



## PESQUISA DE SALMONELLA PELA TÉCNICA DE PCR tempo real (POLYMERASE CHAIN REACTION)

De acordo com o mais recente “relatório das Zoonoses” referente a 2009, (EFSA 2011) a Salmonelose, doença causada pelo consumo de alimentos contaminados por Salmonella, permanece a 2ª zoonose humana relatada na EU.

Neste sentido o [Regulamento \(CE\) Nº 2073/2005](#), prevê a pesquisa de Salmonella, como critério de segurança para a maioria dos géneros alimentícios.

O Laboratório de Microbiologia do Laboratório de Segurança Alimentar da ASAE, a partir do presente mês, passou a poder efetuar as análises de “Pesquisa de salmonella”, não só pelo método clássico (ISO 6579:2002), acreditado desde 1995 para géneros alimentícios, e desde 2011 para géneros alimentícios e alimentos para animais, mas também por um método alternativo - PCR tempo real (Polymerase Chain Reaction), acreditado na avaliação do IPAC que ocorreu no passado mês de Junho.

Trata-se de um método de Biologia Molecular, que se baseia na amplificação e detecção de material genético (DNA), ao contrário dos métodos microbiológicos clássicos que se baseiam no crescimento “in vitro” de microrganismos em meios de cultura, específicos.



Extração do DNA das amostras

A técnica de PCR tempo real assenta em 3 fases, sendo a 1ª a extração de DNA das bactérias, a 2ª a amplificação de uma região específica de um fragmento de DNA alvo, e por fim a detecção do DNA amplificado. Neste caso o DNA que se pretende extrair, amplificar e detectar é o DNA da Salmonella.



**Preparação da mistura de amplificação (DNA molde e sondas fluorescentes)**



**Inoculação do controlo positivo e DNA das amostras, para amplificação no termociclador**

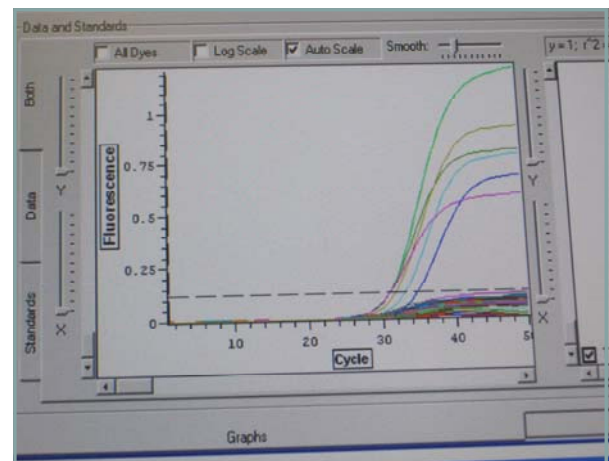
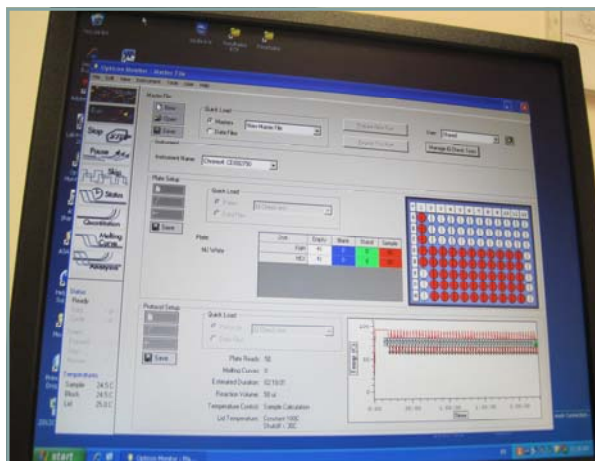
A fase de amplificação realiza-se num termociclador, em que por ciclos repetidos de desnaturação, hibridação e extensão se obtêm uma amplificação exponencial do segmento alvo. Teoricamente basta a existência de uma pequena quantidade de DNA, para desencadear a amplificação.

Esta técnica de PCR tempo real, permite que a fase de amplificação e detecção, se realize no mesmo equipamento e de forma automática, sendo que esta última fase assenta na detecção da emissão de fluorescência, produzida pelos produtos da amplificação do DNA alvo.

A pesquisa de Salmonella em géneros alimentícios, alimentos para animais e amostras ambientais, com recurso à técnica de PCR tempo real permite, no caso de resultados negativos, ter-se conhecimento destes em 24 horas. Tratando-se de um resultado positivo obtido, por esta técnica de biologia molecular, este necessita de ser confirmado, pelo método clássico.

A mudança de instalação do Laboratório de Microbiologia da ASAE, proporcionou a criação de espaços individualizados para as várias etapas do método, respeitando os critérios de boas práticas para o trabalho em biologia molecular, não colidindo com o circuito de marcha em frente do Laboratório de microbiologia.

A convicção de que o Laboratório de Microbiologia do Laboratório de Segurança Alimentar da ASAE tinha de avançar para a implementação de técnicas de PCR, numa perspectiva de evolução preparando-se para poder dar resposta a novas solicitações, a necessidade de otimizar os recursos humanos existentes, e reduzir o tempo de resposta aos clientes, assim como diminuir a produção de resíduos, foi determinante para a opção de implementação desta técnica.



**Leitura da fluorescência emitida**



Nos dias 28 e 29 de junho 2012 o Laboratório de Segurança Alimentar (LSA) foi auditado pelo organismo nacional de acreditação IPAC, segundo o previsto nos procedimentos de acreditação e tendo em vista a manutenção do estatuto de laboratório acreditado.

A avaliação abrangeu os quatro laboratórios e foi executada por 1 auditor coordenador e 5 auditores/peritos técnicos, repartidos da seguinte forma:



- ◆ Laboratório de Análises Tecnológicas e de Controlo (LATC) - 1 perito técnico, 1 dia de auditoria
- ◆ Laboratório de Bebidas e Produtos Vitivinícolas (LBPV) - 1 auditor técnico e 1 perito técnico, 1,5 dia de auditoria
- ◆ Laboratório de Físico-Química (LFQ) - 2 peritos técnicos, 1,5 dia de auditoria
- ◆ Laboratório de Microbiologia (LM) - 1 auditor técnico, 1,5 dia de auditoria

Foi constatado pela Equipa auditora a fusão, com sucesso, dos 2 sistemas de gestão existentes.

A avaliação decorreu de forma tecnicamente relevante, tendo sido auditados 32 ensaios dos quais 9 foram ensaios de extensão (determinações novas implementadas pelos laboratórios de modo a melhor responder às necessidades dos seus clientes).

A competência técnica do LSA foi constatada e elogiada pela Equipa auditora. Realça-se que apenas foram constata- das 3 não conformidades menores (1 de requisitos técnicos e 2 de requisitos de gestão).

Conclui-se assim, que o LSA continua a evidenciar a competência técnica necessária e suficiente para ostentar o estatuto de laboratório acreditado para 128 ensaios em variadas matrizes, abrangendo análises microbiológicas e físico-químicas, contribuindo assim para bem servir os seus clientes e prestigiar a imagem da ASAE.

Encontra-se já prevista para o final do ano a extensão da acreditação de 3 novos ensaios (2 de análise sensorial e 1 de análise físico-química).

## Aconteceu:

### Sessões de Esclarecimento

Entidade	Designação da Sessão	Data Realização	Local
Autoridade Marítima Nacional	Missão e atribuições da ASAE: Operações conjuntas entre a Autoridade Marítima e a ASAE - a perspectiva da ASAE	23-06-2012	Almada

## Grupo de trabalho das comunicações da EFSA



**A** ASAE, enquanto autoridade nacional responsável pela avaliação e comunicação dos riscos da cadeia alimentar, participa no Grupo de Trabalho das Comunicações (**AFWGC - Advisory Forum Working Group on Communications**) da EFSA.

O principal objectivo deste grupo de trabalho é, através da discussão e da troca de experiências das entidades dos diversos Estados-membros que compõem este grupo de trabalho, aperfeiçoar e otimizar a comunicação dos riscos alimentares no espaço comunitário. Um exemplo do trabalho efectuado no âmbito deste grupo é o guia de comunicação "**You don't need luck to communicate well!**", publicado em 13 de julho de 2012.

A participação da ASAE neste grupo de trabalho é assegurada pela Direção de Avaliação e Comunicação dos Riscos na cadeia alimentar e materializa-se quer pela participação nas reuniões regulares, quer através da realização de tarefas específicas por via electrónica.

### Sabia que...



**A** Inspeção Regional das Atividades Económicas (Açores), no dia 1 de junho, realizou um plano operacional com o objetivo de fiscalizar o cumprimento das disposições legais sobre a venda dos produtos nos mercados tradicionais (higiene dos géneros alimentícios de origem animal ou não, comercialização de carnes, rotulagem obrigatória, comercialização e rastreabilidade de pescado, comercialização de produtos hortofrutícolas, infrações antieconómicas e materiais em contato com bens alimentares).

Esta operação foi realizada na ilha de S. Miguel, no mercado da Graça.

Neste mercado foram fiscalizados 51 operadores económicos e detetadas 18 infrações, sendo atribuído um prazo, para regularização das infrações.

Ao longo de 2012, este mesmo plano será efetuado em outros mercados, em S. Miguel e em outras ilhas.

#### FICHA TÉCNICA:

ASAEnews nº 53  
Edição de setembro  
Ano 2012

Direção da Publicação: Carlos Martins (DST)  
Coordenação Editorial: Ana Oliveira (DST-DID)  
Compilação e Revisão de Textos: Olímpia Pelica (DST-DID)  
Design Paginação e Publicação: Fernanda Lobato (DST-DID)

