

Mètodes ràpids i automatització en **microbiologia alimentària**. Actualitat, perspectives i reptes

RESUM: El nombre d'assajos microbiològics augmenta any rere any, amb grans progressos en el desenvolupament de mètodes fàcils d'usar i que assegurin rapidesa, precisió, sensibilitat i especificitat en l'obtenció dels resultats, a un cost moderat. Els mètodes microbiològics ràpids i automatitzats permeten als industrials treure els seus productes més ràpidament al mercat, garantint-ne la seguretat i la conservació.

Els avenços en instrumentació fan possible comptar les cèl·lules viables més ràpidament i eficientment. L'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), el mètode immunològic més usat, està totalment automatitzat i consolidat a moltes empreses alimentàries. La detecció d'ATP s'usa actualment per avaluar en temps real la neteja i la desinfecció a la indústria alimentària, mitjançant sistemes de bioluminescència.

L'aplicació de la biologia molecular en els aliments està guanyant importància. El mètode més usat és la PCR (polymerase chain reaction). En el futur, els biosensors seran a les línies de processament d'aliments. I en aquest camp també es treballa en bioxips i microxips.

SUMMARY: The number of microbiological assays is increasing year after year, with great advances in easy-to-use methods that ensure rapid, accurate, sensitive and specific results, at a moderate cost. Automated and rapid microbiological methods allow manufacturers to bring out their products to the market more rapidly, with safety and preservation being guaranteed.

There have been many developments in instrumentation that are allowing more rapid and efficient ways to obtain viable cell counts. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), the most used immunological method, is completely automated and well established in many food companies. ATP bioluminescence diagnostic tests are currently being used for food industry real-time monitoring of hygiene.

Food applications of molecular biology are becoming more and more important. PCR (polymerase chain reaction) is the most used method. In the future, biosensors will be in place in food processing systems. And in that field, research is also being done into biochips and microchips.

MARTA CAPELLAS, DANIEL Y. C. FUNG* i JOSEP YUSTE

CER Planta de Tecnologia dels Aliments (CeRTA, XIT), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona

* Call Hall, Departament de Ciències Animals i d'Indústria, Universitat Estatal de Kansas

PARAULES CLAU: microbiologia alimentària, mètodes ràpids, automatització, patògens, seguretat, conservació.

INTRODUCCIÓ

El nombre d'assajos microbiològics augmenta any rere any en molts sectors industrials (alimentació, begudes, farmacologia, cosmètica, medi ambient, etc.), amb grans progressos en el desenvolupament de mètodes fàcils d'usar i que garanteixen rapidesa, precisió, sensibilitat i especificitat en l'obtenció dels resultats, a un cost moderat. El 2003, van fer-se 1.136,5 milions d'assajos microbiològics al món, que equival a quasi 2.700 milions d'euros. La indústria alimentària n'és el principal mercat, amb un 49 %. La de les begudes representa un 9 %. Es preveu que el 2008, el nombre d'assajos microbiològics augmentarà a 1.505,3 milions (quasi 4.150 milions d'euros).

Els mètodes microbiològics ràpids i automatitzats permeten als industrials treure els seus productes més ràpidament al mercat, garantint-ne la seguretat i la conservació. Es pot evitar al més ràpidament possible que una primera matèria contaminada entri a la cadena alimentària, i que un producte final en mal estat microbiològic surti de la indústria. I es pot determinar si, en els diversos punts de control crític, el producte i l'ambient de la indústria són en bon estat microbiològic. Aquests mètodes fan possible analitzar més tipus d'aliments a la indústria. Ara s'apliquen sobretot a carn, carn d'au, productes lactis i de

la pesca, etc., i es preveu que l'ús d'aquests mètodes en fruites i verdures augmentarà.

Un 20 % dels assajos microbiològics fets a la indústria alimentària són per analitzar patògens, com ara *Salmonella* spp. i *Escherichia coli* O157:H7. El 80 % restant són assajos rutinaris, com ara el recompte total de microorganismes, de coliformes, i de fongs filamentosos i llevats. Durant els anys vinents, el percentatge d'assajos en patògens augmentarà en un 10 % en aplicar-se els nous estàndards i les noves normatives, i perquè emergeixen nous patògens. El repartiment del nombre d'assajos microbiològics a la indústria alimentària és, aproximadament, 33 % a l'Amèrica del Nord, 33 % a Europa i 33 % a la resta del món. Durant els deu anys vinents, això canviarà a 25 % a l'Amèrica del Nord, 25 % a Europa i 50 % a la resta del món, ja que d'altres països (la Xina i uns altres amb economies creixents) s'estan conscienciant de la importància de la seguretat alimentària.

Els principals patògens d'interès per a la indústria alimentària són *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium* spp., *Staphylococcus aureus*, *E. coli* i *Listeria monocytogenes*. Soques d'aquests bacteris, de vegades resistents a alguns antibiòtics, estan associades a molts brots d'origen alimentari. Uns altres bacteris i fongs també són importants, i no s'han d'oblidar els virus i els protozous. Actualment, davant

d'un brot la causa del qual no sabem, tendim a pensar, de manera errònia, en bacteris o fongs més que no pas en virus o protozous. Durant els anys vinents, augmentarà l'activitat en els camps de la virologia i la parasitologia alimentàries. Els virus són difícils de detectar; es pot fer mitjançant biologia molecular. Es proposen tècniques com la ultracentrifugació per extreure'ls dels aliments, seguida de l'aplicació de la transcriptasa inversa per traduir l'ARN víric al seu ADN complementari, i després usar la tècnica de la *polymerase chain reaction* (PCR).

PRESA I PREPARACIÓ DE MOSTRES, MINIATURITZACIÓ, GALERIES DE DIAGNÒSTIC

Quant als avenços en la presa i la preparació de mostres, un dels equips d'invenció més recent és el *Pulsifier*, que serveix per recuperar els microorganismes dels aliments en un diluent, mitjançant vibracions que fan passar els microorganismes al medi líquid, sense trencar l'estructura de l'aliment. Com que les suspensions obtingudes contenen molt poques restes d'aliment, no hi ha interferència en el recompte en placa i, a més, es poden usar en tècniques com ara la bioluminescència (anàlisi d'ATP), les enzimàtiques (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) i les genètiques (PCR).

Els avenços en instrumentació relatius a la preparació, la dilució i la sembra de les mostres, fan possible comptar les cèl·lules viables més ràpidament i eficientment. Per exemple, la miniaturització i l'automatització del mètode del nombre més probable (NMP) permeten augmentar-ne l'eficàcia.

Quant al recompte total de microorganismes, cal remarcar els mètodes que compten les cèl·lules en temps real. És molt important saber si les cèl·lules microbianes són vives o no. Hi ha tincions vitals, amb colorants molt específics, per diferenciar les cèl·lules vives de les mortes en menys d'una hora. Consisteixen a atrapar les cèl·lules en un

Grans progressos en el desenvolupament de mètodes fàcils d'usar i que garanteixen rapidesa, precisió, sensibilitat i especificitat en l'obtenció dels resultats, a un cost moderat

filtre o una membrana i després teinyir-les amb un colorant fluorescent, que en possibilita la posterior observació directa al microscopi.

Després del creixement de les colònies en medi selectiu, la identificació mitjançant galeries basades en canvis de color per reaccions bioquímiques degudes al metabolisme microbià, també ha avançat considerablement. En l'inici, aquests mètodes es van desenvolupar per bacteris entèrics, però actualment també estan disponibles per identificar bacteris grampositius, com ara *Listeria monocytogenes* i *Staphylococcus aureus*, i fongs filamentosos i llevats. En alguns casos, permeten la identificació en 2-4 hores.

MÈTODES IMMUNOLÒGICS

Els mètodes immunològics, amb l'ús d'anticossos monoclonals i policlonals, s'apliquen des de fa dècades, i cada vegada s'automatitzen i s'usen més. La tècnica més popular és l'ELISA, ja totalment automatitzada i consolidada a moltes indústries alimentàries. Actualment, hi ha sistemes, com el VIDAS, que permeten fer l'anàlisi d'una mostra, prèviament incubada durant tota la nit, en un temps de 45 a 120 min. Ara s'intenta augmentar-ne la sensibilitat (10^4 - 10^5 organismes) i escurçar-ne el temps (8 h), sobretot el de la fase d'incubació. Una altra millora d'aquesta tècnica és la incorporació del sistema TECRA, que combina la immunocaptura i el creixement dels microorganismes amb l'ELISA.

És difícil separar i concentrar eficaçment les cèl·lules diana, perquè sempre es requereix un pas d'enriquiment. Actualment, aquest és el coll d'ampolla per al microbiòleg dels aliments. Per això, és important desenvolupar tecnologies com ara la separació immunomagnètica, la filtració, la centrifugació i l'atracció electrostàtica, perquè pot escurçar el temps de l'anàlisi, sobretot el de la fase d'enriquiment (pot comportar l'estalvi d'almenys un dia), i així es poden identificar les cèl·lules més ràpidament. A més, per aprofitar al

Els mètodes immunològics s'apliquen des de fa dècades, i cada vegada s'automatitzen i s'usen més. La tècnica més popular és l'ELISA, ja totalment automatitzada i consolidada a moltes indústries alimentàries

màxim el potencial de noves tecnologies d'anàlisi, com ara els biosensors, els bioxips i els microxips, cal trobar sistemes òptims per separar i concentrar els organismes diana perquè el senyal sigui correcte i no hi hagi resultats erronis.

La captura immunomagnètica és una innovació en què s'utilitzen partícules metàl·liques recobertes d'anticossos específics per a un determinat microorganisme. Les partícules s'afegeixen a la solució obtinguda en barrejar l'aliment i el diluent, i després aquelles es recuperen amb un imant. Així, s'aïllen les cèl·lules del microorganisme que es vol identificar en una suspensió que després es pot usar per sembrar plaques, o fer hibridació amb sondes genètiques, el test de la PCR o l'ELISA. Per exemple, es proposa un sistema que combina la separació immunomagnètica i l'ELISA, que permet detectar *E. coli* O157:H7 en 5 h i 15 min, el temps més curt actualment: 4 h i 30 min d'enriquiment + 30 min (circulant)

d'immunocaptura + 15 min d'ELISA. S'intenta escurçar l'enriquiment a 3 h, amb l'ajuda de l'enzim oxirasa, perquè el procés tardi menys de 4 h en total.

INSTRUMENTACIÓ, MESURES DE BIOMASSA

Un altre grup de tècniques ràpides el constitueixen els instruments que mesuren senyals originats pel creixement microbià. Aquests senyals són, per exemple, l'ATP, alguns enzims específics, el pH, el potencial redox, la conductància, la impedància i la capacitat elèctriques, la calor i el CO₂. Hi ha aparells en què la mesura d'alguns d'aquests senyals, com ara el CO₂, el pH, el potencial redox i els grups amino lliures, es fa mitjançant detecció colorimètrica. Alguns d'aquests sistemes són de fàcil ús, permeten analitzar moltes mostres alhora i estan dissenyats per determinar indirecta-

La captura immunomagnètica és una innovació en què s'utilitzen partícules metàl·liques recobertes d'anticossos específics per a un determinat microorganisme

Cada vegada més laboratoris i indústries agroalimentaris incorporen mètodes genètics (sobretot la PCR), ja que n'hi ha de molt específics, ràpids i, malgrat la seva sofisticació, fàcils d'usar. L'aplicació de la biologia molecular en els aliments està guanyant importància, i augmentarà encara més en un futur proper, per detectar i identificar ràpidament el material genètic de molt diversos organismes diana

ment recomptes totals, coliformes, *Escherichia coli*, bacteris acidolàctics, fongs filamentosos i llevats, i mostres ambientals i de superfícies. La prova de la catalasa, les plaques i el *Petriefilm* de contacte, i els mètodes automatitzats basats en impedància i òptica, faciliten a l'indústria el control de la higiene. També hi ha dispositius molt diversos amb un escovilló o un tampó i uns reactius, basats sobretot en bioluminescència o colorimetria, que donen resultats molt ràpidament (10 min). Actualment, requereixen un preenriquiment per assolir 10^6 organismes, però ara se n'augmenta la sensibilitat. Aquests dispositius s'usen àmpliament a la indústria alimentària per detectar patògens, i també les seves toxines.

La detecció d'ATP de qualsevol origen s'usa actualment per avaluar en temps real la neteja i la desinfecció a la indústria alimentària (utensilis, equips, instal·lacions), mitjançant sistemes de biolumi-

nescència molt senzills i de lectura immediata, que troben la seva aplicació en l'anàlisi de perills i punts de control crític (APPCC), i en milloren l'eficàcia.

La capacitat de molts bacteris marins d'emetre llum (bioluminescència), combinada amb els mètodes de genètica molecular, permeten obtenir microorganismes patògens bioluminescents. Aquests microorganismes recombinants, quan s'inoculen en els aliments, poden utilitzar-se per estudiar el metabolisme, la resistència a tractaments letals i subletals, i la formació de biopel·lícules. A partir d'aquests estudis, poden establir-se models predictius que considerin les interaccions microbianes que es produeixen en els aliments.

També hi ha mètodes que permeten escurçar el temps de detecció de fongs i micotoxines en els aliments, com la determinació de l'ergosterol, un constituent de la paret cel·lular de la majoria de fongs.

L'anàlisi és per cromatografia en capa fina, després d'una extracció prèvia amb hexanol, i la quantitat d'ergosterol és un indicador del creixement fúngic i la presència de micotoxines. Si cal identificar els gèneres i les espècies presents en els aliments, pot fer-se mitjançant el test de la PCR o l'ELISA.

MÈTODES GENÈTICS

Tots els mètodes mencionats fins ara mesuren característiques fenotípiques de les cèl·lules. Les genotípiques, però, són molt més estables i cada vegada hi ha més sistemes d'identificació genètica. Els primers que van aparèixer usaven sondes d'ADN per hibridar la seqüència d'ADN de bacteris. Actualment, s'utilitzen sondes que hibriden l'ARN, amb l'avantatge que, d'aquest, n'hi ha més còpies a la cèl·lula, i la detecció és més fàcil. Un altre mètode cada vegada més usat és la PCR, que amplifica les còpies de l'ADN del microorganisme abans de fer-ne la identificació mitjançant tècniques de fluorescència. Aquests mètodes poden detectar l'ADN de microorganismes no viables presents en els aliments. Cada vegada més laboratoris i indústries agroalimentaris incorporen mètodes genètics (sobretot la PCR), ja que n'hi ha de molt específics, ràpids i, malgrat la seva sofisticació, fàcils d'usar. L'aplicació de la biologia molecular en els aliments està guanyant importància, i augmentarà encara més en un futur proper, per detectar i identificar ràpidament el material genètic de molt diversos organismes diana: bacteris, fongs filamentosos, llevats, virus, paràsits i, fins i tot, organismes superiors.

BIOSENSORS, BIOXIPS I MICROXIPS

L'últim grup de tècniques és el dels biosensors, essencialment formats per molècules o grups de molècules incorporats a un material (transductor) que permet reconèixer un

senyal. Es poden dissenyar per detectar patògens com ara *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E. coli* O157:H7, *Clostridium* spp., etc., incorporant-hi, per exemple i com a més habituals, els enzims (catalasa o d'altres), els anticossos o les molècules d'ADN apropiats. També es pot analitzar l'activitat microbiana detectant l'ATP; l'oxigen; l'hidrogen; uns altres metabòlits; els canvis de pH, conductància, impedància, capacitat o microcalorimetria. Però la tecnologia existent encara no permet usar-los per detectar en temps real en l'aliment, ja que cal preparar la mostra perquè no hi hagi restes d'aliment que interfereixin en el sensor i cal fer multiplicar les cèl·lules. En alguns casos, els biosensors no permeten saber si el microorganisme és viable, sinó que només en detecten la presència. En el futur, els biosensors seran a les línies de processament d'aliments, dins dels programes d'APPCC.

Es treballa en bioxips i microxips que permeten detectar els gens dels patògens mitjançant hibridació, quan es posen de manifest amb colorants específics. Es pot obtenir la reacció amb el patògen molt ràpidament i, a més, es pot treballar amb diversos patògens alhora (anàlisi de deu gens específics de cadascun de deu patògens diferents en un sol xip, i aviat de cent patògens). Hi haurà microxips que, ràpidament i simultània, detectaran tots els patògens importants i, alhora, faran recomptes de les cèl·lules viables; tot en una mateixa unitat, un sol assaig, de manera quasi instantània.

ELS CONSUMIDORS, ELS MÈTODES RÀPIDS I EL FUTUR

Es dissenyen sistemes d'alerta en els envasos alimentaris i galeries d'alerta per detectar ràpidament organismes alteradors i patògens. Seran bones eines per al consumidor, que podrà adonar-se de la perillositat o l'estat d'un aliment. És convenient que, a més, la galeria indiqui les condicions adequades de cocció i

En el futur, els biosensors seran a les línies de processament d'aliments, dins dels programes d'APPCC

d'emmagatzematge per garantir la seguretat i la conservació de l'aliment. Caldrà, però, educació i preparació molt bones del consumidor. Aquests dissenys es basen en sensors o codis de barres amb reactius que detecten els organismes, o en canvis de color entre d'altres, les variacions de pH o la presència de determinats compostos sintetitzats pels microorganismes (CO₂, amoníac, sulfur d'hidrogen i d'altres). En el cas dels codis de barres, es podrà saber el grau de deteriorament de l'aliment segons el nombre de barres que canviï de color. Fins i tot, es proposa la incorporació d'anticossos a l'envàs per detectar els organismes mitjançant les reaccions de manera automàtica de la ja mencionada ELISA. Així, el consumidor podrà examinar els aliments i els envasos a casa seva.

EL WORKSHOP MRAMA

MRAMA és la sigla de *mètodes ràpids i automatització en microbiologia alimentària*. Des del 2002, cap a finals de novembre, a la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, Cerdanyola del Vallès), celebrem anualment el *workshop* MRAMA, organitzat pel Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA) i el Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la UAB. La cinquena edició va ser del 20 al 24 de novembre de 2006. El *workshop*, d'un contingut aplicat i de futur, amplia i difon els coneixements teòrics i pràctics sobre mètodes innovadors per detectar, comptar, aïllar i caracteritzar ràpidament els microorganismes habituals en els aliments i l'aigua.

El ponent principal és el professor doctor Daniel Y. C. Fung, de la Universitat Estatal de Kansas. El doctor Fung és professor de ciències dels aliments del Departament de Ciències Animals i d'Indústria; la seva especialitat és la microbiologia dels aliments i, dins d'aquest àmbit, és un científic de prestigi internacional en el camp dels mètodes ràpids i l'automatització. A més, és director del *workshop* internacional sobre mètodes ràpids i automatització en microbiologia, que també té lloc anualment a Manhattan, i que complí el seu 25è aniversari el juny de 2005; guanyador de diversos premis per les seves tasques docents i investigadores; editor de la revista *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, i membre de nombroses associacions de microbiologia i ciència i tecnologia dels aliments. El doctor Fung té, doncs, una llarga experiència en el tema del *workshop*, fet que permet oferir ponències de gran qualitat, de continguts molt rics i complets sobre les diverses disciplines de la microbiologia alimentària. De fet, al doctor Fung, també se'l coneix com el «pare» dels mètodes microbiològics miniaturats, perquè va ser pioner en aquest camp i, actualment, és un dels investigadors més experts i especialitzats del món, i ha desenvolupat i desenvolupa diversos mètodes ràpids durant la seva trajectòria professional. Indubtablement, la seva presència és molt profitosa i contribueix a un bon aprenentatge dels mètodes microbiològics més recents i eficaços.

El *workshop* compta amb uns altres conferencians de renom. S'encarrega de la ponència inaugural la doctora Cécile Lahellec, asses-

sora científica de l'Agència Francesa de Seguretat Sanitària dels Aliments (AFSSA) d'Alfort (França), que, amb la seva experiència forjada durant el seu treball a l'Administració, aporta el punt de vista relacionat amb l'ús de mètodes ràpids per al control oficial dels aliments. El doctor Daniel Ramón, investigador de l'Institut d'Agroquímica i Tecnologia d'Aliments (IATA) del Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC), i professor del Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Bromatologia, Toxicologia i Medicina Legal de la Universitat de València, a Burjassot, transmet als assistents els seus amplis coneixements sobre el desenvolupament, l'ús i la detecció d'aliments transgènics. El doctor Armand Sánchez, director del Servei Veterinari de Genètica Molecular de la UAB i professor del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la UAB, explica amb detall el test de la PCR, tècnica molt usada en el seu grup de recerca. Hi assisteixen d'altres conferenciants procedents de l'Administració i de laboratoris i d'indústries agroalimentaris, per diversificar al màxim els punts de vista i, així, enriquir el contingut global de les ponències del *workshop*.

A més, hi assisteixen representants d'importantes empreses de l'àmbit de la microbiologia, que projecten diverses presentacions multimèdia i mostren els seus equips i els seus productes, per explicar-ne el funcionament, els avantatges i els inconvenients, i les tècniques en què es basen. Moltes d'aquestes empreses patrocinen el *workshop*.

Cada any el *workshop* és una activitat exitosa, tant pels ponents i

les seves ponències, com per l'assistència de públic i la participació de les empreses de l'àmbit de la microbiologia. Hi assisteix una mitjana de dues-centes persones, de diversos col·lectius nacionals i internacionals: laboratoris i empreses agroalimentaris, i alguns d'àmbit no alimentari; administració; professors i estudiants de tercer cicle i de diverses llicenciatures, enginyeries i diplomatures (ciència i tecnologia dels aliments, veterinària, biologia, biotecnologia, enginyeria química, enginyeria tècnica agrícola, medicina, nutrició i dietètica, i química) de la UAB i d'altres universitats, i d'altres centres de recerca.

Durant el *workshop* es duen a terme unes sessions pràctiques al laboratori, en què es mostren els aparells i els productes més innovadors dins del camp dels mètodes ràpids i l'automatització microbiològica, amb els quals es pot treballar.

BIBLIOGRAFIA

- CAPELLAS, M.; FUNG, D. Y. C.; YUSTE, J. (2005). «Mètodes ràpids i automatització en microbiologia alimentària». *Veterinària*, vol. 84, p. 16-17.
- FUNG, D. Y. C. (1992). «Historical development of rapid methods and automation in microbiology». *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, vol. 1, p. 1-14.
- (2002). «Rapid methods and automation in microbiology». *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 1, p. 3-22.
- «Fung's forecast on rapid & automated methods: where are we now?» (2004). *Food Safety Magazine*, vol. 24-31 (agost-setembre), p. 60.
- GOURLEY, P. L. (2005). «Brief overview of biotecnologies». *Biotechnology Progress*, vol. 21, p. 2-10.
- HANNA, S. E.; CONNOR, C. J.; WANG, H. H. (2005). «Real-time polymerase chain reaction for the food microbiologist: technologies, applications, and limitations». *Journal of Food Science*, vol. 70, p. R49-R53.
- HENDRICKS, R. A.; BOYLE, E. A. E.; KASTNER, C. L.; FUNG, D. Y. C. (2000). «Compilation of intervention methods and conditions, and ingredients limits for controlling *Campylobacter jejuni* in meat and poultry products». *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, vol. 8, p. 285-305.
- KALAMAKI, M.; PRICE, R. J.; FUNG, D. Y. C. (1997). «Rapid methods for identifying seafood microbial pathogens and toxins». *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, vol. 5, p. 87-137.
- RZUZUTKA, A.; AGOSTINO, M. d'; COOK, N. (2006). «An ultracentrifugation-based approach to the detection of hepatitis A virus in soft fruits». *International Journal of Food Microbiology*, vol. 108, p. 315-320.
- VARSHNEY, M.; LI, Y.; NANAPANENT, R.; JOHNSON, M. G.; GRIFFIS, C. L. (2004). «A chemiluminescence biosensor coupled with immunomagnetic separation for rapid detection of *Salmonella* Typhimurium». *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, vol. 12, p. 111-131.
- WU, V. C. H.; GILL, V.; OBERST, R.; PHEBUS, R.; FUNG, D. Y. C. (2004). «Rapid protocol (5.25 h) for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in raw ground beef by an immuno-capture system (Pathatrix) in combination with Colortrix and CT-SMAC». *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, vol. 12, p. 57-67.
- YUSTE, J.; CAPELLAS, M.; FUNG, D. Y. C. (2005). «Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria». A: *Actes del IV workshop MRAMA*. Bellaterra (Cerdanyola del Vallès): Universitat Autònoma de Barcelona.