

Inovações de processos aplicadas ao sistema agroindustrial

Tafael Lucas Pereira (Universidade Tecnológica Federal do Paraná) tafadluca@hotmail.com
Juliana Vitoria Messias Bittencourt (Universidade Tecnológica Federal do Paraná) julianavitoria@utfpr.edu.br

Resumo:

O objetivo do trabalho é abordar os principais programas de gestão da qualidade agroindustrial e paralelamente o uso de diagnóstico molecular via PCR como método de inovação no controle de qualidade. A implantação de ferramentas de qualidade é uma alternativa no ciclo de produção agroindustrial, no entanto, existem dificuldades de seleção dos pontos de controle para determinados perigos biológicos, onde há a impossibilidade de controlar micro-organismos, especialmente aqueles que causam problemas clínicos e danos à saúde humana. O controle rígido evita a contaminação ou proliferação microbiana favorecendo o aumento da vida útil do produto. O processo produtivo das empresas agroindustriais onde sua matéria-prima geralmente é in natura, deve ocorrer de forma rápida e segura. O desenvolvimento da amplificação do DNA pela Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) trouxe mais rapidez e precisão, com resultados sendo obtidos em torno de 24 horas. Sendo um dos pontos de maiores interesses, pois quanto mais rápido identificarem um agente biológico, mais rápida será estudada as ações corretivas para minimização do problema, além da biossegurança quando o micro-organismo em questão é patogênico. O desenvolvimento da PCR introduziu um avanço tecnológico que é relevante para a detecção de micro-organismos, aumentando a sensibilidade, precisão e exatidão do diagnóstico. Isto é de grande valor para a saúde pública, favorecendo o reconhecimento precoce. Tornando uma alternativa viável para as indústrias, pois quanto mais rápida a detecção do micro-organismo, menor é o tempo de contato com outros alimentos, com manipuladores, menor é o tempo de degradação do produto, e mais rápida é tomada a ação corretiva do problema.

Palavras chave: Qualidade agroindustrial, Ferramentas de qualidade, PCR.

Innovations of processes applied to agribusiness system

Abstract

The objective is to address the major management programs agroindustrial quality and the parallel use of molecular diagnostics via PCR as a method of innovation in quality control. The implementation of quality tools is an alternative in the agro-industrial production cycle, however, there are difficulties for the selection of control points for certain biological hazards, where there is the inability to control micro-organisms, especially those causing clinical problems and damage to human health. The drive control prevents contamination or microbial proliferation favoring increased product life. The production process of agribusiness where its raw material is generally in nature, should occur quickly and safely. The development of DNA amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR) brought more quickly and accurately, with results being obtained in around 24 hours. Being one of the major points of interest, because the faster one identify one, faster biological agent will be studied corrective actions to minimize the problem, beyond the biosecurity when the micro-organism is pathogenic in question. The development of PCR introduced a technological breakthrough that is relevant for the detection of micro-organisms, thus increasing the sensitivity, precision and accuracy of diagnosis. This is of great value to public health, favoring early recognition. Becoming a viable alternative for industries, because the faster the detection of micro-organism, the less contact time with other foods, with handlers, the lower the degradation time of the product, and faster is taken corrective action problem.

Key-words: Agroindustrial quality, Quality tools, PCR.

1. Introdução

O conceito amplo da qualidade agroindustrial direciona a concretização do direito mundial ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade aceitável em quantidade suficiente, e tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambientais econômica e socialmente sustentáveis (GALLINA, et al. 2012).

Esta gestão demonstra-se como uma alternativa viável para se adotar nas empresas como mecanismos de controle de processos e melhorá-los constantemente de forma a respeitar e exceder as exigências do consumidor, promovendo, dessa forma, a melhoria organizacional e, por consequência, amplificando sua competitividade (OLIVEIRA, et al. 2011).

Diferentes tipos de patógenos e organismos de deterioração podem ser introduzidos no produto alimentício desde sua obtenção como matéria-prima até consumo do produto final, causando deterioração rápida, e também efeitos nocivos sobre a saúde humana. A cada ano, pelo menos dois bilhões de pessoas no mundo sofrem de alguma intoxicação ou infecção de origem alimentar, convertendo este em um dos maiores problemas de saúde pública no mundo (BEHRENS et al., 2010). Segundo Olivindo, et al (2009) a implantação de ferramentas de controle de qualidade é uma alternativa para assegurar o fator alimento seguro em um ciclo de produção agroindustrial, no entanto, existem dificuldades de seleção dos pontos de controle para estes perigos biológicos, onde há a impossibilidade de controlar a maior parte dos patógenos, especialmente aqueles que causam problemas clínicos em animais e danos à saúde humana.

Assim, métodos baseados em DNA estão surgindo como vias confiáveis, simples e acessíveis, para identificar e classificar micro-organismos (RADEMARKER e DE BRUIJN, 2003). O método referido como REP-PCR, "impressão digital" do genoma, uma técnica baseada na amplificação do DNA (ácido desoxirribonucleico), é considerada extremamente confiável, reprodutível, rápida e altamente discriminatória (VERSALOVIC ET AL. 1994; LOUWS ET AL. 1996).

O desenvolvimento da biologia molecular foi uma das maiores conquistas da ciência biológica do século XX. A descoberta de Polymerase Chain Reaction (PCR) trouxe enormes benefícios e desenvolvimentos científicos, tais como expressões de sequenciamento do genoma, o gene em sistemas recombinantes, o estudo de análises de genética molecular, incluindo a determinação rápida de ambas as paternidades e o diagnóstico de doenças infecciosas (NOVAIS, et al. 2004).

PCR permite a in vitro à síntese de ácidos nucleicos por meio da qual um segmento de DNA que pode ser especificamente replicados de uma maneira semi-conservadora. É geralmente exibe excelentes limites de detecção. Portanto, a PCR pode ser uma alternativa interessante na melhoria do controle de contaminação de patógenos na indústria de alimentos e conseqüentemente, um avanço na segurança alimentar do produto final (SAMULAK, 2013). O objetivo do trabalho é abordar os principais programas de gestão da qualidade agroindustrial e paralelamente o uso de diagnóstico molecular via PCR como método de inovação no controle de qualidade.

2. Referencial teórico

2.1 Qualidade Agroindustrial

Segundo Mafra, et al. (2010) em um mercado globalizado, a concorrência se encontra cada vez mais acirrada, e com clientes mais exigentes, devido a isso as empresas de alimentos estão mais cautelosas com a qualidade sanitária do produto que oferecem ao cliente e que ocasiona em casos extremos, bloqueios às exportações, perdas de clientes, infrações e questões nos processos sanitários.

A qualidade agroindustrial direciona a concretização do direito mundial ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade aceitável em quantidade suficiente, sem que isso represente comprometimento do acesso a outros objetivos indispensáveis e tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde (GALLINA, et al. 2012).

A qualidade está associada a fatores intrínsecos do alimento (composição nutricional), segurança (condições sanitárias e de higiene), serviço (relação cliente e fornecedor), e preço. As condições sanitárias e de higiene têm sido cada vez mais estudadas e discutidas como fatores de segurança alimentar, uma vez que doenças transmitidas por alimentos estão entre as principais causas de morte em alguns países (SANTOS et al 2012).

De acordo com Santos e Barros (2012), a ocorrência e o crescimento de micro-organismos no meio ambiente são comuns e as reações químicas e enzimáticas desfecham a decomposição dos alimentos. Essa deterioração causa variação na aparência, sabor, textura, cor, consistência e qualidade nutricional do produto. Afirmando ainda que certos grupos de micro-organismos são patogênicos para o ser humano, sendo causadores de infecções ou toxinfecções.

A garantia da saúde dos consumidores vem a partir do momento em que é obrigado a eliminar os micro-organismos patogênicos e não obrigatoriamente todos os micro-organismos assíduos nesses produtos, sendo assim, as análises microbiológicas de alimentos baseiam-se na determinação qualitativa e quantitativa de grupos de micro-organismos denominados “indicadores” (GARCIA, et al. 2012).

2.2 Ferramentas de qualidade agroindustrial

As ferramentas da qualidade são os elementos que permitem operacionalizar efetivamente os preceitos da gestão da qualidade. Elas são os instrumentos utilizados para o desenvolvimento, medição, análise e melhoria da qualidade nas organizações. Assim, permitem a identificação e solução de problemas organizacionais (OLIVEIRA, et al 2011).

As ferramentas da qualidade representam importantes e necessários instrumentos para que os SGQs (Sistema de gestão da qualidade) obtenham máxima eficiência e eficácia (BAMFORD; GREATBANKS, 2005; ALSALEH, 2007).

A expressão "Boas Práticas de Fabricação" (BPF) é utilizada para indicar um conjunto de ações aplicadas à produção de alimentos, medicamentos e instrumentos médicos, com a finalidade de assegurar a qualidade dos produtos e prevenir riscos à saúde do consumidor (TAVOLARO, et al. 2006).

Procedimento Operacional Padronizado (POP) é o procedimento escrito de forma objetiva que estabelece instruções sequenciais para a realização de operações rotineiras e específicas na produção, armazenamento e transporte de alimentos. Este procedimento pode apresentar outras nomenclaturas. (PPHO- Procedimento padronizado de Higiene Operacional), desde que obedeça ao conteúdo estabelecido na legislação (BRASIL, 2002). O objetivo do programa é evitar a contaminação direta ou cruzada ou a adulteração dos produtos por meio das superfícies dos equipamentos, utensílios, instrumentos de processo e manipuladores de alimentos.

O sistema APPCC (análise de perigos e pontos críticos de controle) tem sido útil para avaliar os riscos de perigos e estabelecer mecanismos ou medidas de controle visando reduzir os riscos de contaminação física, química ou microbiológica (HEESCHEN et al. 1997). O conceito de APPCC abrange todos os tipos de perigos potenciais na produção de alimentos (perigos biológicos, químicos e físicos) e se eles ocorrem naturalmente, que o ambiente contribui, ou são gerados por um erro no processo. Os perigos microbiológicos são os mais graves do ponto de vista da saúde pública (GONZÁLES, et al. 2004).

2.3 Micro-organismos envolvidos na qualidade do produto

De acordo com Silva, et al. 2010 os micro-organismos contaminantes em indústrias de alimentos podem ter várias origens, incluindo matérias-primas, operários, equipamentos e utensílios. Se estes micro-organismos não são eliminados durante o processamento, eles podem crescer durante a produção, durante a distribuição ou mesmo na própria comercialização de alimentos, reduzindo a qualidade do produto. Estes micro-organismos tem um grande impacto socioeconômico devido à doença, despesas médicas, perda de produtividade, invalidez, morte, litígios e recorda devido à contaminação produtos (LÓPEZ, et al. 2012).

Nunes, et al. (2010) afirmam que a inspeção rígida dos pontos de controle evitam a contaminação ou proliferação microbiana, favorecendo o aumento da vida útil do produto, uma vez que tais micro-organismos, em concentrações elevadas, prejudicam a saúde e alteram as características sensoriais do produto. Algumas bactérias patogênicas são capazes de aderir a superfícies de contato onde aconteceu a manipulação dos alimentos e permanecer viáveis mesmo após a limpeza e desinfecção (JERÔNIMO, et al. 2012).

No que diz respeito aos produtos alimentícios, sua segurança e qualidade podem ser estimados com base em contagens de microrganismos indicadores, incluindo mesófilos aeróbios, coliformes totais e *Escherichia coli*. Barros et al. 2007 demonstra em seu estudo que altos níveis de mesófilos aeróbios são geralmente correlacionados com baixa qualidade e reduzida vida de prateleira.

Os coliformes totais e *Escherichia coli*. permitem verificar problemas de higiene sanitários relacionados e contaminação de origem fecal. As bactérias que constituem o grupo de espécies da *Escherichia coli* são, comumente, encontradas no intestino de homens e animais. Embora possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, constitui o melhor indicador de contaminação de origem intestinal conhecido até o momento (PINTO, et al. 2009).

Uma das principais doenças transmitidas por alimentos que afetam a população humana tanto em países industrializados e em desenvolvimento é a salmonelose (CALDERON et al, 2012). Esta infecção gastrointestinal é reconhecida e estudada, devido ao aumento de incidências e da gravidade dos sintomas clínicos produzidos no homem, e animais domésticos. Ela é causada pela bactéria *Salmonella spp.* sua genética permite que a bactéria tenha a habilidade de se adaptar a vários ambientes, como no transmissor ou no mamífero hospedeiro (SANCHEZ et al., 2011).

Staphylococcus aureus é uma das bactérias mais comuns isoladas a partir de superfícies de contato em plantas de processamento de alimentos, onde se pode aderir às superfícies de contato e formar biofilmes. Doenças de origem alimentar causada por *S. aureus* é tipicamente intoxicações devido à ingestão de enterotoxinas pré-formadas nos alimentos por cepas enterotoxigênicas (JERÔNIMO, et al. 2012).

Segundo Valones, et al. (2009) os métodos de detecção molecular é um poderoso meio de identificação desses patógenos.

2.4 Diagnósticos moleculares como inovações de processos

O processo produtivo das empresas agroindustriais onde sua matéria-prima geralmente é in natura, deve ocorrer de forma rápida e segura. A análise microbiológica convencional é demorada, devido à quantidade de etapas, além de trabalhosa devido o número de vidrarias e reagentes necessários para sua execução (VON RUCKTER, 2006). Os métodos analíticos para pesquisa de certos micro-organismos em produtos alimentícios definem como sendo o diagnóstico bacteriológico com isolamento e identificação do agente a técnica oficial recomendada (BRASIL, 1995), porém muitas pesquisas têm sido realizadas visando a introduzir metodologias rápidas e sensíveis para enfrentarem a agilidade que o mercado atual exige.

A busca da metodologia ideal para o diagnóstico das doenças patogênicas nos animais, nos alimentos e no homem começou no momento da sua descrição como agente patogênico e permanece até hoje. Várias alternativas têm sido pesquisadas como imunoenaios, imunodifusão, aglutinação em látex, e hibridização do DNA (BLACKBURN, 1993).

2.4.1 Imunoensaio

O imunoensaio é um método de diagnóstico que utiliza a capacidade de um anticorpo ligar-se química e especificamente a uma única molécula ou um grupo muito limitado de moléculas, que é denominada de antígeno. Os métodos baseados nos imunoenaios são métodos normalmente utilizados para a detecção / quantificação de patógenos em alimentos, doenças provocadas por vírus e bactérias e poluentes na água destinada ao consumo (MOREIRA, et al. 2009).

Num imunoensaio, a ligação antígeno-anticorpo, altamente específica e sensível, Neste sentido, o anticorpo ou antígeno do vírus, bactéria, etc., é imobilizado e o antígeno ou o anticorpo a ser detectado é imerso ou entra em contato e uma ligação não-covalente ocorre. Para identificação e quantificação da substância em análise (analito), normalmente é associado um marcador fosforescente, luminescente, radioativo, enzimático, molecular e nano particular, que se liga a um substrato e geralmente uma mudança físico-química, observada com alteração de cor (CUNNINGHAM, 2008).

2.4.2 Polymerase Chain Reaction (PCR)

A técnica permite a síntese de fragmentos de DNA específicos que utilizam uma enzima DNA-polimerase, que toma parte na replicação do material genético celular. Esta enzima sintetiza uma sequência complementar de DNA, como um pequeno fragmento (iniciador) é ligado a uma das cadeias de DNA em local específico escolhido para iniciar a síntese. Primers limitar a sequência a ser replicada e o resultado é a amplificação de uma sequência de DNA específica com bilhões de cópias (NOVAIS, et al. 2004).

Com a descoberta da molécula do ácido desoxirribonucleico (DNA), por (Pinho 2006) o estudo dos tecidos e das células passa da observação morfológica, macroscópica ou microscópica, para a molecular. A biologia molecular, além de sua relevância clínica e epidemiológica, representa um campo em potencial para a pesquisa na área agroindustrial. Dentre as vantagens de se utilizar a PCR como alternativa à microbiologia convencional

apontada por Maldonado (2008) e Von Ruckter (2006), está à simplicidade da técnica, menor custo da análise, maior sensibilidade, especificidade e rapidez.

O desenvolvimento da amplificação do DNA pela Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) trouxe mais rapidez e precisão, com resultados sendo obtidos em torno de 24 horas (BAILEY e COX, 1996; CUNHA, et al. 2006). Sendo um dos pontos de maiores interesses, pois quanto mais rápido identificarem uma um agente patogênico, mais rápida será estudada as ações corretivas para minimização do problema. Além disso, Oyarzábal (1996) observou que a PCR foi à técnica de maior aceitação entre as demais técnicas moleculares desenvolvidas recentemente, podendo ser empregada como ferramenta de diagnóstico em laboratórios.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) vem sendo utilizada para encurtar o tempo entre a coleta de amostra e a obtenção de resultados, o que garante um aumento na garantia da qualidade do processo produtivo (FORSYTHE, 2005).

2.4.3 Polymerase Chain Reaction (PCR) em tempo real

A PCR em tempo real (RQ-PCR) é uma metodologia que permite a quantificação dos produtos de amplificação gênica em todas as fases de uma reação de PCR (GINZINGER, 2002). O PCR em tempo real requer uma plataforma de instrumentação que contem um termociclador acoplado a um sistema ótico para excitação de fluorescência e captura da emissão (NOVAIS, 2004). Várias tecnologias de PCR em tempo real estão disponíveis no mercado. Os dois sistemas mais usados são o SYBR Green e o TaqMan (KAEDA, 2002).

De acordo com Almeida e Saddi (2007) A PCR em tempo real apresenta diversas aplicações, incluindo estudos da expressão de mRNA, medida do número de cópias de DNAs gnômicos ou virais e de transgenes e ensaios de discriminação alélica. Os resultados da PCR em tempo real são expressos na forma de razão entre a amplificação de um gene de interesse e um controle endógeno. (KAEDA, 2002) Frequentemente, na monitoração da DRM os genes ABL ou G6PD (glicose 6-fosfato-desidrogenase) são preferencialmente usados como controles endógenos na quantificação do BCR-ABL.

A PCR quantitativa em tempo real traduz de forma legítima os níveis da doença residual mínima, sendo atualmente o "padrão ouro" para seu monitoramento. O método fornece informações a respeito do número e cinética das células tumorais residuais.

A sensibilidade depende da integridade do o mRNA utilizado na análise e é determinada por meio de experimentos de diluição feitos com a amostra do próprio paciente ou um padrão de referência, ou seja, uma linhagem celular ou plasmídeos contendo a sequência gênica de interesse (VAN DER VELDEN, 2003). Fatores que interferem com a integridade do mRNA, como atraso na extração e no transporte de amostras, podem interferir também com os resultados da PCR em tempo real.

2.4.4 BAX system

O sistema BAX para a detecção de microrganismos em alimentos é um método automatizado do PCR que é amplamente utilizado por laboratórios de controle de qualidade de alimentos no Brasil. O sistema BAX[®] combina velocidade com fácil manuseio e simples. Todos os reagentes são fornecidos em um único comprimido e pré-embalado em tubos de PCR, eliminando etapas de transferência de vários reagentes diminuindo erros de análise. Além disso, este método não necessita de electroforese em gel ou fotodocumentado. A automatização deste método é necessária para facilitar a análise de um grande número de amostras de alimentos (FRAUSTO, et al. 2013).

A BAX[®] *Salmonella* teste é um método automatizado que usa a tecnologia de PCR para a detecção de *Salmonella* em alimentos e tem status de aprovação AOAC Research Institute (RI) para *Salmonella* detecção em carne, leite, aves e classes de alimentos (MROZINSKI, 1998).

De acordo com Franchin et al. (2006) com os avanços tecnológicos nos métodos de detecção, os laboratórios da indústria de alimentos estão cada vez mais confrontados com a tarefa de validar os procedimentos analíticos para detecção de patógenos, por vezes, já testado e validado por organismos internacionais, como a Organização Internacional de Normalização (ISO), AOAC, British Standards Instituto (BSI).

2.5 Aplicações de diagnósticos moleculares na indústria alimentícia

Diversas são as técnicas moleculares aplicáveis na indústria de alimentos, dentre as quais se podem citar: PCR, Multiplex PCR (mPCR), Real Time PCR (qPCR), Bax[®] System Real Time PCR Assay (para diversos micro-organismos, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* (coli, jejuni e lari), *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio cholerae*), Ribotipagem (usado para tipificação de bactérias, existe disponível o Riboprinter[®] System), Reverse Transcriptase PCR (GANDRA et al., 2008).

Soares et al (2010) isolou e identificou o micro-organismo *E. faecium* e *E. faecalis*, provenientes de amostras de queijos artesanais por meio do PCR. O isolamento de *Y. enterocolitica* de fezes, língua, tonsilas ou carne de suínos tem sido relatado em diversos países, como Japão (FUKUSHIMA et al., 1997), Estados Unidos, Bélgica e Suécia (NEUBAUER et al., 2000).

Alguns sorotipos patogênicos para o ser humano têm sido isolados com frequência em suínos, sugerindo ser ele importante reservatório da enterobactéria (ASPLUND et al., 1990).

De acordo com Rodrigues (2013) o PCR revolucionou as análises moleculares, mas ainda na legislação vigente brasileira os métodos moleculares são indicados quando os testes convencionais oficiais dos sistemas de inspeção apresentam resultados duvidosos.

Instruções normativas já regulamentam ensaios como Bax[®] System, para a detecção de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* (BRASIL, 2004; BRASIL, 2005), fato que pode impulsionar seu uso nos próximos anos devido às vantagens que apresentam para as empresas do setor (RODRIGUES, 2013)

Muitas vezes a falta do uso de diagnóstico molecular pode estar associada à falta de conhecimento dos padrões internacionais, visto que nestes as técnicas moleculares é indicada tornando-se uma prática comum sendo, portanto, aplicável na indústria.

3. Metodologia

Para a pesquisa, foi utilizada a primeira etapa do instrumento Knowledge Development Process-Constructivist (Proknow-C), analisado e estruturado por Ensslin et al. (2010). Esta etapa é a seleção de um portfólio de artigos e trabalhos acadêmicos sobre o tema da pesquisa. No Caso do estudo da Qualidade na agroindústria e Diagnostico molecular PCR.

4. Conclusão

Esse estudo buscou trazer informações relevantes para nortear pesquisas no que se referem ao uso do diagnóstico molecular (PCR) aplicado ao meio produtivo do setor agroindustrial. De acordo com os preceitos da qualidade agroindustrial, onde o fator alimento seguro, onde a segurança da saúde do consumidor é o foco de toda gestão. Assim as ferramentas de gestão de qualidade agroindustrial como as Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são utilizadas nas instituições para minimizar e evitar as possíveis contaminações do produto dentro do processo produtivo.

Conclui-se que os métodos associados à biologia molecular têm feito um excelente progresso, com utilidade clara em diversos campos da ciência médica. A descoberta de Polymerase Chain Reaction (PCR) introduziu um avanço tecnológico que é relevante para a detecção de micro-organismos, aumentando a sensibilidade, precisão e exatidão do diagnóstico. Em microbiologia, PCR permite observações imediatas importantes para testes de diagnóstico na detecção de micro-organismos. Isto é de grande valor para a saúde pública, favorecendo o reconhecimento precoce.

Com a PCR, as empresas serão favorecidas por meio do aumento da credibilidade, rapidez na emissão de laudos e na liberação de lotes e principalmente por estar oferecendo alimentos submetidos a uma técnica que assegura um alimento seguro, pois quanto mais rápida a detecção do micro-organismo, menor é o tempo de contato com outros alimentos, com manipuladores, menor é o tempo de degradação do produto, e mais rápida é tomada a ação corretiva do problema.

Referências

- ALMEIDA, P. S. R.; SADDI, V. A.** Monitoramento de doença residual mínima em leucemia mielóide crônica por PCR em tempo real. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29(4):382-386.
- ALSALEH, N. A.** Application of quality tools by the Saudi food industry. *The TQM Magazine*, v. 19, n. 2, p. 150-161, 2007.
- ASPLUND, K.; TUOVINEN, V.; VEIJALAINEN, P. et al.** The prevalence of *Yersinia enterocolitica* 0:3 in finnish pigs and pork. *Acta Vet. Scand.*, v.31, p.39-43, 1990.
- BAILEY, J.S., COX, N.A.** Detecting specific Salmonella strains. *World Poultry, Special for Salmonella*, Netherlands, May, p.18-19, 1996.
- BAMFORD, D. R.; GREATBANKS, R. W.** The use of quality management tools and techniques: a study of application in everyday situations. *International Journal of Quality & Reliability Management*, v. 22, n. 4, p. 376-392, 2005.
- BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; MONTEIRO, A. A.; BELOTI, V.** Identificação dos principais pontos de contaminação por microrganismos indicadores de higiene em plantas de processamento de carne bovina. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 27(4): 856-862, out.-dez. 2007.
- BLACKBURN, C.W.** A review, rapid and alternative methods for the detection of Salmonellas in foods. *Journal of Applied Bacteriology*, Oxford, v.3, n.75, p.199-214, 1993.
- BRASIL**, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria da Defesa Agropecuária. Método Analítico de Carcaças de Aves e Pesquisa de Salmonella. *Diário Oficial da União*, Brasília, Portaria nº.08 de 23/01/1995, p.1182-1184, em 27/01/95.
- BRASIL**. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução – RDC no 275 de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos

Produtores/Industrializadores de alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.

BRASIL. Instrução Normativa nº 41 de 7 de junho de 2004 – MAPA. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=INM&numeroAto=00000041&seqAto=000&valorAno=2004&orgao=SDA/MAA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>>. Acesso em: 20 jan. 2012.

BRASIL. Instrução Normativa nº 40 de 12 de dezembro de 2005 – MAPA. Disponível em:<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=15177>>. Acesso em: 12 dez. 2012c.

CALDERON, R. GABRIEL; L. DELGADO, M.; ANDRÉS, P.; URBANO, C. FARLEY, M.; COY, C.; ANDRÉS, F. Resistência de la Salmonela a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento. *Ces. Med. Vet. Zootec.*[online]. 2012, vol.7, n.1, pp. 116-129.

CUNHA, M. L. R. S.; PERESI, E.; CALSOLARI, R. A. O.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P. A. Detecção de genes de enterotoxinas de estafilococos de coagulase-negativa isolada a partir de alimentos. *Rev. Braz. J. Microbiol.* vol.37 no.1 São Paulo Jan. / março 2006.

ENSSLIN, L., ENSSLIN, S. R., & PACHECO, G. C. Um estudo sobre segurança em estádios de futebol baseado na análise da literatura internacional. *Perspectivas em Ciência da Informação*, v. 17, n. 1, pag. 71-91, 2010.

FRANCHIN, P. R.; PAULO J. OGLIARI; DALTON ANDRADE F.; MAURA CHIAPINOTO; GIOVANA LEMOS; MARINA REBELATTO ; IVAIR G. DA SILVA ; CLEIDE BATISTA RV. Comparação do BAX[®] System com um método MSRV in-house para a detecção de *Salmonella* em carcaças de frango e carne de porco. *Braz. J. Microbiol.* vol.37 no.4 São Paulo outubro / Dec. 2006.

FRAUSTO H. S. E. G.; ALVES, J.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Evaluation of the BAX[®] system for the detection of *Salmonella* spp. in naturally contaminated chicken meat. *Food Sci. Technol* (Campinas) vol.33 no.3 Campinas July/Sept. 2013 Epub July 26, 2013.

FORSYTHE, S.J. Microbiologia da Segurança Alimentar. Porto Alegre: Artmed, 2005, 424p.

FUKUSHIMA, H.; HOSHIMA, K.; ITOGAWA, U. et al. Introduction into Japan of pathogenic *Yersinia* through imported pork beef and fuwl. *Int. J. Food Microbiol.*, v.35, p.205-212, 1997.

GANDRA, E. A. et al. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. *Acta Scientiarum Technology*, v. 30, n. 1, p. 109-118, 2008.

GALLINA, L. S.; TEO, C. R. P. A.; MUNARO, P. S.; OLIVEIRA, V. S. H. Representações sobre segurança alimentar e nutricional nos discursos de um Conselho de Alimentação Escolar. *Saúde soc.* [online]. 2012, vol.21, n.1, pp. 89-102.

GARCIA, R. C. G.; SANTOS, D. C.; EMANUEL OLIVEIRA, E. N. A.; JOSINO, S. A.; MORI, E. Qualidade microbiológica de sucos in natura comercializados na cidade de Juazeiro do norte-ce. v. 06, n. 01: p. 665-670, 2012.

GINZINGER, D. G. Gene quantification using real-time quantitative PCR: Na emerging technology hits the mainstream. *Experimental Hematology*. 2002;30:503-12.

GONZÁLEZ, O. E.; VÁZQUEZ, C. L.; VALDÉS, M. F.; E MS. FERNÁNDEZ, B. C. Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle. Sua relação com a segurança alimentar. *Epidemiol Rev Cubana Higiene* v.42 n.2 Havana maio-agosto 2004.

HEESCHEN, W.; REICHMUTH, J.; SUHREN, G. Quality milk production - potential hazards, critical control points and the application of risk analysis. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 36., 1997, s.l. Proceedings... s.l., 1997. v.36, p.4-18.

JERÔNIMO, H. M. A.; QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, A. C. V.; BARBOSA, I. M.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L. Adhesion and biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food processing plants as affected by growth medium, surface type and incubation temperature. *Braz. J. Pharm. Sci.* [online]. 2012, vol.48, n.4, pp. 737-745.

KAEDA, J.; CHASE, A.; GOLDMAN, J. M. Cytogenetic and molecular monitoring of residual disease in chronic myeloid leukaemia. *Acta Haematologica*. 2002;107:64-75.

- LOPEZ, M. E.; GARCÍA, H. S.; A. MALO, A. L.** Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International* 45 (2012).
- MAFRA, S. C. T.; SILVA, V. E.; CONCEIÇÃO, G. S.; MAFRA, C. L.; FREITAS, J. P. F.; FONTES, M. B.** Análise microbiológica do ambiente e dos uniformes de trabalhadores de lavanderia de indústria de produtos de origem animal. *Produção*. Online. v. 10, n. 2, jun. ISSN 1676 - 1901 2010.
- MALDONADO, A. G.** Ocorrência de *Salmonella spp.* Em amostrade frango obtidas em uma feira e um mercado municipal da zona oeste da cidade de São Paulo: Uma análise critica entre técnica convencional em meios de cultura e reação em cadeia pela polimerase-PCR. 2008. 75f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- MOREIRA, C. S.; LIMA, A. M. N.; NEFF, H.; NETO, A. G. B.; LOUREIRO, F. C. C. L.; FILHO, C. A. S.; LIMA JUNIOR, L. H. C. L.** Biosensores: Tecnologia e Aplicações. Trabalho de pesquisa da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. 2009.
- MROZINSKI P. M.; BETTS, R. P.; COATES, S.** Desempenho testado certificação método de BAX para triagem de *Salmonella*.: um estudo de caso *J. AOAC Int .*, 81: 1147-1154., 1998.
- NOVAIS, C. M.; PIRES, A.; SILVA, M. F. F.** PCR em Tempo real. *Revista de Biotecnologia e Ciência*. (2004) Des. ed. 33.
- NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES M.** PCR em Tempo Real. *Rev. Biotecnol. Ciên. Desenv.* 2004;33.
- NEUBAUER, H.; HENSEL, A.; ALEKSIC, S. et al.** Evaluation of na adhesion gene of *Yersinia (yadA)* PCR-specific for identifications of enteropathogenic *Yersinia enterocolitica*. *Int. J. Food Microbiol.*, v.57, p.225-227, 2000.
- NUNES, E. E.; VILAS BOAS, E. V. B.; XISTO, A. L. R. P.; LEME, S. C.; BOTELHO, M. C.** Avaliação de diferentes sanificantes na qualidade Microbiológica de mandioquinha-salsa Minimamente processada. *Ciência. agrotecnologia.*, Lavras, v. 34, n. 4, p. 990-994, jul./ago., 2010.
- OLIVEIRA, J. A.; NADAE, J.; OLIVEIRA, O. J.; SALGADO, M. H.** Um estudo sobre a utilização de sistemas, programas e ferramentas da qualidade em empresas do interior de São Paulo. *Prod.* vol.21 no.4 São Paulo 2011 Epub Sep 16, 2011.
- OLIVINDO, C. S.; CHAPAVAL, L; VILLARROEL, A. B. S.; ALVES, F. S. F.; SOUSA, F. G. C.; FERNANDES, F. E. P.** Detecção de *Staphylococcus aureus* utilizando a técnica de REP-PCR no monitoramento da qualidade do leite de cabra. *R. Bras. Zootec.* vol.38 no.7 Viçosa July 2009.
- OYARZÁBAL, O.A.** Técnicas moleculares para o diagnóstico de patógenos aviários. *Avicultura Profissional*, v.14, n.16, p.19-21, 1996.
- PINHO, M.S. L.** Pesquisa em biologia molecular: como fazer? *Revista Braileira des Coloproct.* 2006;26:331-6.
- PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M.; PRENTICE, C.; SAINZ, R. L.** Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sobre diferentes condições de refrigeração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Vol. 25 n°1 Campinas Jan/Mar. 2009.
- RODRIGUES, M. X.**, Proposta de inovação tecnológica no controle de qualidade da produção agroindustrial. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Produção, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa. 2013.
- SAMULAK, R. L.** Monitoramento via PCR de *Salmonella spp.* No processamento de carne suína. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, programa de pós-graduação em engenharia de produção. Dissertação de Mestrado em engenharia de produção. 2013. Ponta Grossa;
- SANTOS, D, P.; BARROS, B. C. V.** Perfil higiênico sanitário de polpas de frutas produzidas em comunidade rural e oferecidas à alimentação escolar. / v. 06, n. 02: p. 747-756, 2012.
- SANTOS, L. L.; AKUTSU, R. C. C. A.; BOTELHO, R. B. A.; ZANDONADI, R. P.** Cumprimento de food service com ISO 14001 e ISO 22000. *Revista Nutrição*. vol.25 no.3 Campinas May / June 2012.
- SANCHEZ, M. V.; ABU-EL-HAJA, M. A.; GÓMEZ-DUARTE, O. G.** *Salmonella* infecções: uma atualização sobre a epidemiologia, gestão e prevenção. *Medicina de Viagem e Doenças Infecciosas*. 2011; 9 (6) :1-15.

SILVA, I. D.; CARELI, R. T.; LIMA, J. C.; ANDRADE, N. J. Effectiveness of cleaning and sanitizing procedures in controlling the adherence of *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Enteritidis*, and *Staphylococcus aureus* to domestic kitchen surfaces. Ciênc. Tecnol. Aliment. [online]. 2010, vol.30, n.1, pp. 231-236.

SOARES, C. M.; KABUKI, D. Y.; KUAYE, A. Y. Aplicação da PCR na identificação de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* em queijos artesanais. Comunicado técnico. ISSN 0103-5231 Dezembro, 2010 Rio de Janeiro, RJ.

TAVOLARO, P.; OLIVEIRA, C. A. F.; LEFÈVRE, F. Avaliação do conhecimento em práticas de higiene: uma abordagem qualitativa. Revista Interface (Botucatu) vol.10 no.19 Botucatu Jan./June 2006.

VAN DER VELDEN, V. H. J., HOCHHAUS, A.; GAZZANIGA, G.; SZCZEPANSK, T.;

GABERT, J.; VAN DONGEN, J. J. M. Diagnostico molecular. Leukemia. 2003;17:1013-34

VALONES, M. A. A.; GUIMARÃES, R. L.; BRANDÃO, L. A. C.; PAULO ROBERTO ELEUTÉRIO DE SOUZA, P. R. E.; CARVALHO, A. A. T.; CROVELA, S. Princípios e aplicações da reação em cadeia da polimerase em campos de diagnóstico médico: uma revisão. Rev. Braz. J. Microbiol. vol.40 no.1 São Paulo Jan. / março 2009.

VERSALOVICK, J.; SCHNEIDER, M.; De BRUIJN, F.J. et al. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence based PCR (rep-PCR). Methods of Cellular and Molecular Biology, v.5, p.25-40, 1994

VON RUCKERT, D. A. A. Comparação dos métodos microbiológicos convencional, imunoanálise e reação polimerase em cadeia (PCR) no monitoramento de *Salmonella spp.* Em frangos durante o abate. 2006. 70f. Dissertação (mestrado em medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.