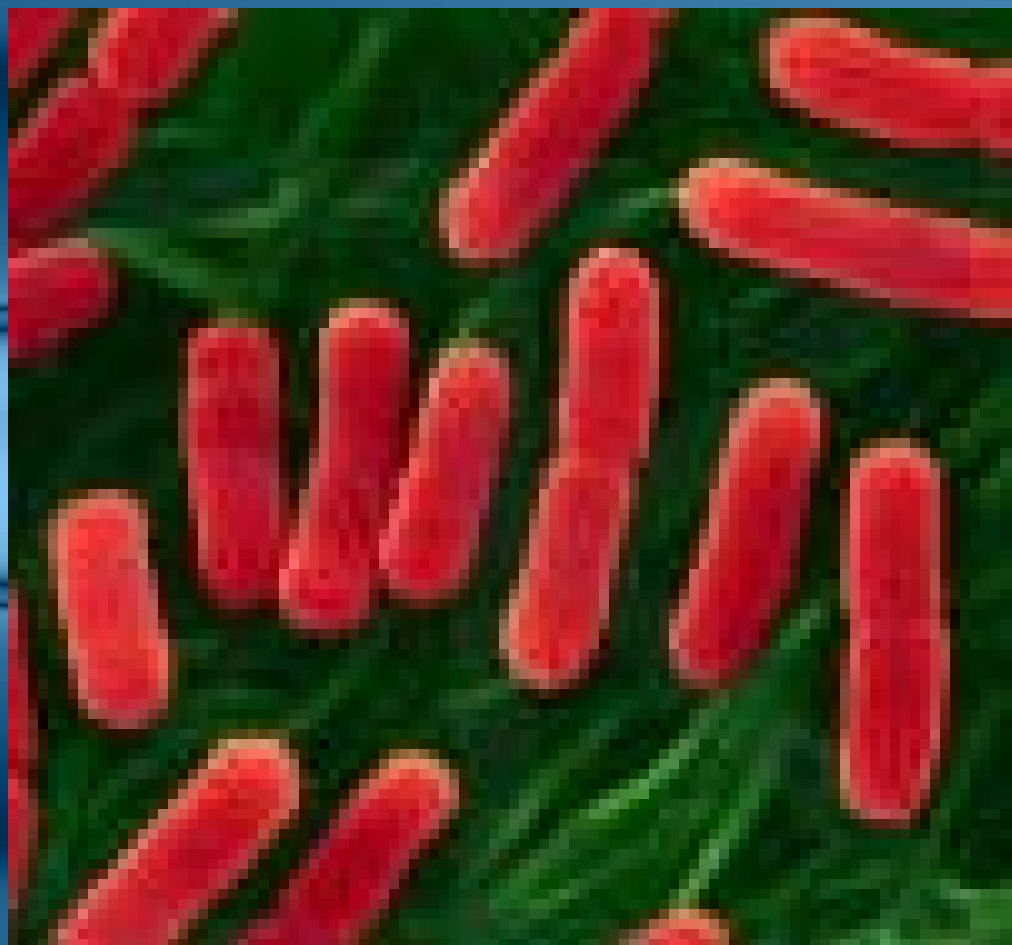


# Fundamento Teórico de la Detección de Microorganismos en Alimentos por la Técnica de Impedancia Eléctrica

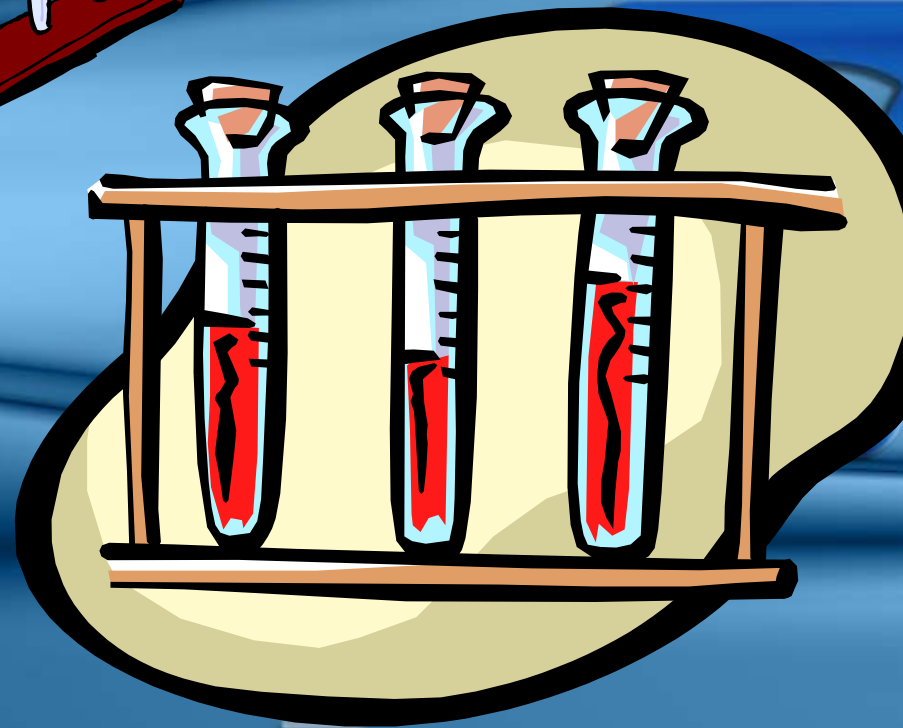
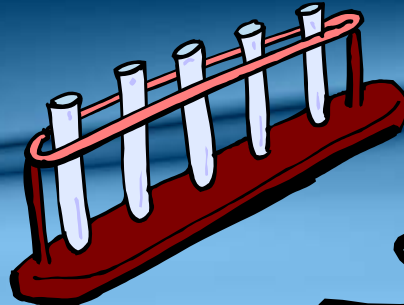


Gomensoro

# TECNICAS MICROBIOLOGIA RAPIDA

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

# MICROBIOLOGIA CLASICA



# Criterios Deseables en un Método de microbiología Rápida

- **Rápido**
- **Respaldado y/o Validado por Normas Oficiales y Validaciones**
- **Bajo Coste por Muestra**
- **Registro Informatizado de Datos**

# 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

# Sy-Lab BacTrac 4300



Gomensoro

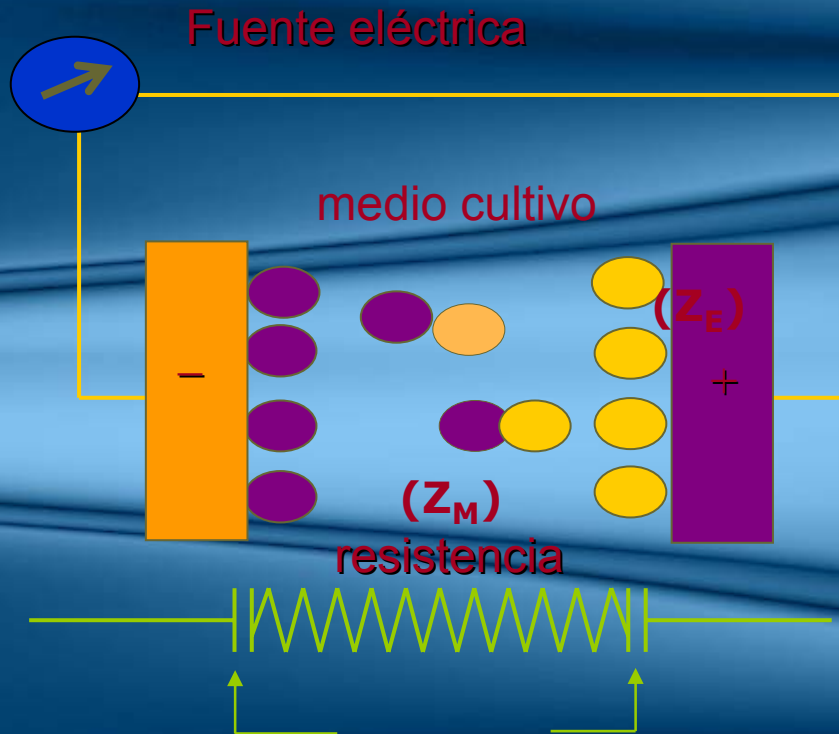
# Impedancia eléctrica DIRECTA

Medio de cultivo en contacto directo con los electrodos.





# Impedancia eléctrica del Medio

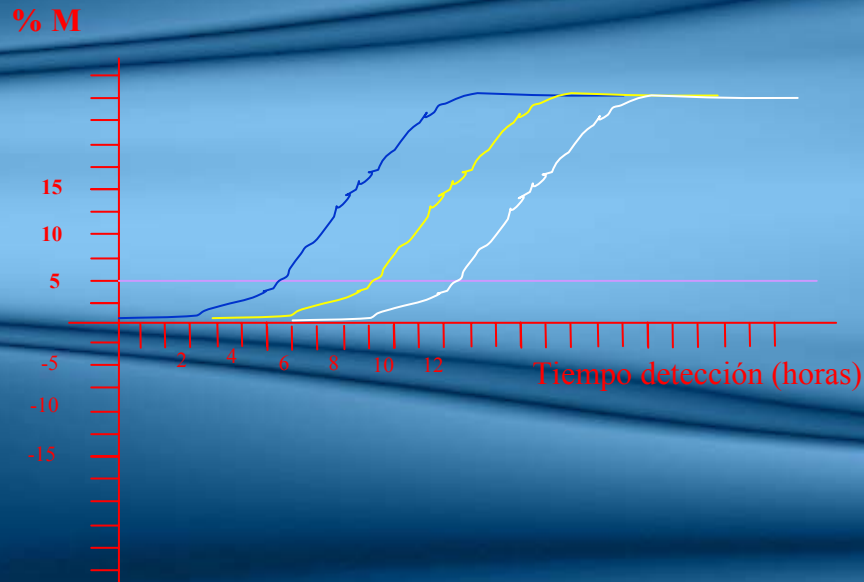


**Impedancia = Resistencia total en un medio líquido conductor.**

**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

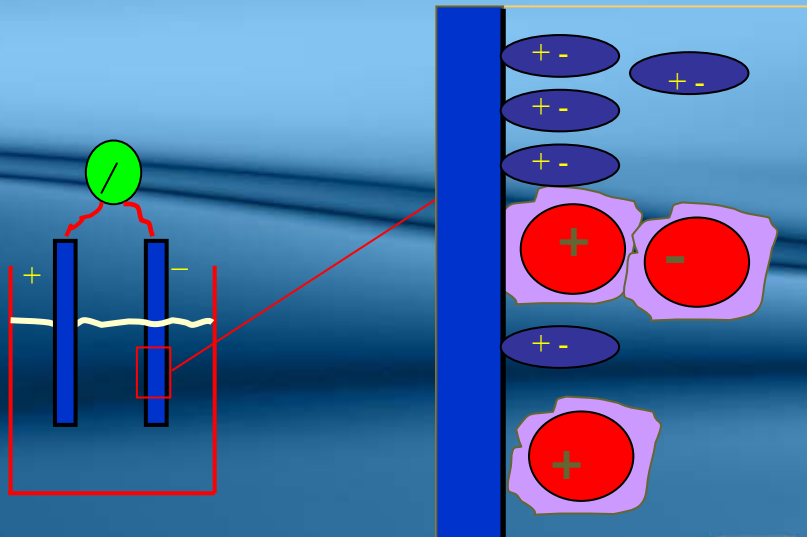
## Visualización de resultados



# Impedancia eléctrica del Electrodo

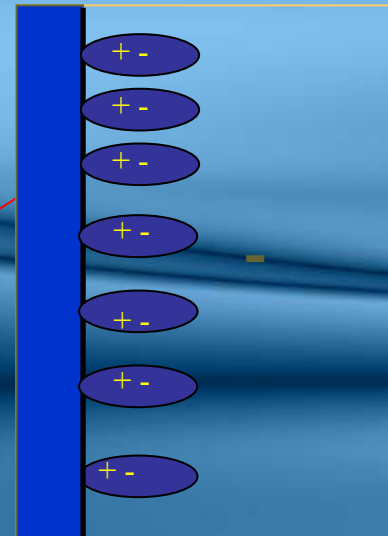
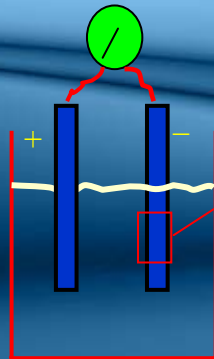
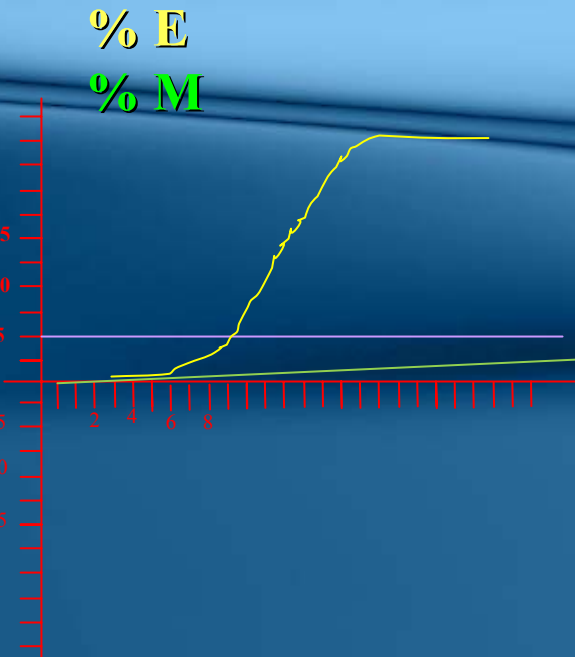
Sobre los electrodos se forman capas iónicas de carga eléctrica alternativamente opuesta

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.

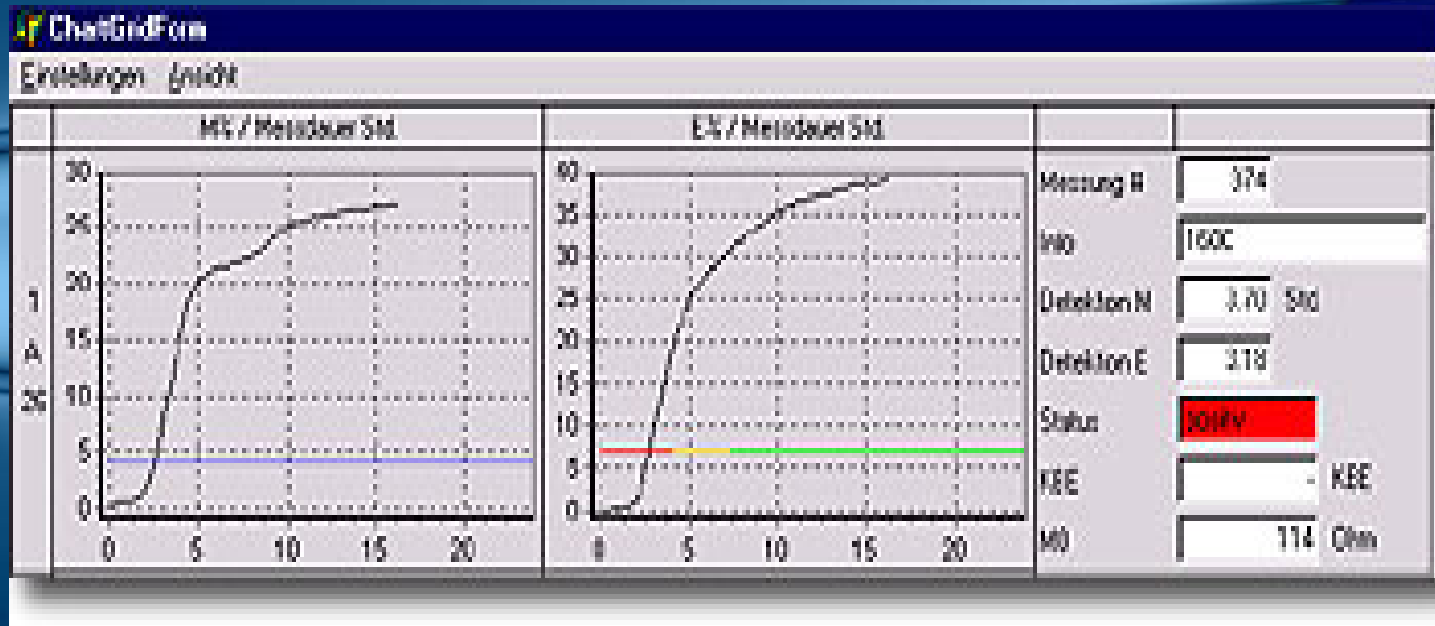


# Impedancia eléctrica del Electrodo

Después del Crecimiento Microbiano: Se establecen nuevos equilibrios iónicos en el electrodo => Cambio de Impedancia del Electrodo.



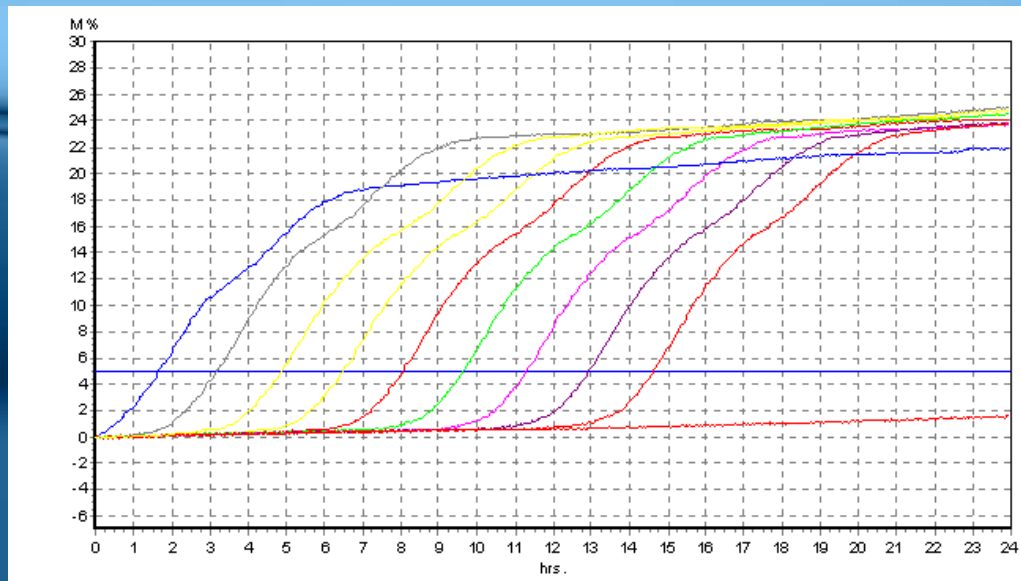
# Impedancia Eléctrica



# Bacterias Aeróbicas

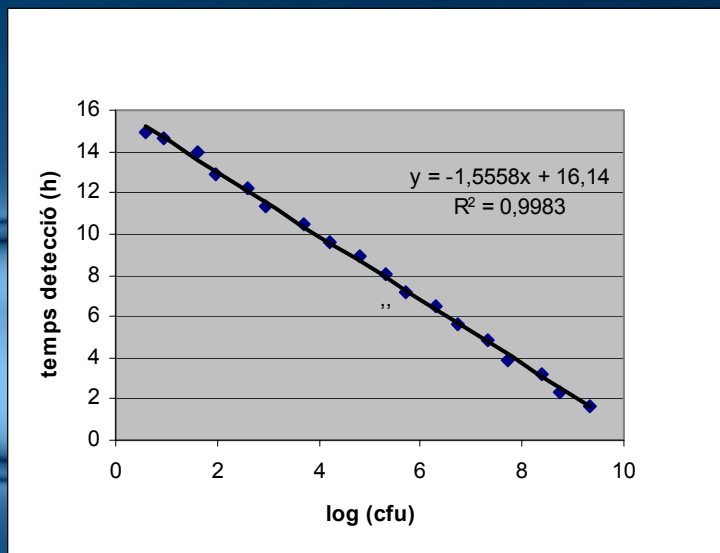


Diferenciación por morfología colonial de bacterias procedentes del agua de enjuague de botellas (3)



# 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  $\text{CO}_2$  por parte de las levaduras como medida indirecta de actividad metabólica



procedente de bacterias o levaduras



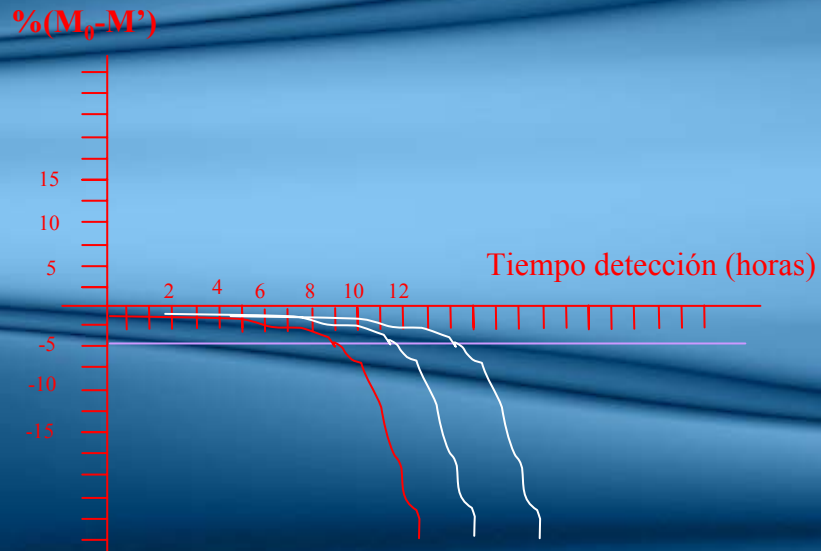
# Impedancia eléctrica INDIRECTA

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



# Método INDIRECTO

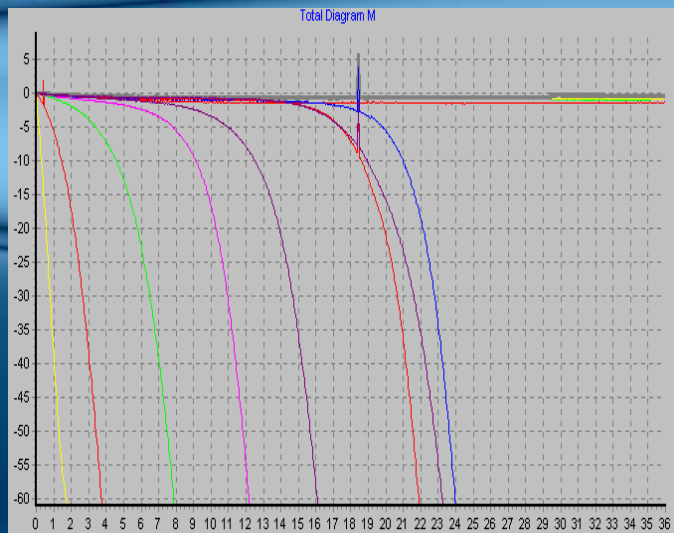
## Visualización de resultados



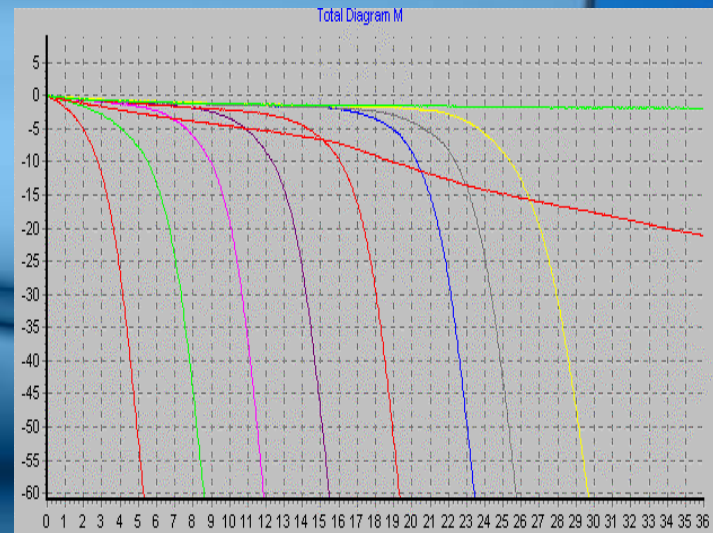
# Calibración Levaduras

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

## *Saccharomyces cerevisiae*



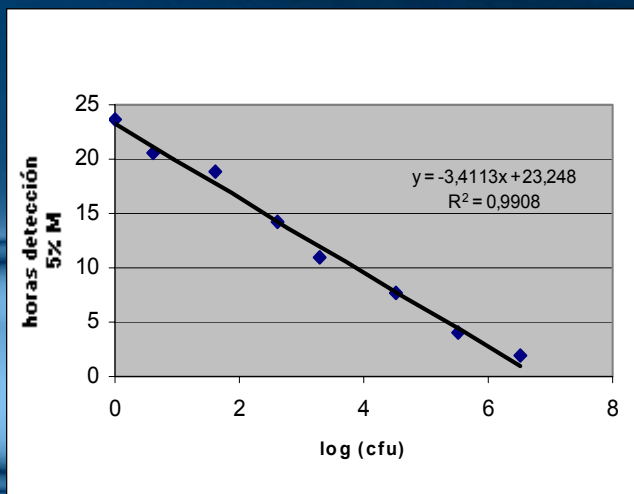
## *Saccharomyces bayanus*



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

# 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

# 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

# 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



# Diferentes Modos de Medida

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

# 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



# 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

Validación AFNOR : Detección de Enterobacterias en Leche, Leche Infantil y Productos Lácteos. **Primera Validación según ISO 16140.**



# 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 – Genotoxicidad
- Detección Microorganismos generadores de CO<sub>2</sub>, SH<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>



# 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

# RESUMEN:

## 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)