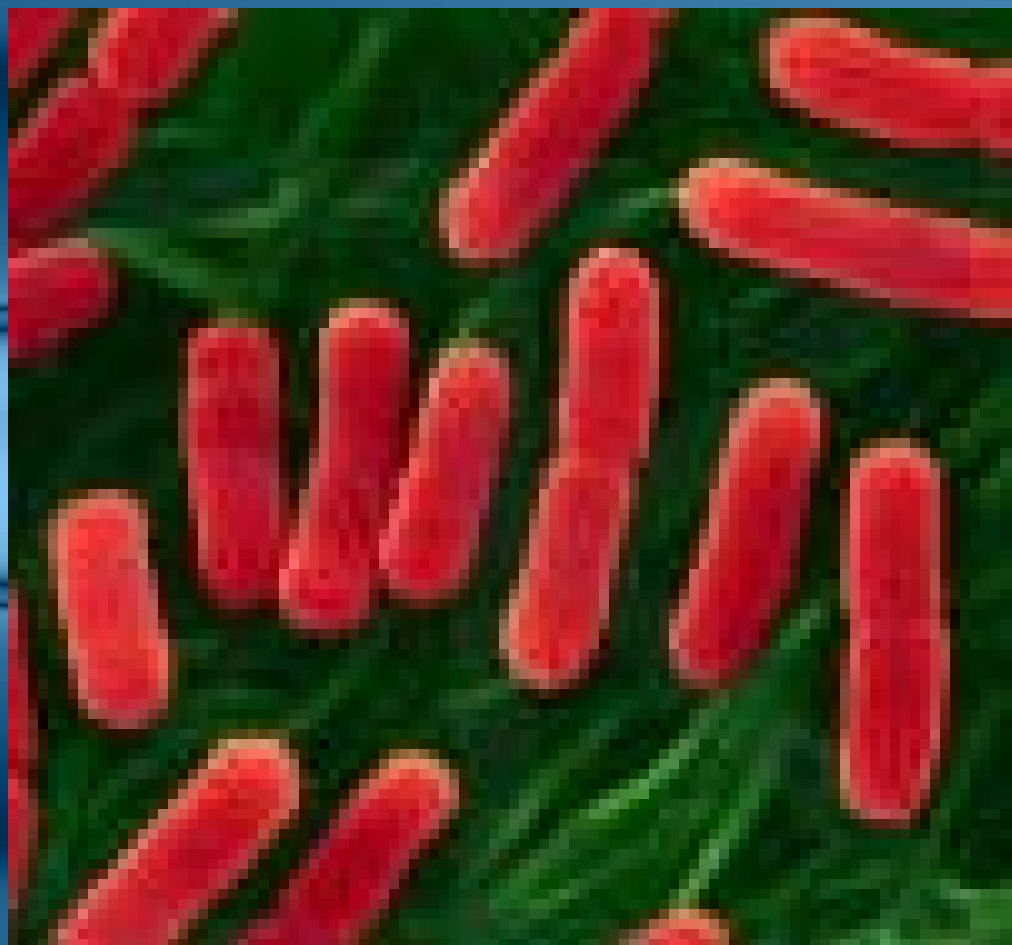


Fundamento Teórico de la Detección de Microorganismos en Alimentos por la Técnica de Impedancia Eléctrica

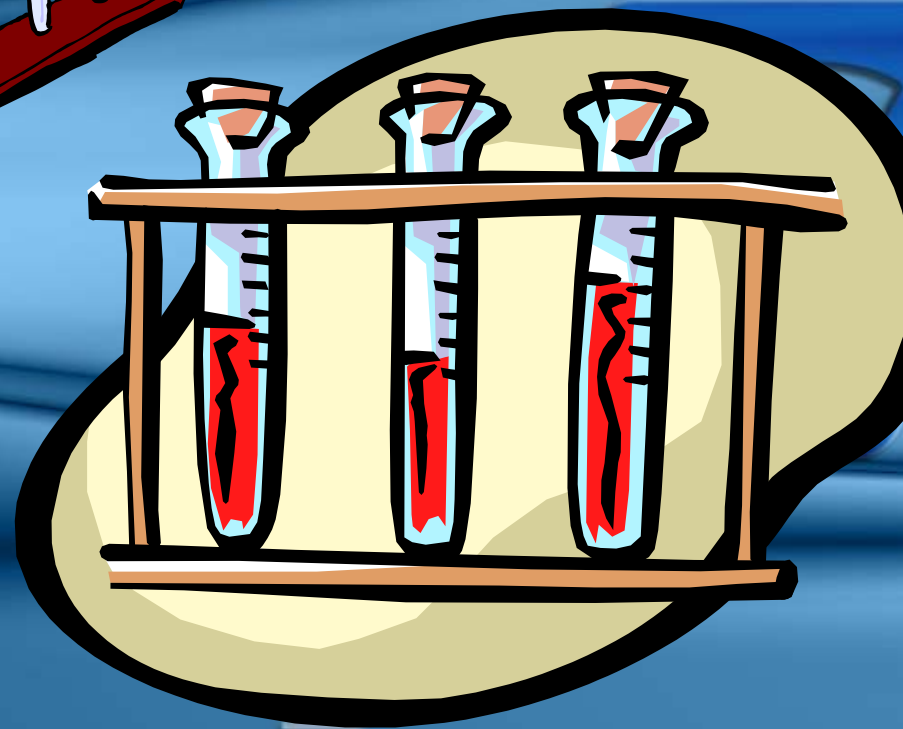
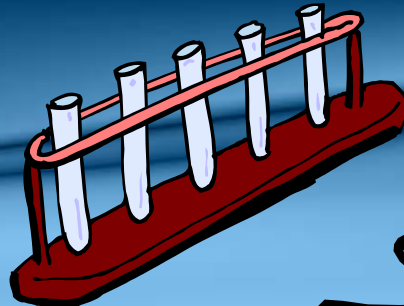


Gomensoro

TECNICAS MICROBIOLOGIA RAPIDA

- IMPEDANCIA ELECTRICA
- ATP-LUMINISCENCIA
- INMUNOENSAYOS
- SONDAS ADN/PCR

MICROBIOLOGIA CLASICA



Impedancia Eléctrica

- FUNDAMENTO:

- Cambios en los parámetros de Conductividad Eléctrica del medio de Cultivo (Caldo), debidos al Metabolismo microbiano.
- Los Parámetros a medir pueden ser.
 - Conductividad del medio
 - Capacitancia del Medio
 - Sistema IS “Sy-Lab”: Doble Medida:
 - Impedancia del Medio y del Electrodo
- Medios de Cultivo similares a los clásicos: Medios Específicos o de Recuentos Totales

Impedancia Eléctrica

- La medida se puede realizar directamente sobre el medio de cultivo (Impedancia Directa), o sobre una segunda solución de KOH (Impedancia Indirecta). Algunos equipos son solo capaces de medir la impedancia Directa.
- Es posible, en algunos equipos, determinar y cuantificar microorganismos Aeróbicos y Anaeróbicos (usando celdillas de medida especiales).
- TIEMPO DE ENSAYO:
 - Entre 12 a 24 horas (excepto Listeria y Esporulantes)
- SENSIBILIDAD:
 - Desde 1 CFU por Muestra

Impedancia Eléctrica

- ESPECIFICIDAD:

- La indicada por los Medios de Cultivo específicos y la Temperatura de Crecimiento (al igual que en microbiología clásica).
- Los rangos de temperatura de Incubación dependerán del Sistema de Incubación:
 - Agua o Aire: Entre T ambiente y 50-60°C
 - Bloque Sólido: Entre -10°C y 50-60°C

- APLICACIONES:

- Recuentos Totales (en productos con formulaciones estables)
- Ausencia de Patógenos
- Test de Esterilidad
- Test de Biocidas y Conservantes
- Test de Toxicidad

Impedancia Eléctrica

- COSTE/EQUIPO:

- Alto. Disminuye con el número de Muestras (número de bloques)

- COSTE/DETERMINACION:

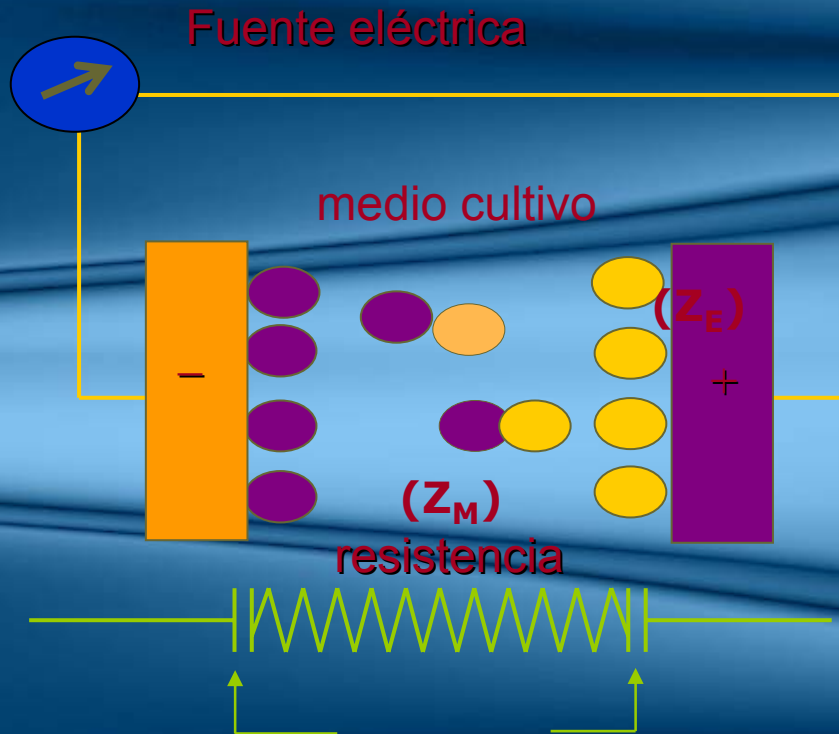
- Muy Bajo: El coste de los Medios de Cultivo en polvo

- INTERFERENCIAS:

- Solo en Recuentos: Modificaciones en la Formulación de los Productos (Modificaciones del Ambiente Químico)

- METODO OFICIAL: Norma DIN desde el año 2000 (Alemania, Austria y Suiza)

Impedancia eléctrica del Medio



Impedancia = Resistencia total en un medio líquido conductor.

El metabolismo de los microorganismos actúa como un catalizador que transforma moléculas grandes neutras o con poca polaridad, en moléculas pequeñas con carga eléctrica o alta polaridad

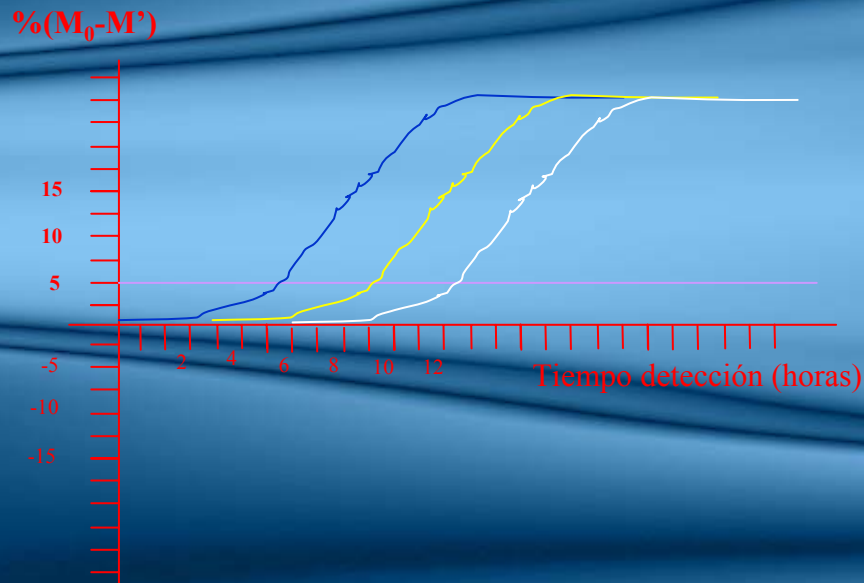
Impedancia eléctrica DIRECTA

Medio de cultivo en contacto directo con los electrodos.



Impedancia eléctrica DIRECTA

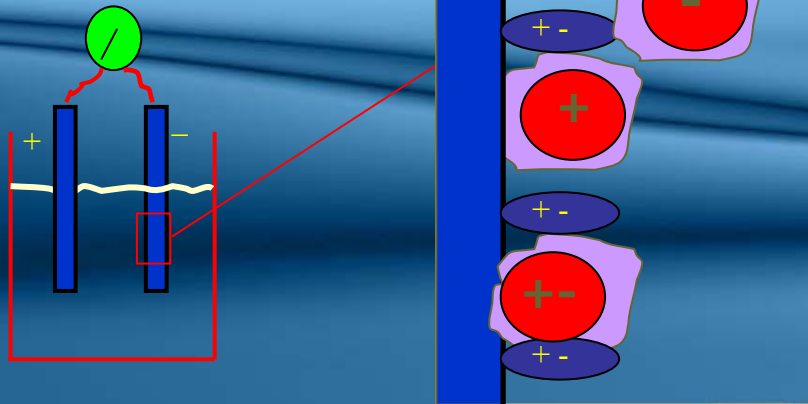
Visualización de resultados



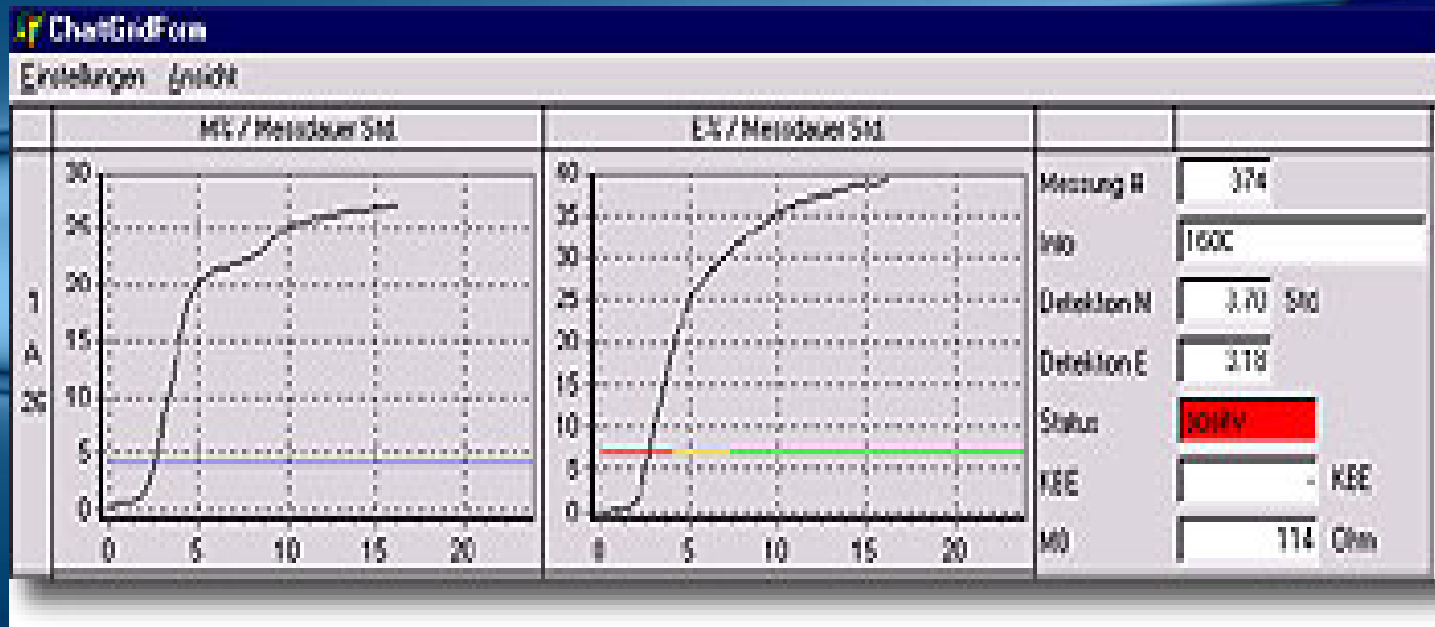
Impedancia eléctrica del Electrodo

Sobre los electrodos se forman capas iónicas de carga eléctrica alternativamente opuesta

Estas capas se mantienen en equilibrio estacionario con la composición química del medio. Pequeñas modificaciones en el mismo, producidas por el metabolismo microbiano, inducen la redistribución de las capas, y una modificación de la impedancia del electrodo.



Impedancia Eléctrica



Impedancia Eléctrica

Sy-Lab BacTrac

- **APLICACIONES FUNDAMENTALES:**

- Recuentos Aeróbicos
- Recuentos Levaduras
- Ausencia de Patógenos
- Test de Esterilidad
- Test de Conservantes y Biocidas
- Test de Toxicidad

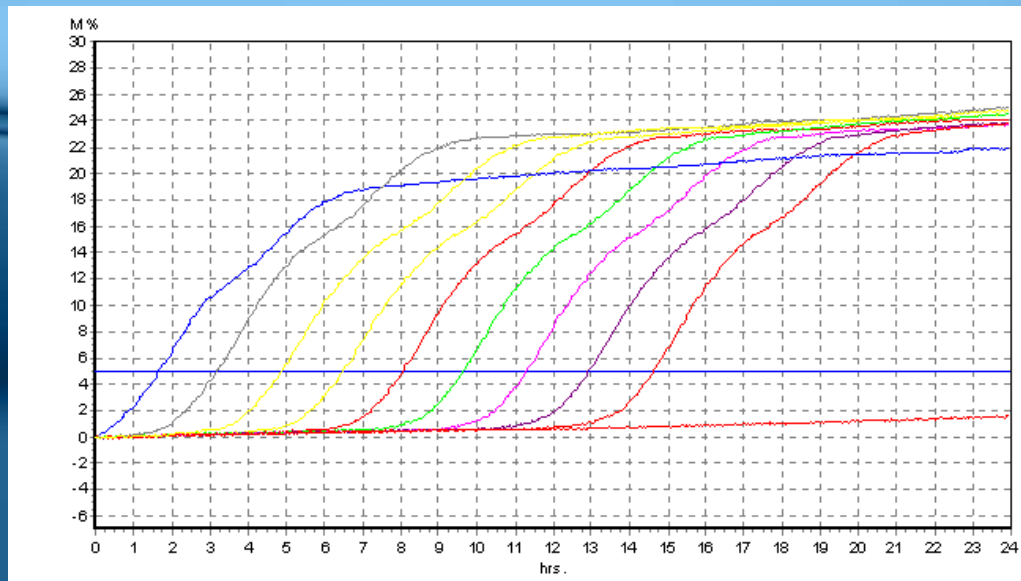
Sy-Lab

- Microbiología Rápida por Impedancia Eléctrica.
Método Oficial: Normas DIN
- Medida de Impedancia del Medio y del Electrodo (Salmonella) simultáneamente
- Recuentos Totales y Patógenos (12-24 h)
- Método Directo e Indirecto
- Microorganismos Aeróbicos y Anaeróbicos
- Microorganismos Psicrófilos
- Microorganismos productores de gases diferentes a CO₂: CH₄, SH₂, etc

Bacterias Aeróbicas

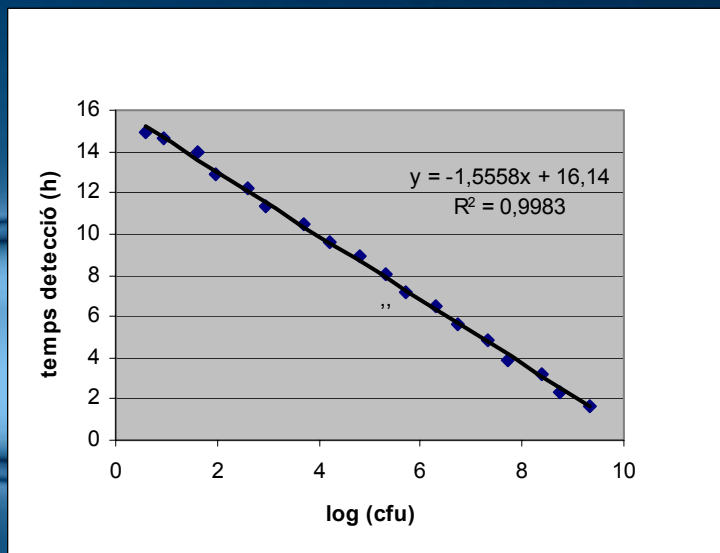


Diferenciación por morfología colonial de bacterias procedentes del agua de enjuague de botellas (3)



Calibración Bacterias Aeróbicas

$R^2 = 0,9983$



| cfu | log (cfu) | tiempo |
|---------|-----------|----------|
| 1 | 0 | 16,14 |
| 2 | 0,30103 | 15,67166 |
| 3 | 0,477121 | 15,39769 |
| 5 | 0,69897 | 15,05254 |
| 10 | 1 | 14,5842 |
| 20 | 1,30103 | 14,11586 |
| 30 | 1,477121 | 13,84189 |
| 40 | 1,60206 | 13,64752 |
| 50 | 1,69897 | 13,49674 |
| 60 | 1,778151 | 13,37355 |
| 70 | 1,845098 | 13,2694 |
| 80 | 1,90309 | 13,17917 |
| 90 | 1,954243 | 13,09959 |
| 100 | 2 | 13,0284 |
| 1000 | 3 | 11,4726 |
| 10000 | 4 | 9,9168 |
| 100000 | 5 | 8,361 |
| 1000000 | 6 | 6,8052 |

Método INDIRECTO

Aprovechamos la producción de CO_2 por parte de las levaduras como medida indirecta de actividad metabólica



procedente de bacterias o levaduras

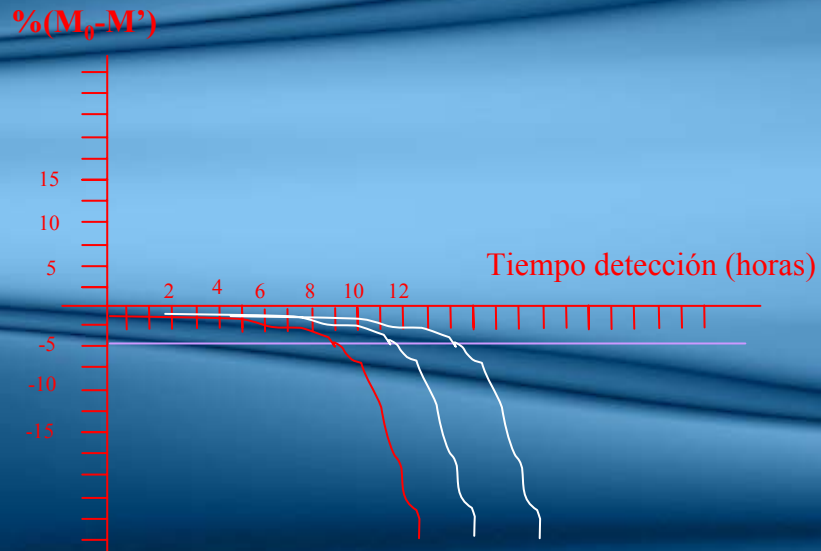
Impedancia eléctrica INDIRECTA

**Solución de KOH en contacto directo con los electrodos.
Medio de cultivo en celda interna.**



Método INDIRECTO

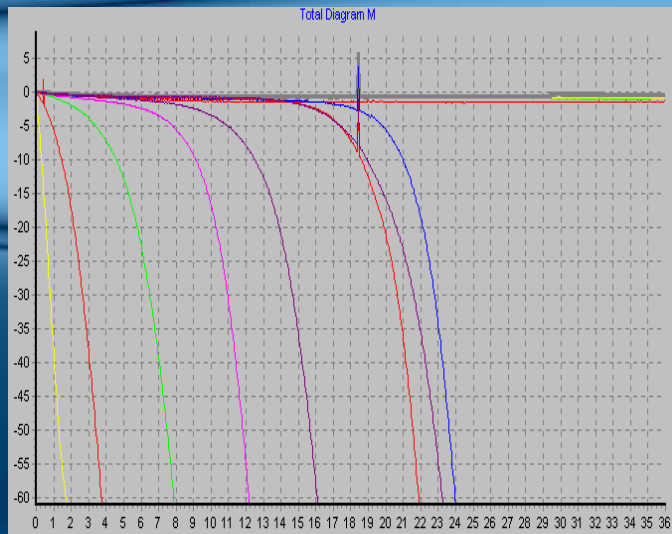
Visualización de resultados



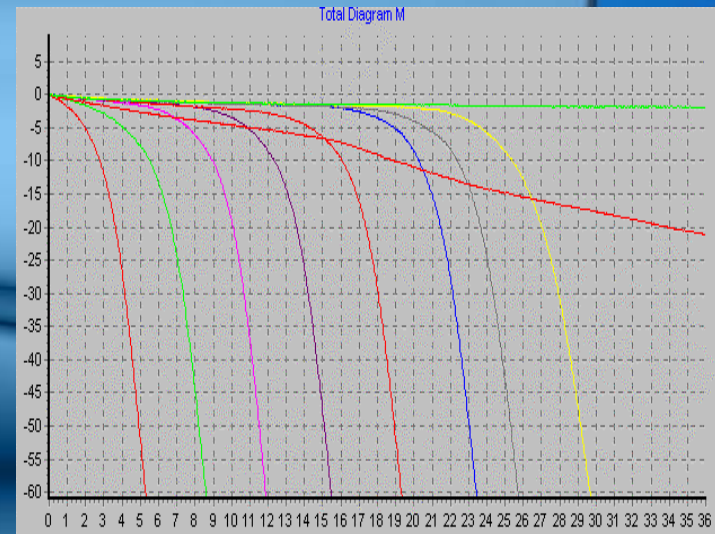
Calibración Levaduras

Curvas de calibración tanto para *S.cerevisiae* como para *S.bayanus*

Saccharomyces cerevisiae



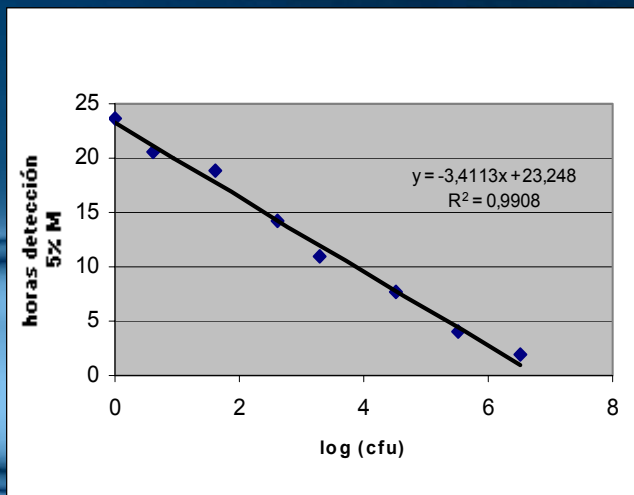
Saccharomyces bayanus



Solapamiento de datos

Calibración Levaduras

Buena correlación de resultados con placa $R^2=,9908$

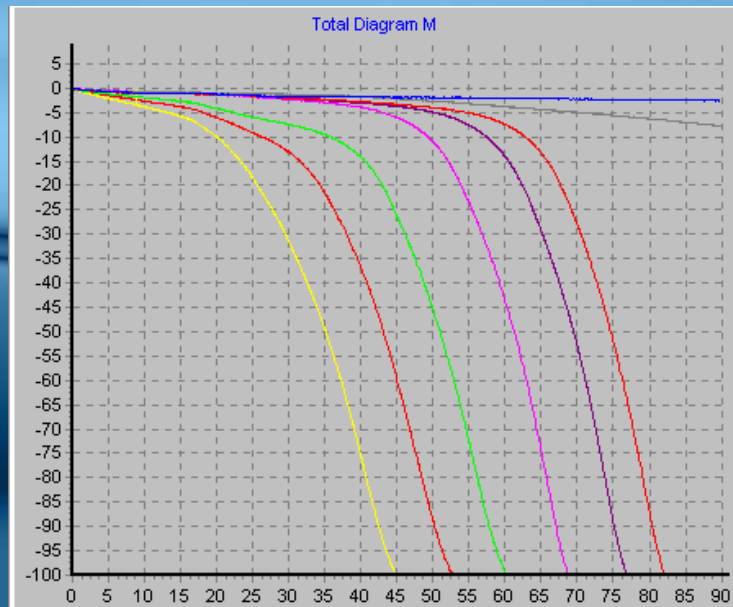


| cfu | log (cfu) | horas |
|--------|-----------|----------|
| 1 | 0 | 23,248 |
| 2 | 0,30103 | 22,2211 |
| 3 | 0,477121 | 21,6204 |
| 5 | 0,69897 | 20,8636 |
| 10 | 1 | 19,8367 |
| 20 | 1,30103 | 18,8098 |
| 30 | 1,477121 | 18,2091 |
| 40 | 1,60206 | 17,78289 |
| 50 | 1,69897 | 17,4523 |
| 60 | 1,778151 | 17,18219 |
| 70 | 1,845098 | 16,95382 |
| 80 | 1,90309 | 16,75599 |
| 90 | 1,954243 | 16,58149 |
| 100 | 2 | 16,4254 |
| 1000 | 3 | 13,0141 |
| 10000 | 4 | 9,6028 |
| 100000 | 5 | 6,1915 |

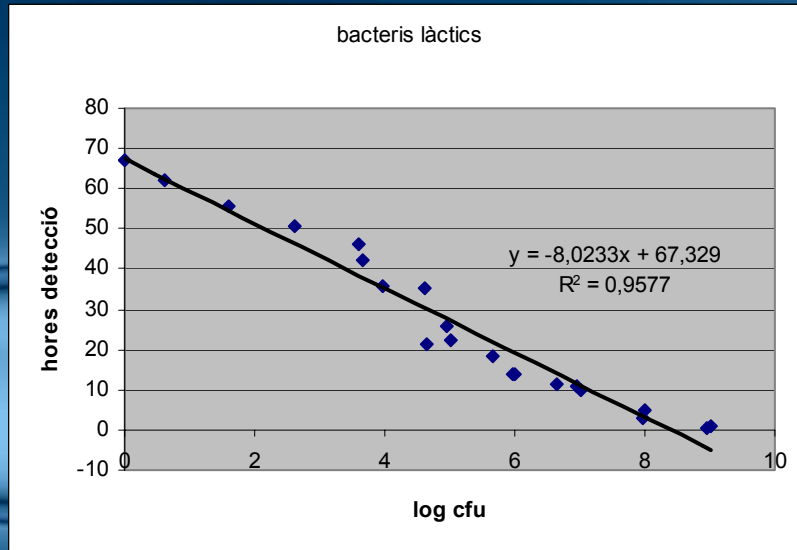
Calibración Bacterias Lácticas

Curvas de calibración de *O.oeni*

Oenococcus oeni



Bacterias Lácticas



Buena correlación de resultados $R^2 = 0,9577$

| cfu | hores |
|--------|---------|
| 1,E+00 | 67,329 |
| 1,E+01 | 59,3057 |
| 1,E+02 | 51,2824 |
| 1,E+03 | 43,2591 |
| 1,E+04 | 35,2358 |
| 1,E+05 | 27,2125 |
| 1,E+06 | 19,1892 |
| 1,E+07 | 11,1659 |
| 1,E+08 | 3,1426 |

Reducción tiempo de cómputo de 8 días aprox. (Gaspacks) a 3 días

Sy-Lab BacTrac 4100



Gomensoro

Sy-Lab BacTrac 4100

- Características Técnicas:
 - Bloques:
 - 40 Muestras de 10 ml (BacTrac 4110)
 - 20 muestras de 100ml (BacTrac 4111)
 - Una Temperatura por Bloque.
 - Mide Impedancia del Medio (%M) y del Electrodo (%E). Método IS.
 - Rango de Temperatura incubación: 0°C – 60°C
 - Control por PC.
 - “Software” para Control del Bloque y Análisis de Muestras en MS-DOS.
 - “Software” opcional para Análisis de Muestras en Windows 95/98 (BacAssist)
 - Control de hasta 6 Bloques Simultáneamente

Sy-Lab uTrac 4200



Sy-Lab uTrac 4200

- Características Técnicas

- Bloque de 21 Muestras.
- Una sola Temperatura de Incubación.
- Sólo mide Impedancia del Medio (%M)
- Rango de Temperatura de Incubación: 0°C-60°C
- Control por Ordenador Portátil Integrado.
- Triple “Software”:
 - Control del Bloque en Tiempo Real (Transceiver y uTrac)
 - Análisis de Muestras ya Evaluadas (uAssist)
- Los “Software” operan en Windows 95/98.
- Sólo utiliza Celdillas Desechables.



Gomensoro

Sy-Lab BacTrac 4300



Gomensoro

Sy-Lab BacTrac 4300

- Características Técnicas

- Doble Bloque de 64 Muestras (32 por Bloque)
- Doble Temperatura de Incubación.
- Mide Impedancia del Medio (%M) y del Electrodo (%E). Método IS.
- Rango de Temperatura de Incubación: 0°C-60°C
- Control por PC Externo.
- Doble “Software”:
 - Control del Bloque en Tiempo Real (BacMonitor)
 - Análisis de Muestras ya Evaluadas (BacEval)
- Los “Software” operan en Windows 2000/NT.
- Utiliza Celdillas Reutilizables y Desechables.
- Control de hasta 12 Bloques Simultaneo.

Sy-Lab BacTrac

- Tipos de Celdillas:
 - Reutilizables (Vidrio):
 - Directo Aeróbicos 10ml (amarillas, verdes y rojas)
 - Directo Anaeróbicos 10ml(gris)
 - Indirecto 10ml (Azul) (No Autoclavables)
 - Directo 100ml
 - Indirecto 100ml
 - Desechables (Plástico):
 - Directo 20ml (Estériles. Electrodo Largo. Tapón Blanco)
 - Indirecto 20ml (5 Usos. Electrodo Corto. Tapón Azul)
 - Desechables Rellenas de Caldo Estéril:
 - Totales, Enterobacterias, Coliformes y Salmonella (R y S)
- ✓ Viales Internos para Método Indirecto:
 - Reutilizables (Vidrio) 5ml
 - Desechables (Plástico) 7ml

BAC- TRAC

- Recuentos Totales Aeróbicos (Mesófilos y Termófilos)
- Mohos y Levaduras
- Salmonella
- Coliformes/ E. coli/ E. coli O157:H7
- Enterobacterias
- Staph aureus
- Clostridium
- Bacillus cereus
- Lactobacilos
- Psicrófilos
- Listeria

BAC- TRAC

- METODO DIRECTO (Aeróbicos) %M
 - Recuentos Totales
 - Coliformes/ E. coli/ E. coli **O157:H7**
 - Salmonella (Selenito/Cystina)
 - Enterobacterias
 - Staph. aureus
 - Lactobacilos
 - Mohos y Levaduras
 - Psicrófilos

BAC- TRAC

- METODO DIRECTO (Aeróbicos) %E
 - Salmonella (Rappaport Vassiliadis)
 - Listeria

BAC- TRAC

- METODO DIRECTO (Anaeróbicos) %M

- Clostridium

- Bacillus cereus



Diferentes Modos de Medida

- **Directo Impedancia del Medio**
 - **Aeróbicos**
 - **Anaeróbicos**
- **Directo Impedancia del Electrodo**
- **Indirecto**

Normas Oficiales

□ Alemania:

DIN 10115 Método General de Impedancia

DIN 10120 Detección de Salmonella en Alimentos

DIN 10122 Recuento de Aeróbicos Totales en Alimentos

• Francia

AFNOR, NF V08-105 Recuento de Microorganismos en Alimentos por Impedancia

AFNOR NF V08-106 Recuento de E. coli en Moluscos – Marisco

Versatilidad: Otros Test realizables con BacTrac

- Control de Puntos Críticos (ARCPC-HACCP)
- Test de Sustancias Inhibidoras – Biocidas – Conservantes
- Test de Actividad Microbiana
- Challenge Test (Cosméticas)
- Test de Estabilidad de Producto
- Respiración de Suelos – Mineralización
- Toxicidad

Máxima Comodidad: Diferentes Tipos de Celdilla

- **Celdilla Cristal Autoclavable**
- **Celdilla Plástico Esteril unico uso.**
- **Celdilla Plástico Rellena de Medio.**
- **Vial Interno Relleno de Medio**

CALIDAD: Servicio Técnico

- Es el Único equipo de Microbiología Rápida que se puede Calibrar y Verificar