

Inovação em métodos analíticos microbiológicos na indústria alimentícia

Marjory Xavier Rodrigues¹
Juliana Vitória Messias Bittencourt²
Eloiza Aparecida Silva Ávila de Matos³
Dálcio Roberto dos Reis⁴

Resumo

Métodos analíticos microbiológicos na indústria de alimentos são essenciais para a liberação de lotes de alimentos seguros. Porém, os métodos oficiais aplicados apresentam desvantagens quando comparados com métodos sofisticados, além disso, existe a demanda por novos métodos rápidos e de confiabilidade. Neste sentido, métodos fundamentados em *Polymerase Chain Reaction* destacam-se como substitutos ou complementares aos métodos convencionais. Assim, o presente artigo possui como objetivo verificar a visão dos gestores de laboratórios microbiológicos quanto à utilização do diagnóstico molecular como auxiliar no controle microbiológico de alimentos. Para verificar a visão dos gestores foi realizada a observação indireta com a aplicação de um questionário semi-estruturado em quatro empresas processadoras de alimentos e duas empresas que terceirizam diagnóstico microbiológico em alimentos, localizadas na região dos Campos Gerais, Paraná. O questionário foi aplicado após a avaliação e pré-teste, os quais permitiram a verificação da estabilidade e confiabilidade. Os resultados apontaram, de modo geral, que a visão dos gestores é positiva, estes destacam os benefícios do emprego de técnicas moleculares, embora

Recebimento: 29/11/2011 - Aceite: 21/12/2011

¹ Mestrando Engenharia de Produção pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. End: Av. Sete de Setembro, 3165 - Rebouças CEP 80230-901 - Curitiba - PR - Brasil. E-mail: marjory.xavier@hotmail.com

² Doutora em Genética Molecular pela University of Reading, Inglaterra, Professora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. E-mail: julianavitoria@utfpr.edu.br

³ Doutora em Educação pela Universidade Metodista de Piracicaba, professora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná E-mail: elomatos@utfpr.edu.br

⁴ Doutor em Gestão Industrial pela Universidade de Aveiro, Portugal. Professor titular da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. E-mail: dalcio@utfpr.edu.br

apenas uma empresa faça uso do diagnóstico molecular. Foi possível observar que para as empresas se voltarem para a inovação em métodos analíticos é necessário que a legislação brasileira vigente se amplie, pois está focada em métodos que podem oferecer dificuldades de execução, enquanto, existe a possibilidade de aplicação de técnicas confiáveis que não somente as moleculares.

Palavras-chave: Diagnóstico molecular; Micro-organismos; Alimentos

Innovation in microbiological analytical methods in food industry

Abstract

Microbiological analytical methods in the food industry are essential for the release of lots of safe food. However, the official methods used have disadvantages when compared with sophisticated methods. In addition, there is a demand for new rapid methods and reliability. In this sense, methods based on Polymerase Chain Reaction stand out as substitutes or complementary to conventional methods. Therefore, this article has aimed to ascertain the views of managers of microbiological laboratories on the use of molecular diagnostics as aid in the microbiological control of food. To check the views of managers were performed the indirect observation with the application the semi-structured questionnaire. Managers of four food processing companies and of two companies that outsource microbiological diagnosis in foods composed the sample. All companies are located in the Campos Gerais, Paraná. The questionnaire was administered after the evaluation and pre-test, which allowed us to verify the stability and reliability. The results showed, in general, that the view of managers is positive. They highlight the benefits of using molecular techniques. Though, only one company uses molecular diagnostics. It was observed that for companies to turn to innovation in analytical methods is necessary to expand the current Brazilian legislation. It is focused on methods that can provide implementation difficulties. While, there is the possibility of application of reliable techniques that not only molecular.

Keywords: Molecular diagnostics; Microorganisms; Food

Introdução

As doenças originadas dos alimentos representam o problema de saúde pública mais difundido no mundo, além de representarem uma importante causa de redução de produtividade econômica (IPARDES, 2011).

Assim, métodos analíticos microbiológicos são imprescindíveis para a verificação da presença de micro-organismos patogênicos em alimentos. Neste sentido, métodos microbiológicos clássicos também chamados convencionais são aplicados, porém tais métodos apresentam desvantagens que podem levar a liberação de lotes de alimentos contaminados devido a amostras falso-negativas (GANDRA et al., 2008; MAZIERO, 2007).

A geração de amostras falso-negativas pode ser ocasionada por condições adversas em que os micro-organismos são submetidos, em tais condições bactérias patogênicas, por exemplo, podem sofrer injúria subletal o que pode inibir a multiplicação nos meios de cultura, pois as células podem ser induzidas a mudar suas características de morfologia vibróide para cócoide, o que caracteriza células viáveis mas não cultiváveis (VNC), porém células lesadas são aptas a se recuperar e apresentar suas propriedades patogênicas e enteropatogênicas (MAZIERO, 2007). O fenômeno VNC já foi observado em *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae* (FORSYTHE, 2002).

Assim, a inovação em métodos microbiológicos qualitativos é requerida a fim de reduzir ou eliminar os inconvenientes dos métodos convencionais. Ressalta-se que o principal objetivo do emprego de tecnologias (conhecimento, método, procedimento, equipamentos, etc.) é a busca de novas soluções técnicas em processos ou produtos (TANG et al., 2009; IPARDES, 2011).

Desse modo, métodos rápidos alternativos estão sendo desenvolvidos e empregados como potenciais substitutos aos métodos clássicos ou como complementares a estes, entre os métodos alternativos destacam-se os métodos fundamentados em técnicas de biologia molecular, sendo a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) a técnica mais explorada (TANG et al., 2009; ANDRADE et al., 2010; FORSYTHE, 2002).

O diagnóstico molecular via PCR representa redução custos, tempo de análise, aumento da confiabilidade e da especificidade e é de fácil aprendizagem, além disso, é capaz de detectar VNC (TEODORO et al., 2006).

Contudo, o presente artigo possui como objetivo verificar a visão dos gestores de laboratórios microbiológicos localizados na região dos Campos Gerais, Paraná, quanto à utilização do diagnóstico molecular como auxiliar no controle microbiológico de alimentos. A região dos Campos

Gerais destaca-se como produtora e exportadora de alimentos no Estado do Paraná, daí sua importância para esta pesquisa.

Metodologia

Amostra

Seis empresas localizadas na região dos Campos Gerais, Paraná, compõem a amostra em estudo, esta região destaca-se na área de alimentos no Brasil, por incluir grandes indústrias produtoras de alimentos de origem animal.

As empresas participantes possuem laboratório especializado em microbiologia de alimentos e gestores específicos no controle de qualidade.

Para a preservação das empresas, as mesmas serão representadas com “E” seguida de número para a diferenciação entre elas, algumas características são apresentadas a seguir:

- E1, E2, E3 e E4: empresas processadoras de alimentos;
- E1 e E3: comercializam seus produtos a nível regional;
- E2 e E4: comercializam seus produtos a nível nacional e internacional;
- E5 e E6: empresas que terceirizam análises de alimentos e água para empresas processadoras de alimentos a nível regional.

As empresas que terceirizam diagnósticos são avaliadas pelo fato de atenderem grande parte das empresas processadoras de alimentos da mesma região, além de realizarem estudo colaborativo (relações interlaboratoriais) com as demais empresas avaliadas.

Instrumento de coleta de dados

Para verificar a visão dos gestores foi realizada a observação indireta com a aplicação de um questionário semi-estruturado. Este questionário possui perguntas abertas e fechadas devido às vantagens que ambas apresentam.

Elaboração do instrumento de coleta de dados

Para a elaboração do questionário foram cumpridas etapas indicadas por Marconi e Lakatos (2001), para que o instrumento de coleta seja compreendido pelo informante e possa conceder as informações necessárias para o desenvolvimento da pesquisa. Uma nota explicativa no início do questionário foi inserida a respeito da pesquisa constando também a importância da colaboração do informante.

Quanto às questões, o questionário aborda:

- Técnicas microbiológicas aplicadas nos laboratórios;
- Conhecimento das técnicas moleculares;
- Busca por novas tecnologias;
- Motivação que leva inclusão de novos métodos analíticos na rotina e
- Visão a respeito do diagnóstico molecular.

Os temas acima expostos são essenciais para que haja melhor entendimento do contexto no qual o profissional está atuando e consequentemente melhor compreensão do tema final.

Avaliação e Pré-teste do instrumento de coleta de dados

O questionário foi submetido à avaliação de um especialista da área de inovação tecnológica com amplo conhecimento na formulação de testes e questionários, para a verificação das questões quanto à coesão, organização, conteúdo, entre outros fatores que podem influenciar o participante.

Em seguida, o instrumento de coleta de dados foi avaliado realizando um pré-teste, para verificar falhas como incoerências, perguntas complexas e ambiguidade. O estudo prévio serve para estabelecer a estabilidade e confiabilidade do instrumento (PILATTI; PEDROSO; GUTIERREZ; 2010). Além disso, o pré-teste deve ser realizado numa empresa com as mesmas características da amostra para ser validado (MARCONI; LAKATOS, 2001). Assim, o pré-teste foi realizado em uma empresa dentre as pré-determinadas.

A confiabilidade de um instrumento de coleta de dados pode ser avaliada por três diferentes abordagens (PILATTI; PEDROSO; GUTIERREZ; 2010), neste estudo a abordagem adotada é a comparação dos resultados obtidos pela utilização do mesmo instrumento de coleta de dados em momentos diferentes. Assim, o questionário foi aplicado em três momentos diferentes na mesma empresa que realizou o pré-teste.

Análise dos dados

A análise dos dados é qualitativa e consequentemente descritiva. A análise qualitativa é empregada por verificar a opinião dos participantes. Nesse caso, o fundamental é compreender e interpretar o exposto pelo participante/informante, por meio da extração e análise das visões sobre o tema exposto utilizando técnica de análise de conteúdo conforme Conde e Araújo-Jorge (2003).

Resultados e Discussões

Instrumento de coleta de dados

Após a avaliação e pré-teste fez-se a reformulação do questionário, conservando os itens e explicitando o conteúdo de forma mais adequada por meio da modificação da redação. Tais avaliações, mas principalmente o pré-teste, serviu para verificar se o questionário apresentava três importantes elementos: fidedignidade (qualquer pessoa que o aplique obterá os mesmos resultados), validade (dados recolhidos são necessários à pesquisa) e operatividade (vocabulário acessível). Elementos que devem ser observados (MARCONI; LAKATOS, 2001).

Entretanto, logo após as etapas de avaliação e reformulação o questionário foi respondido pela mesma empresa que realizou o pré-teste a fim de verificar sua estabilidade. O resultado nos três momentos (pré-teste e duas vezes pós pré-teste) foram iguais, o que evidencia a estabilidade necessária, desse modo o questionário foi então aplicado nas demais empresas e o resultado da empresa que realizou o pré-teste não foi descartado, pois o mesmo não ficou comprometido.

Temas

Técnicas microbiológicas utilizadas

Quanto às técnicas utilizados pelos laboratórios todas as empresas indicam as técnicas que compõem os métodos clássicos, pois são métodos oficiais para a análise microbiológica de alimentos de origem animal e água (BRASIL, 2011). As técnicas empregadas são: pré-enriquecimento; enriquecimento seletivo; semeadura em meio sólido seletivo-diferencial e identificação bioquímica e sorológica das colônias suspeitas.

Estas técnicas são empregadas, pois os métodos oficiais são reconhecidos como métodos “padrão” ou “ouro” para detecção de patógenos em amostras de alimentos. Em teoria, estes métodos são capazes de detectar uma célula viável em 25g de amostra, mas apesar destas técnicas serem as mais utilizadas são constituídas de protocolos demorados e trabalhosos. Assim, as técnicas mostram-se confiáveis, porém pouco práticas para a rotina laboratorial (RÜCKERT, 2006).

De acordo Rückert (2006) as técnicas convencionais são muito demoradas e inadequadas à rotina de monitoramento de muitas amostras e que o ideal é o uso de técnicas que possam ser aplicadas a um elevado número de amostras a baixos custos, desse modo, aponta técnicas

alternativas e aprimoradas como a análise de DNA e análises imunoenzimáticas.

Assim, as empresas foram questionadas quanto ao uso de testes fundamentados em análise imunoenzimática e de DNA, contudo, sabe-se que adotar tecnologia específica geralmente não seja tarefa fácil por depender da análise de diversas variáveis (IPARDES, 2011).

Apenas a empresa E4 indicou utilizar métodos de biologia molecular (análise de DNA), por meio do *BAX® System* automatizado (ensaios de PCR), para a detecção de micro-organismos em amostras de alimentos, este fato pode estar atrelado ao seu porte, pois dentre as empresas é a maior em termos de produção além de ser exportadora de diversos tipos de alimentos de origem animal. A relação positiva entre inovação e exportação e inovação e tamanho já foi relatada por Conceição (2011) em seu estudo, como também mostra a importância dada pelas empresas às inovações de produto e processo para o enquadramento em normas-padrão, porém também pode-se observar que tais normas também podem exercer efeito contrário.

O investimento necessário para implantação de um novo método/técnica pode ser o principal fator limitante para as demais empresas, fator este já mencionado por Gandra et al. (2008) como limitante à adoção de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) juntamente com a legislação brasileira vigente.

A empresa de grande porte segundo Natume (2007) possuem mais condições e inovam constantemente em diferentes áreas dentro da empresa, como em produtos, processos, aplicação de novos materiais, entre outros.

As empresas E1 e E5 fazem uso de testes imunoenzimáticos, que são testes difundidos na análise de alimentos por serem testes rápidos, práticos e de fácil utilização. Testes imunoenzimáticos são amplamente empregados na detecção de *Salmonella* sp., por exemplo, em amostras alimentares e ambientais (RÜCKERT, 2006).

Busca por novas tecnologias e motivação para a adoção de métodos

A busca por novas tecnologias para análise de alimentos foi apontada da seguinte forma pelas empresas: E1, E3, E4 e E5 buscam frequentemente e E2 e E6 às vezes quando acham necessário.

A frequência com que as empresas buscam novas tecnologias de diagnóstico microbiológico foi questionada como uma forma de analisar a propensão que as mesmas possuem em inovar seus métodos analíticos. Desta forma, foi possível observar que as empresas que aplicam métodos analíticos além dos oficiais estão entre as que buscam tecnologias frequentemente e

aquelas buscam às vezes quando acreditam ser necessário são aquelas que não fazem uso de outros tipos de testes e técnicas.

Em relação à motivação para a adoção de métodos analíticos, as motivações apontadas são: confiabilidade (E1, E4 e E6); tempo de análise (E2, E4 e E5); praticidade (E2 e E4); especificidade (E3 e E4); sensibilidade (E4).

Pode-se observar que a confiabilidade dos resultados e o tempo de análise foram os mais apontados. A confiabilidade dos resultados é citada, pois trata-se de assegurar a saúde pública, para tanto o método a ser adotado por uma empresa/laboratório deve apresentar exatidão, precisão, limite detecção, sensibilidade e especificidade adequados à análise proposta (FREITAS et al., 2006).

O tempo de análise é um dos fatores de maior discussão quando há a comparação de métodos moleculares com os convencionais ou clássicos. Andrade et al. (2010) citam que dias ou até semanas para a obtenção de resultados por meio de métodos convencionais é um problema e que há necessidade de métodos de demandem de menor tempo para o controle da fabricação de alimentos, além disso, indicam a PCR (*Polymerase Chain Reaction*) como uma ferramenta alternativa para uma identificação rápida, precisa e de custos reduzidos.

A análise para a identificação de *Campylobacter* sp. em alimentos, por exemplo, com o método convencional são necessários de 6 a 7 dias para a obtenção de resultados conclusivos, enquanto com métodos fundamentados em PCR pode-se emitir resultados conclusivos entre 5 horas a 24 horas (DAMAS; MARASSI, 2010; PASSO, 2009).

O tempo representa muito para as empresas para a liberação de alimentos, principalmente alimentos perecíveis como é o caso das empresas processadoras de alimentos em estudo.

Conhecimento sobre técnicas moleculares e visão sobre diagnóstico molecular

Em relação ao conhecimento a respeito de técnicas moleculares para a detecção de micro-organismos todas as empresas já tiveram acesso à informação e citaram conhecê-las, exceto a E6 o que é surpreendente por se tratar de uma empresa que terceiriza análises, pois entende-se que o seu conhecimento sobre as diversas técnicas é amplo.

Entretanto, as dificuldades de acesso à informações técnico-científicas e mercadológicas é em parte responsável pela baixa disposição em inovar, além disso, a capacidade da empresa em adquirir e combinar informações também influencia na habilidade de inovar (SUGAHARA;

JANUZZI, 2005). Assim, é possível reforçar a afirmação descrita, pois E6 foi a que apresentou menor disposição em inovar.

A visão sobre à utilização da biotecnologia molecular, mas especificamente diagnóstico via PCR, na indústria de alimentos como auxiliar no controle microbiológico foram bem distintas e são transcritas a seguir.

A E1 cita que *“as indústrias de alimentos devem primeiramente estruturar seus laboratórios e intensificar treinamentos de seus funcionários para inserção da metodologia.”*

E2 relaciona a importância da análise de DNA na indústria *“... devido à confiabilidade e agilidade na emissão de resultados.”*

E3 menciona que *“é de grande valia pela capacidade de atuação na área e sua especificidade, talvez ainda esteja um pouco longe da realidade da maioria das indústrias. Mas em grandes grupos industriais onde realiza-se pesquisas já faz parte da rotina.”*

Já E4 relata o caso da empresa:

Na nossa empresa utilizamos o sistema Bax®, mesmo apresentando um custo mais elevado é muito importante, devido o menor tempo de análise e maior rapidez na emissão de laudos, possibilitando assim menor custo com armazenamento e diárias no porto de embarque para o exterior.

E5 descreve:

Hoje viso com a metodologia molecular uma rapidez na análise e liberação de lotes de produção. Transformar a lentidão do laboratório em principal instrumento de apoio a indústria alimentícia que está se especializando na geração de alimentos seguros.

No entanto, E6 relata *“não tenho conhecimento sobre o assunto.”* Este caso merece destaque devido de conhecimento a respeito de diagnósticos moleculares. Conde e Araújo-Jorge (2003) citam que a inovação deve ser associada ao aprendizado e há a necessidade de capacitação para que seja geração e/ou adotada (CONDE; ARAÚJO-JORGE, 2003).

De modo geral, podemos observar que a visão dos gestores é positiva, pois destacam os benefícios do emprego de técnicas moleculares como aumento da confiabilidade de seus resultados, rapidez na emissão de resultados e especificidade, benefícios estes também destacados por

pesquisadores (GANDRA et al.; 2008; RÜCKERT, 2006; TANG et al., 2009; ANDRADE et al., 2010; FREITAS et al., 2006; SINGH et al., 2011; GRADY et al., 2008; SUBRAMANIAN et al., 2006). Mas, a análise das visões aponta a tendência na preocupação com o tempo de análise, devido aos custos embutidos na espera de laudos.

Em relação a E4 vale destacar o emprego do Sistema Bax®. O Bax® consiste em ensaios que detectam com segurança a sequência de DNA alvo, é um teste automatizado de detecção de patógenos que utiliza a tecnologia PCR (FRANCHIN et al., 2006; DUPONT, 2011; MOURA et al., 2011). Para o gestor da E4 o custo do teste é alto, mas o ganho com a rapidez de diagnóstico e com a redução de custos de armazenamento é compensatório.

Contudo, pode-se observar que a inovação em biotecnologia encontra entraves, embora muitas vezes seja reconhecida como importante para aumento da confiabilidade de um processo e para a redução de custos, como visto neste estudo.

Felipe (2007) menciona ainda que entre os desafios na área de biotecnologia estão a adequação de marcos regulatórios, investimento público e privado constantes, a formação de pessoal qualificado com foco em inovação e voltada para a necessidade da indústria.

Conclusões

Foi possível observar que para as empresas se voltarem para a inovação em métodos analíticos é necessário que a legislação brasileira vigente se amplie, pois está focada em métodos que são trabalhosos, demorados e que podem oferecer dificuldades de detecção, enquanto, existe a possibilidade de aplicação de diversas técnicas confiáveis que não somente as moleculares.

Assim, apenas uma empresa de grande porte faz uso de técnica mais sofisticada, isto pode estar veiculado ao alto custo de implantação no país ou ao fato de exportar seus produtos a países que já reconhecem as técnicas moleculares, como as fundamentadas em PCR.

Todavia, os gestores relatam buscar tecnologias e citam motivações para a adoção de métodos analíticos que são reais para o mercado em que estão atuando devido à preocupação constante em oferecer alimentos seguros aos consumidores, além de mencionarem outros critérios que são atendidos pelo diagnóstico molecular.

Já o conhecimento dos gestores revelou que ainda existem brechas na busca por informação científica e a visão destes foi sobretudo positiva ao demonstrarem os benefícios das técnicas moleculares e

consequentemente do diagnóstico molecular, principalmente quanto à rapidez para a obtenção de resultados.

Referências

ANDRADE, R. B. et. al. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares *Campylobacter sp.*, *Salmonella sp* e *Listeria monocytogenes*. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 741-750, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Anexo I. Publicado no Diário Oficial da União de 18/09/2003, Seção 1, Página 14. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851> >. Acesso em: 06 ago. 2011.

CONCEIÇÃO, J. C. P. R. **Radiografia da indústria de alimentos no Brasil: identificação dos principais fatores referentes à exportação, inovação e ao food safety.** Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/sites/000/2/publicacoes/tds/td_1303.pdf >. Acesso em: 01 set. 2011.

CONDE, M. V. F.; ARAÚJO-JORGE, T. C. de. Modelos e concepções de inovação: a transição de paradigmas, a reforma da C & T brasileira e as concepções de gestores de uma instituição pública de pesquisa em saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 8, n. 3, p. 727-741, 2003.

DAMAS, T. M. T.; MARASSI, A. E. *Campylobacter sp.*: agente etiológico de doença de origem alimentar. *Higiene Alimentar*, Itapetininga, v. 24, n. 180/181, p. 85-90, 2010.

DUPONT. **Bax® System PCR assay.** Disponível em: <http://www2.dupont.com/Qualicon/en_US/products/BAX_System/bax_salmonella.html >. Acesso em: 02 set. 2011.

FELIPE, M. S.S. Desenvolvimento tecnológico e inovação no Brasil: o desafio na área de biotecnologia. *Novos Estudos*, São Paulo, n. 78, p. 11-14, 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002. Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt.

FRANCHIN, P. R. et al. Comparision of the BAX® System with an In-House MSRv method for the detection of *Salmonella* in chicken carcasses and pork. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 521-526, 2006.

FREITAS, E. I.; LEMOS, E. I.; MARIN, V. A.. Validação de métodos alternativos qualitativos na detecção de patógenos alimentares. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 4, p. 1073-1083, 2006.

GANDRA, E. Á.; GANDRA, T K V.; MELLO, W. S.; GODOI, H. S. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 109-118, 2008.

GRADY, J.; SEDANO-BALBÁS, S.; MAHER, M.; SMITH, T.; BARRY, T. Rapid real time PCR detection *Listeria monocytogenes* in enriched food samples based on the *ssrA* gene, a novel diagnostic target. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 75-84, 2008.

IPARDES. **Workshop: identificação de gargalos tecnológicos na agroindústria paranaense.** Disponível em: <http://www.ipardes.gov.br/webisis.docs/seti_gargalos_tec_agroindustria_workshop_resultados_2005.pdf>. Acesso em 01 set. 2011.

MARCONI, M. de A.; LAKATOS, E. M. **Fundamentos de metodologia científica.** 4. ed. São Paulo: Atlas, 2001.

MAZIERO, M. T. **Contaminação de carcaças de frango por *Campylobacter jejuni* antes e após armazenamento sob resfriamento ou congelamento.** 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade de Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

MOURA, C. S. et al. **Avaliação do sistema BAX® frente ao método da ISO para detecção de *Enterobacter sakazakii* em alimentos** Disponível em: <<http://iac.impulsohost.com.br/areadoinstituto/pibic/anais/2008/Artigos/RE0801027.pdf>>. Acesso em: 02 set. 2011.

NATUME, Rosane Y. **Diagnóstico da gestão da inovação nas indústrias de alimentos de Ponta Grossa.** 2007. 136f. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Produção), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2007.

PASSO, M. do C. S. U. da C. **Avaliação de métodos moleculares para avaliação da qualidade e da segurança microbiológicas em produtos alimentares.** 2009. 53f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

PILATTI, L. A.; PEDROSO, B.; GUTIERREZ, G. L. Propriedades psicométricas de instrumentos de avaliação: um debate necessário. **R. B. E. C. T.**, Ponta Grossa, v. 3, n. 1, p. 81-91, 2010.

RÜCKERT, D. A. S. V. **Comparação dos métodos microbiológicos convencional, imunoanálise e reação de polimerase em cadeia (PCR) no monitoramento de *Salmonella* sp. em frangos durante o abate.** 2006. 70f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

SINGH, H.; RATHORE, R.S.; SINGH, S.; CHEEMA, P. S. Comparative analysis of cultural isolation and PCR based assay for detection of *Campylobacter jejuni* in food and faecal samples. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 42, p. 181-186, 2011.

SUBRAMANIAN, S. B.; KAMAT, A. S.; USSUF, K. K.; TYAGI, R. D. Virulent gene based DNA probe for the detection of pathogenic *Bacillus cereus* strains found in food. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 4, p.783-788, 2006.

TANG, Y.; LU, L.; WEI, Z.; WANG, J. Rapid detection techniques for biological and chemical contamination in food: A review. **International Journal of Food Engineering**, v.5, *issue 4*, p.1-13 2009.

TEODORO, V. A. M.; PINTO, M. C. D.; VANETTI, P. D.; BEVILACQUA, M. P.; PINTO, M. S. Aplicação da técnica de PCR na detecção de *Yersinia enterocolitica* em suínos abatidos sem inspeção. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 1, 9-14, fev. 2006.

SUGAHARA, C. R.; JANUZZI, P. M. Estudo do uso de informação para a inovação tecnológica na indústria brasileira. **Ci. Inf.**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 45-56, 2005.