

# albêitar

Publicação para  
Médicos Veterinários  
do Sector de Animais  
de Produção  
N.º 4 Jul./Ago. 2014  
ISSN 1646-1177

## Novas tecnologias



Versão digital da Albêitar  
em [www.cienciaevida.pt](http://www.cienciaevida.pt)

Prevenção de mastites: uma realidade

Diagnóstico e controlo da App

Adsorver  
**Micotoxinas**



**Com o agente sequestrante de maior  
espectro do mercado**

O Mycosorb A+® da Alltech diminui os efeitos negativos das micotoxinas na saúde e performance animal.

  
**MYCOSORB A+**

**Faz o trabalho bem feito!**

O Mycosorb A+ não está disponível nos EUA e Canadá.  
Copyright, Alltech Todos os Direitos Reservados

infoportugal@alltech.com  
Tel: 21 960 55 10

 Alltech.com

 AlltechNaturally  
 @Alltech

# A TECNOLOGIA *BLU-RAY* APLICADA AO DIAGNÓSTICO DE AGENTES PATOGÉNICOS

OS SISTEMAS SENSORES BASEADOS NA TECNOLOGIA DE DISCO COMPACTO CONSISTEM NUM CONJUNTO DE ANÁLISES DE MICROMATRIZES QUE INTEGRA O RECONHECIMENTO MOLECULAR NA SUPERFÍCIE DE UM DISCO COMPACTO *STANDARD*. NESTE

SENTIDO, UM DISCO COMPACTO *BLU-RAY* TEM UMAS EXCEPCIONAIS POSSIBILIDADES COMO SUPORTE ANALÍTICO INTERATIVO. ALÉM DISSO, É POSSÍVEL LER OS RESULTADOS COM UM DETETOR COMERCIAL.

Sergi Morais, Luis A. Tortajada-Genaro  
e Ángel Maquieira

Departamento de Química

Centro de Reconhecimento Molecular  
e Desenvolvimento Tecnológico (IDM)

Universidade Politécnica de Valência

Imagens cedidas pelos autores

O controlo das doenças de animais de produção é um dos objetivos prioritários da sanidade animal. Para isso, são seguidos uma série de procedimentos veterinários com o objetivo de permitir um maior

bem-estar animal e uma segurança alimentar, controlando e evitando doenças que afetem os alimentos e se transmitam às pessoas. A fim de maximizar a produtividade das explorações, é necessária a implementação de programas sanitários eficazes que controlem, por exemplo, o aparecimento de surtos epidémicos causados por agentes infecciosos. Estes programas sanitários devem contemplar um acompanhamento das patologias presentes que permitam estabelecer protocolos adequados. A maior parte das infeções afetam a produtividade, diminuindo taxas reprodutivas, rendimento leiteiro e índices de transformação. Por isso, dispor de ferramentas diagnósticas adequadas permitirá a aplicação de programas sanitários eficazes que otimizem a produtividade, a sanidade e o bem-estar animal.

A obtenção de técnicas rápidas, fáceis e fiáveis que permitam obter resultados de uma forma rápida, a um custo competitivo, continua a ser um objetivo prioritário para os laboratórios de ensaio e para as indústrias que necessitam de realizar um controlo dos animais e dos alimentos derivados. Quando se trata de infeções, torna-se necessário cada vez mais identificar os microrganismos infecciosos de uma forma específica e conseguir identificações de espécie. Por isso, é preciso desenvolver tecnologias que permitam chegar a este grau de seletividade na análise microbiológica.

Os métodos microbiológicos clássicos são ferramentas de diagnóstico lento, que requerem vários dias, período que pode ser alargado caso a amostra seja positiva e se tenha necessidade de realizar mais exames e testes para a sua confirmação. Por outro lado, a identificação de um serotipo concreto não é possível se não se recorrer a métodos adicionais de caracterização. A necessidade de realizar um controlo dos animais ou dos produtos derivados, de uma forma rápida e eficaz requer técnicas analíticas com uma elevada sensibilidade e seletividade, assim como uma alta capacidade de trabalho a um



Protótipo de leitor de discos.

custo baixo, dado o grande número de amostras a ensaiar. Para isso os métodos moleculares baseados, por exemplo, na reação em cadeia da polimerase, são uma alternativa muito apropriada devido à sua grande sensibilidade e seletividade. Contudo, apresentam limitações como o baixo número de alvos que podem detetar numa só reação sem comprometer a sensibilidade do método e o elevado custo dos sistemas detetores.

### MÉTODOS BASEADOS EM MICROARRAYS

Os métodos baseados em *microarrays* convencionais são uma técnica que apresenta a vantagem de poder detetar milhares de sondas de ADN numa só reação, o que permite num mesmo ensaio detetar uma multitude de microrganismos com uma elevada sensibilidade e seletividade. Um *microarray* consiste numa matriz bidimensional de moléculas (geralmente bioreceptoras) ordenadas sobre um substrato sólido, em posições conhecidas. Normalmente as superfícies utilizadas são planas e uniformes de modo que permitem a ancoragem, através de impressão, de biomoléculas (ADN, anticorpos, proteínas, carboidratos, etc.) especialmente dispostas. Trata-se de um sistema de análise massiva que permite determinar numa só experiência milhares de diferentes substâncias numa mesma amostra. A deteção e quantificação são realizadas através de fluorescência ou colometria, e em menor medida, por espectrometria de massas, eletroquímica, interferometria, etc.

Atualmente, o vidro é o suporte convencional sobre o qual se fabricam *microarrays*, devido à sua baixa fluorescência de fundo, transparência, resistência térmica e à variedade de vias de imobilização química que apresenta. Contudo, há materiais poliméricos sintéticos que oferecem propriedades mecânicas e químicas atrativas, e são mais baratos, dado o seu fabrico ser mais simples e flexível.

### MATERIAIS PROCEDENTES DA INDÚSTRIA ELETRÓNICA

Uma variante prometedora é o uso de materiais procedentes da indústria eletrónica, como os discos compactos *blu-ray*, especialmente se se utiliza o leitor/gravador de discos como detetor. Assim, para que um desenvolvimento analítico completo usando disco seja prático, é necessário introduzir um sistema integrado de deteção da informação contida nos discos que, simultaneamente, poderá contar com uma série de vantagens em termos de efetividade, preço e portabilidade. Os sistemas sensores baseados na tecnologia de disco compacto consistem num sistema de análise de micromatrizes que integra o reconhecimento molecular na superfície de um disco compacto *standard*. Neste sentido,

## AS VANTAGENS DO DIAGNÓSTICO ATRAVÉS DE *BLU-RAY*

- 1 Grande superfície analítica (~90 cm<sup>2</sup>), na qual pode depositar milhares de sondas de ADN.
- 2 Fabrico a grande escala de produtos de alta qualidade a muito baixo preço.
- 3 Possibilidade de integrar tanto informação numérica como bioquímica, identificando cada ponto de cada matriz e armazenando os resultados do estudo na mesma plataforma física na qual se desenvolve a análise.
- 4 Uso do leitor/gravador de discos compactos como detetor químico, o qual, de igual modo aos dos discos compactos, é comercializado a baixo preço, destacando a sua ubiquidade, robustez de funcionamento, facilidade de utilização, portabilidade, capacidade de trabalho e de operacionalidade *in situ*.

Estas características fazem da tecnologia de disco compacto um sistema analítico muito interessante para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico veterinário que permitam a identificação singular de microrganismos causadores de doenças, permitindo assim um diagnóstico mais rápido, preciso, barato e seguro, e portanto, uma maior produtividade, sanidade e bem-estar animal.

*A TECNOLOGIA DE DISCO COMPACTO TEM SIDO UTILIZADA SATISFAZIDAMENTE PARA O DESENVOLVIMENTO DE ENSAIOS MULTIPLEX EM FORMATO DE MICROMATRIZ PARA A DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES, ALERGÉNIOS ALIMENTARES E, RECENTEMENTE, PARA A DETEÇÃO SIMULTÂNEA DE TOXINAS E IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES PATOGENICOS COMO SALMONELLA SPP. E CRONOBACTER SPP. EM AMOSTRAS DE LEITE.*

um disco compacto *blu-ray* tem possibilidades excepcionais de se assumir como um suporte analítico interativo. Além disso, é possível ler os resultados com um detetor comercial.

### A TECNOLOGIA DO DISCO COMPACTO

A estrutura de um disco compacto consiste num substrato de policarbonato com sulcos micrométricos, metalizado com uma película refletora de alumínio (40-100 nanómetros de espessura). A natureza química do substrato permite a ancoragem direta ou

ESTA TÉCNICA PERMITE INCORPORAR UMA VARIEDADE DE SONDAS NO MESMO SUPORTE, PROPORCIONANDO UM GRANDE VOLUME DE INFORMAÇÃO DE GRANDE RELEVÂNCIA PARA OS ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E DE CARACTERIZAÇÃO, COM UMA ALTA CAPACIDADE DE TRABALHO, UTILIZANDO DETETORES BARATOS NA SUA AQUISIÇÃO E MANUTENÇÃO, E QUE PODEM SER UTILIZADOS FORA DO LABORATÓRIO E POR PESSOAS NÃO ESPECIALIZADAS.



Disco para analisar oito amostras em simultâneo.

indireta de recetores moleculares (sondas de ADN, proteínas, cabohidratos, etc.), com uma alta densidade de imobilização (100 analitos/mm<sup>2</sup>). Por outro lado, o leitor de discos óticos comerciais é um dispositivo eletrónico de consumo muito sofisticado, com uma elevada resolução ótica (420 nm), o que permite desenvolver ensaios de alta densidade. Por sua vez, o leitor é fabricado em larga escala, o que explica o baixo custo deste tipo de equipamentos (oscila entre 100 e 300 euros).

A utilização destes novos sistemas sensores, baseados na tecnologia *blu-ray*, tem importantes vantagens na realização de bioensaios: a sua capacidade de trabalho, miniaturização, portabilidade e facilidade de operações, com um custo muito competitivo. Por outro lado, esta técnica permite incorporar uma variedade de sondas no mesmo suporte, proporcionando um grande volume de informação de grande relevância para os estudos epidemiológicos e de caracterização, com uma alta capacidade de trabalho, utilizando detetores baratos na sua aquisição e manutenção, e que podem ser utilizados fora do laboratório e por pessoas não especializadas. Estas características são especialmente importantes quando se pretende a caracterização microbiana, deteção de agentes patogénicos e utilização *in situ*.

A tecnologia de disco compacto tem sido utilizada satisfatoriamente para o desenvolvimento de ensaios multiplex em formato de micromatriz<sup>1</sup> para a determinação de biomarcadores<sup>2</sup>, alergénios alimentares<sup>3</sup> e, recentemente, para a deteção simultânea de toxinas e identificação de agentes patogénicos como *Salmonella* spp. e *Cronobacter* spp. em amostras de leite<sup>4</sup>. Assim, esta estratégia é muito adequada para desenhar ensaios de alta densidade para o diagnóstico veterinário, dadas as vantagens que apresentam este tipo de suportes. ●

## BIBLIOGRAFIA

1. Morais S, Tortajada-Genaro LA, Arandis-Chover T, Puchades R, Maquieira A. Anal. Chem. 2009, 81, 5646-5654.
2. Morais S, Tamarit-López J, Carrascosa J, Puchades R, Maquieira A. Anal. Bioanal. Chem. 2008, 391, 2837-2844.
3. Tortajada-Genaro, LA, Santiago\_Felipe S, Morais S, Gabaldón JA, Puchades R, Maquieira A. J. Agric. Food Chem. 2012, 60, 36-43.
4. Arandis-Chover T, Morais S, González-Martínez MA, Puchades R, Maquieira A. Biosens. Bioelectron. 2014, 51, 109-114.