# Soluciones moleculares en el laboratorio agroalimentario

**MRAMA**

**20 de Noviembre de 2018**

**Elisa Ruiz**
Application Specialist
Technical Service Department

# Agenda

- Presentación Promega
  - Misión y Visión
  - Promega Corp.
  - Nuestros estándares de calidad
- Análisis alimentario
- Workflow en el análisis molecular de alimentos
  - Extracción y Purificación de DNA: Paso crítico
  - Sistema extracción Maxwell®
  - Detección de patógenos por PCR a tiempo real
- Aplicación: Análisis de patógenos
  - Análisis conjunto de *Listeria* + *Salmonella* en alimentos
  - Análisis de *Legionella* en aguas
- Aplicación: Análisis de GMOs, fraude alimentario y alérgenos
- Conclusiones

# Agenda

- Presentación Promega
  - Misión y Visión
  - Promega Corp.
  - Nuestros estándares de calidad
- Análisis alimentario
- Workflow en el análisis molecular de alimentos
  - Extracción y Purificación de DNA: Paso crítico
  - Sistema extracción Maxwell®
  - Detección de patógenos por PCR a tiempo real
- Aplicación: Análisis de patógenos
  - Análisis conjunto de *Listeria* + *Salmonella* en alimentos
  - Análisis de *Legionella* en aguas
- Aplicación: Análisis de GMOs, fraude alimentario y alérgenos
- Conclusiones

# Promega: Mision y Visión

Misión: Proporcionar **soluciones fiables y personalizadas** que permitan el progreso en la investigación biomédica, la industria agroalimentaria, la investigación forense y el diagnóstico molecular, ofreciendo un servicio cercano y de calidad.

Visión: Acercar y facilitar las técnicas moleculares dentro de los laboratorios agroalimentarios. **Ningún laboratorio agroalimentario sin PCR**

# Promega Corporation

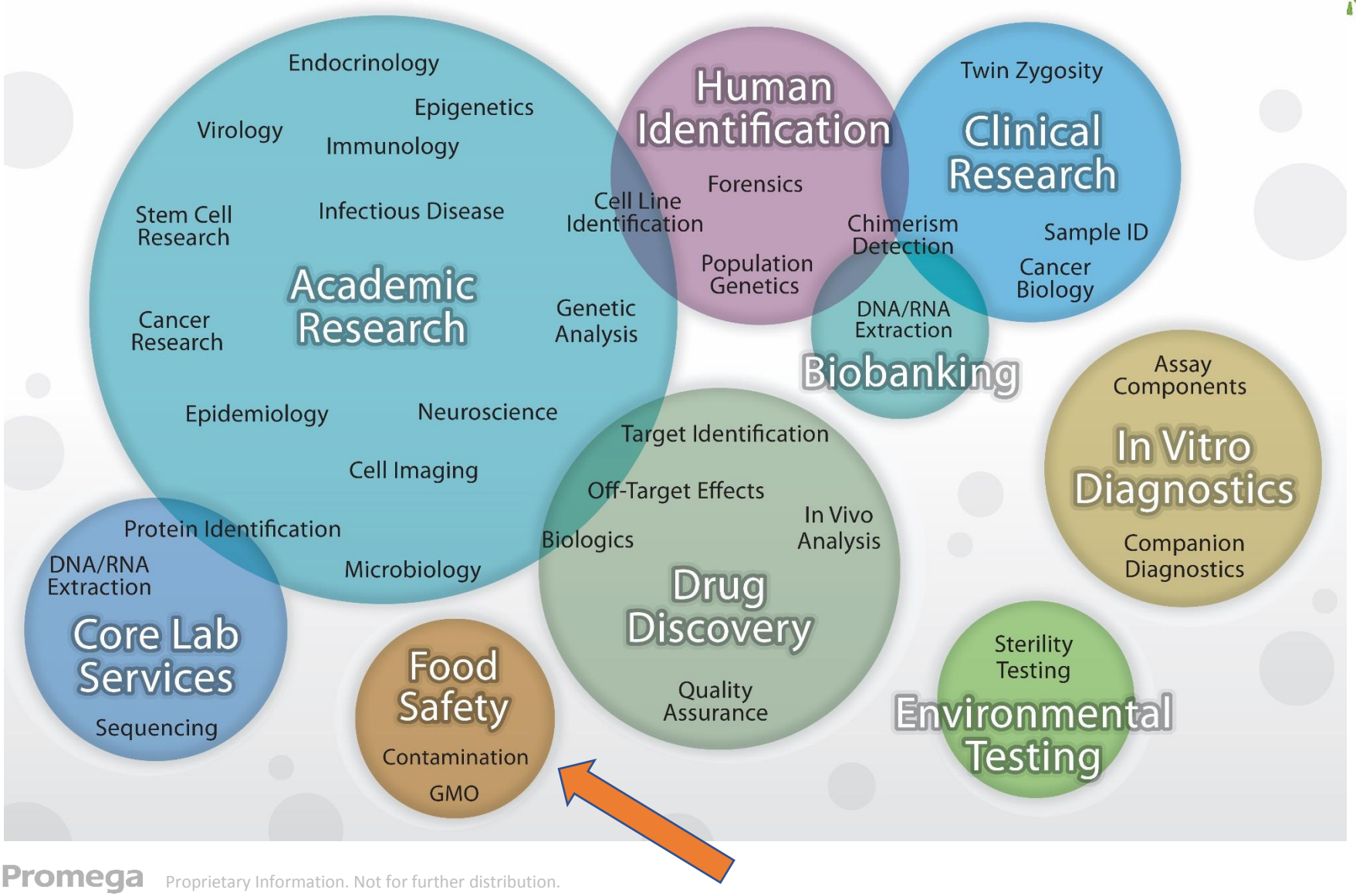
**Multinacional Biotecnológica, productores globales**

**Ventas~ $400M, >4000 productos, ~1400 empleados**

**Presencia en mercados de actividad I+D**

CELEBRATING OUR FIRST 40 YEARS Promega 1978 – 2018

# Sectores





Proprietary Information. Not for further distribution.

# Estándares de Calidad

ISO 13485:2003

Sistema de Gestión ISO 9001:2015
www.tuv.com
ID 9105047804

ISO 9001:2015

ISO 18385:2016

REACH Compliant

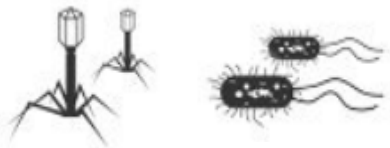
WEEE Compliant

# Agenda

- Presentación Promega
  - Misión y Visión
  - Promega Corp.
  - Nuestros estándares de calidad
- Análisis alimentarios
- Workflow en el análisis molecular de alimentos
  - Extracción y Purificación de DNA: Paso crítico
  - Sistema extracción Maxwell®
  - Detección de patógenos por PCR a tiempo real
- Aplicación: Análisis de patógenos
  - Análisis conjunto de *Listeria* + *Salmonella* en alimentos
  - Análisis de *Legionella* en aguas
- Aplicación: Análisis de GMOs, fraude alimentario y alérgenos
- Conclusiones

# Análisis Alimentarios

**I. Solución técnica basada en <u>Biología Molecular</u> para determinar parámetros de control en muestras agroalimentarias, ofreciendo el workflow completo.**



**Microorganismos**

**Identificación de especies, GMOs, alérgenos**

**II. Métodos de análisis optimizados y validado**s. Fácilmente acreditables por ENAC .

**III. Asesoramiento y soporte científico-técnico permanente**.


Proprietary Information. Not for further distribution.

# Agenda

- Presentación Promega
  - Misión y Visión
  - Promega Corp.
  - Nuestros estándares de calidad
- Análisis alimentarios
- Workflow en el análisis molecular de alimentos
  - Extracción y Purificación de DNA: Paso crítico
  - Sistema extracción Maxwell®
  - Detección de patógenos por PCR a tiempo real
- Aplicación: Análisis de patógenos
  - Análisis conjunto de *Listeria* + *Salmonella* en alimentos
  - Análisis de *Legionella* en aguas
- Aplicación: Análisis de GMOs, fraude alimentario y alérgenos
- Conclusiones

# Workflow: Análisis molecular de alimentos

**Extracción automatizada DNA + Cuantificación** → **Detección Real-time PCR** → **Informe de Resultados**

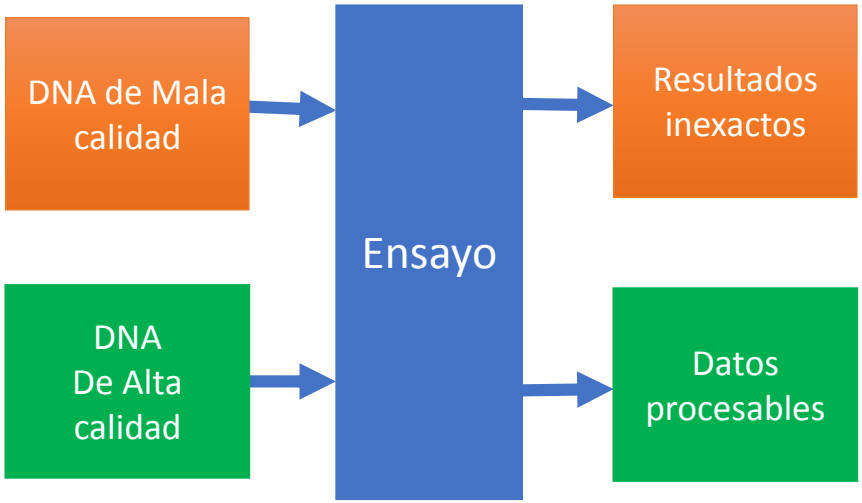
- ✓ Rapidez
- ✓ Sin necesidad de preparaciones laboriosas
- ✓ Eficaz frente los inhibidores de los alimentos
- ✓ DNA de calidad para usar técnicas moleculares (qPCR, NGS, microarrays)
- ✓ Flexibilidad en procesividad (formato 16, 48, 96 muestras)

- ✓ Rapidez
- ✓ Alta especificidad
- ✓ Gran sensibilidad
- ✓ Reducción falsos negativos

# Extracción y purificación de DNA: Paso crítico

**Baja calidad DNA conlleva:**

- Imposibilidad de analizar la muestra
- Evaluación incorrecta de la diana (patógenos, GMOs, alérgenos…)
- Falsos +/ -
- Malinterpretación de los resultados
- Resultados irreproducibles:
  - Variaciones
  - Inconsistencia
  - Retrasos
  - Sobrecostes




*"Quality Data Begins with Quality Analytes"*


Proprietary Information. Not for further distribution.

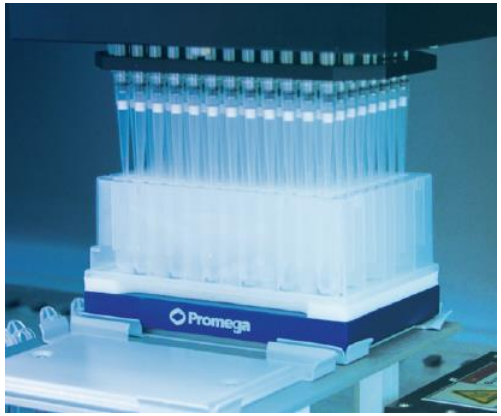
# Sistema de extracción automatizada

Maxwell

- Sistema de extracción basado en **Partículas Paramagnéticas** afines al DNA/RNA
- Cartuchos pre-dispensados con los reactivos
- Métodos pre-programados en el instrumento
- Tiempo de extracción: 20-60 min

Maxwell® RSC Instrument

- Opción Maxwell® HT: Química Maxwell® adaptada a diferentes plataformas robóticas (Ej. Tecan, Hamilton, etc…)




Maxwell® HT en Liquid Handlers

# Detección de patógenos por PCR a tiempo real

- **Patógenos alimentarios**
  - *Salmonella spp.*
  - *Listeria monocytogenes*
  - STEC
  - *Campylobacter*
  - *Vibrio*
  - *Yersinia*
  - Virus: HAV, HEV, Norovirus, ASFV, etc..
- Patógenos ambientales
  - *Legionella*
- Patógenos producción animal
- Patógenos producción vegetal
- Industria alimentaria
  - Microbiota deterioro: cerveza, vino, zumos, cárnicos, etc..

# Agenda

- Presentación Promega
  - Misión y visión
  - Promega Corp.
  - Nuestros estándares de calidad
- Análisis alimentarios
- Workflow en el análisis molecular de alimentos
  - Extracción y Purificación de DNA: Paso crítico
  - Sistema extracción Maxwell®
  - Detección de patógenos por PCR a tiempo real
- Aplicación: Análisis de patógenos
  - Análisis conjunto de *Listeria* + *Salmonella* en alimentos
  - Análisis de *Legionella* en aguas
- Aplicación: Análisis de GMOs, fraude alimentario y alérgenos
- Conclusiones

# Aplicación:
# **Análisis conjunto de *Listeria monocytogenes* + *Salmonella* en muestras alimentarias**

Eficiencia y productividad

**2 parámetros**

APT
(*Salmonella*)

HF
(*Listeria*)

**1 extracción DNA**

**1 reacción PCR**

**2 resultados**

**Enriquecimientos: 18h a 26h**

**Extracción: 30 min**

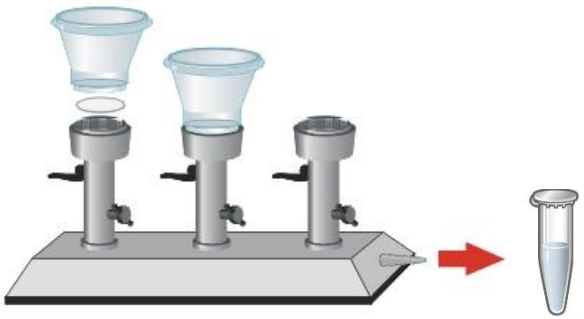
**PCR: 1 h 25 min**

# Aplicación:
# **Análisis de *Legionella* en muestras de aguas**

UNE 100030:2017: **reconocimiento de PCR como método alternativo al cultivo**

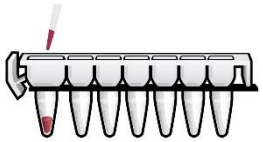
**Paso 1. Preparación muestra**

Concentración Muestra:



**Incubación-Lisis**

Añadir concentrado de la muestra al cartucho Maxwell®

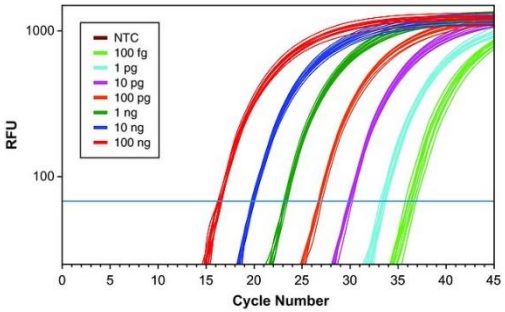


**Paso 2. Sistema Extracción Maxwell®**

Seleccionar protocolo y colocar la gradilla

**Paso 3. Kit detección Real-Time PCR**

Legiofast SPECIES




**~ 1h**

**~1h 30min**

# Agenda

- Presentación Promega
  - Misión y visión
  - Promega Corp.
  - Nuestros estándares de calidad
- Análisis alimentarios
- Workflow en el análisis molecular de alimentos
  - Extracción y Purificación de DNA: Paso crítico
  - Sistema extracción Maxwell®
  - Detección de patógenos por PCR a tiempo real
- Aplicación: Análisis de patógenos
  - Análisis conjunto de *Listeria* + *Salmonella* en alimentos
  - Análisis de *Legionella* en aguas
- Aplicación: Análisis de GMOs, fraude alimentario y alérgenos
- Conclusiones

# GMOs, Fraude alimentario y Alérgenos

***Análisis GMOs***

- Semillas y alimentos importados a la UE de países donde hay cultivos genéticamente modificados pueden contener trazas de GMOs.
- La UE exige que estos productos sean evaluados y etiquetados correctamente
- Se considera producto GMO cuando contiene >0.9% y la ley obliga a etiquetarlo como tal. Si el producto contiene 0.9% o menos el producto se etiqueta como no GMO.

***Fraude Alimentario***

- Ambigüedad en las practicas de etiquetado en los proveedores comerciales.
- Fraude en el etiquetado de producto (adulteraciones, sustituciones de ingredientes)
- Preocupación de los consumidores (implicaciones de precio, restricciones dietéticas, productos halal...)

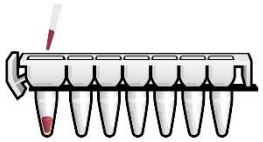
**Alérgenos**

- Aumento de alergias alimentarias y preocupación de los consumidores
- Normativa de etiquetado más estricta

# Aplicación:
# GMOs, Fraude alimentario y Alérgenos

**Paso 1. Preparación muestra**

- Añadir CTAB, Rnasa y Proteinasa K.
- Incubar 30 minutos
- Centrifugar 10 minutos.
- Añadir 300µl de lisado y 300µl de Lysis Buffer en el pocillo 1 del cartucho Maxwell® RSC



**Preparación muestra: 40 min**

**Paso 2. Sistema Extracción Maxwell®**

Seleccionar método y colocar la gradilla

**Extracción: 40 min**

**Paso 3. Kit detección (GMO, alérgeno, ID especies).**

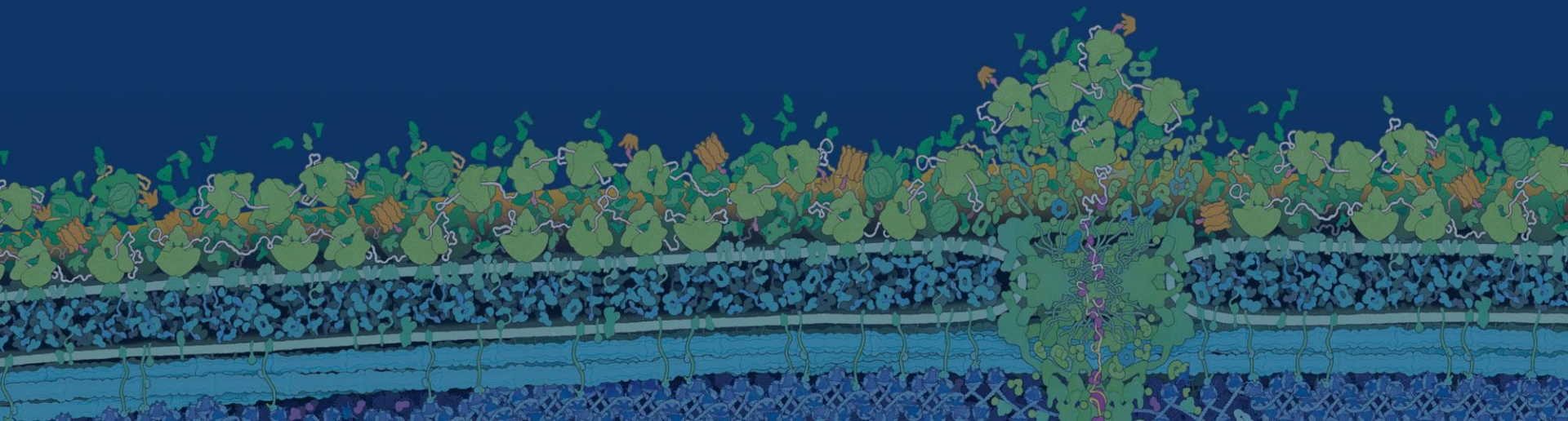
**PCR: ~1h 30min**

# Conclusiones

- La Biología Molecular amplía enormemente las posibilidades del laboratorio agroalimentario
- Amplia implantación de análisis por PCR en tiempo real.
  - Previsión: en 5 años todos los laboratorios agroalimentarios tendrán un termociclador
- La calidad del DNA es crucial para la obtención de resultados fiables

**Promega ofrece la tecnología necesaria para el análisis de patógenos, GMOs y alérgenos en muestras alimentarias, con asesoramiento y soporte científico-técnico permanente.**

Promega

# Gracias
# ¿Dudas, comentarios?

**esp_techserv@promega.com**