
ARTIGO ORIGINAL

Validação de monitoramento de limpeza com ATP - bioluminescência em água de enxágue

Validation of cleaning monitoring with ATP - bioluminescence in rinse water

Tamires Arlete Caetano

Faculdade Sudoeste Paulista, E-mail: tahcaetano@outlook.com

Mariana Donato Pereira

Centro Universitário Max Planck, E-mail: mariana-donato@hotmail.com

Thiago Souza Candido

Faculdades Integradas de Jaú, E-mail: thiago.s.candido@gmail.com

Nathalia Serafim dos Santos

Centro Universitário Sudoeste Paulista, E-mail: serafimnathalia@gmail.com

Resumo: A higienização dos equipamentos de uso industrial é fundamental para a qualidade do produto final. Devido a esta importância as indústrias investem em métodos e tecnologias de monitoramento de limpeza. O objetivo do presente trabalho é validar um método de monitoramento de limpeza com técnica de ATP- bioluminescência com amostras de água do último enxágue do processo de higienização. O estudo foi realizado de forma experimental em pesquisa de campo comparando se método de monitoramento de limpeza com a técnica em ATP- bioluminescência apresenta evidências iguais ou superiores a métodos tradicionais, realizando análises microbiológicas de contagem padrão de mesófilos e pesquisa qualitativa de coliformes totais e termotolerantes em água, avaliando a reprodutibilidade, repetibilidade e valores mínimo e máximo dos resultados. Foram coletadas amostras dos tanques que abastecem água para área produtiva estéril e dos equipamentos de produção os esterilizadores. Os valores de ATP apresentados foram entre 5 e 45 RLU, as análises de contagem padrão de mesófilos apresentaram ausência de crescimento na maioria das amostras e todas as análises apresentaram resultados negativo para pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água. O método em ATP – bioluminescência usando água do último enxágue fornece resultados rápidos, precisos e confiáveis permitindo uma avaliação mais ampla da superfície analisada.

Palavras-chave: Higienização. Limpeza. Biofilme bacteriano

Abstract: The hygiene of industrial equipment is fundamental to the quality of the final product. Due to this importance the industries invest in methods and technologies of cleaning monitoring. The objective of the present work is to validate a cleaning monitoring method with ATP-bioluminescence technique with samples of water from the last rinse of the hygiene process. The study was carried out experimentally in field research comparing if cleaning method with the technique in ATP - bioluminescence presents evidences equal or superior to traditional methods, performing microbiological analyzes of mesophilic standard counts and qualitative research of total and thermotolerant coliforms in water, evaluating the reproducibility, repeatability and minimum and maximum values of the results. Samples were collected from the tanks that supply water to the sterile production area and from the sterilization equipment. The ATP values presented were between 5 and 45 RLU, the mesophilic standard count analyzes showed no growth in most of the samples and all the analyzes presented negative results for total and thermotolerant coliforms in water. The ATP - bioluminescence method using water from the last rinse provides fast, accurate, and reliable results allowing for a wider assessment of the surface under analysis.

Key words: Hygiene. Cleaning. Bacterial biofilm.

Recebido em: 17/04/2020

Aprovado em: 26/04/2020



INTRODUÇÃO

O processo de higienização visa manter a qualidade microbiológica do produto final, sem oferecer risco à saúde do consumidor, ocorre em duas etapas, limpeza e desinfecção, o processo de limpeza é responsável pela eliminação de resíduos e a desinfecção ou sanitização é responsável pela diminuição de microrganismos deteriorantes e eliminação de microrganismos patogênicos, a escolha do método de higienização quanto ao tempo de duração e produtos utilizados estará relacionado ao tipo de sujidade encontrada na indústria (MACEDO et al., 2012).

A falha no processo de higienização resulta em acúmulos de resíduos orgânicos ou inorgânicos nas superfícies de equipamentos, tais resíduos se tornam fonte para contaminações nos quais os microrganismos se aderem e interagem com a superfície iniciando assim um crescimento celular chamado de biofilme. A formação de biofilme dentro da linha de produção eleva a carga microbiana e muitas vezes contaminam os alimentos devido ao desprendimento de porções aderidas (KASNOWSKI et al., 2010; SANTOS, 2009; FARIA, 2010).

Para que seja avaliada a eficiência da higienização dos equipamentos deve realizar o monitoramento da superfície que conta com técnicas de inspeção visual, amostragem microbiológica por esfregão, avaliação da água de enxágue e técnicas de monitoramento rápido. As técnicas de monitoramento rápido de limpeza são muito eficazes, é realizada através do método em ATP – bioluminescência (OLIVEIRA, 2016; FROTA et al., 2017).

A técnica de bioluminescência se baseia na mensuração de adenosina trifosfato (ATP) também conhecida como sistema de “lightning”, nesse método será possível avaliar qualquer tipo de moléculas orgânicas não viáveis de resíduos alimentícios, químicos, fungos, leveduras e microrganismos, pode ser realizado na forma de esfregão pontual e em água de enxágue. A vantagem no método de água de enxágue está em avaliar toda a tubulação obtendo resultados mais amplos e identificar se houver possíveis focos de biofilme (CAIXETA, 2008; KANOWSKI et al., 2010).

O monitoramento de limpeza em ATP – bioluminescência é um método rápido, confiável e os resultados são obtidos de maneira instantânea. Esse método funciona através do contato das moléculas ATP captadas das amostras coletadas de superfície ou

de água, com o complexo enzimático luciferina / luciferase que quanto maior a concentração de ATP maior será intensidade da luz emitida (CANETTIERI et al., 2010).

O método de monitoramento de limpeza implantada na indústria deve ser confiável, objetivo e seguro, o método escolhido deve passar por um processo de validação para verificar e comprovar através de teste e valores padrões que o método de mensuração irá detectar qualquer resíduo químico, microbiológico ou alimentício, assegurando a qualidade do produto produzido (GOMES, 2012).

O presente trabalho irá realizar a validação do método de monitoramento de limpeza com amostras de água do último enxágue do processo higienização, usando ATP – bioluminescência para verificação da eficiência e confiabilidade do método e através deste avaliar de forma mais ampla a superfície de produção.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em um laticínio situado no município Itapetininga, Estado de São Paulo, período de outubro de 2017 a outubro de 2018. No local foram desenvolvidas todas as análises no laboratório de microbiologia.

O método validado se trata de um monitoramento de limpeza em ATP- bioluminescência onde se coletou água do último enxágue do processo de higienização dos equipamentos.

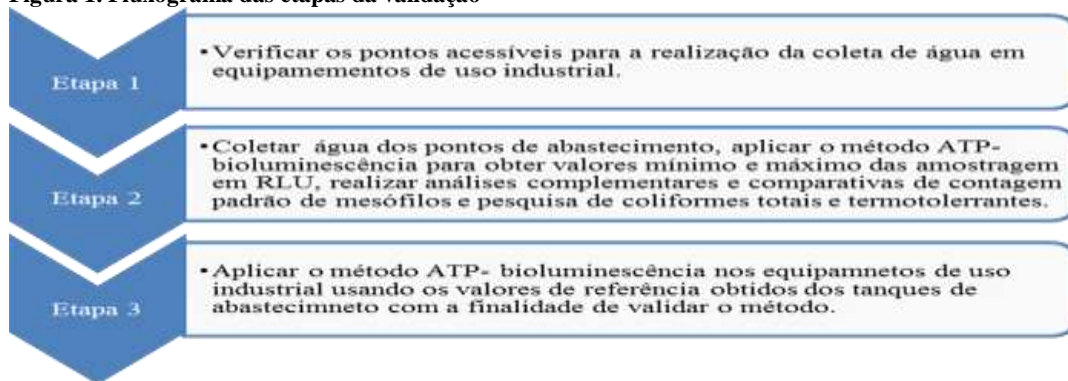
Para verificar a viabilidade das coletas da água de enxágue foi realizada inicialmente a verificação dos pontos acessíveis.

Os valores de mínimo e máximo permitido foram identificados através de análises dos pontos de abastecimento de água tanques 2, 4, e 5, tais pontos fornecem água para área estéreis da linha de produção, foram realizadas dez análises em cada um dos pontos em dias distintos.

Para a validação do método foi realizado três coletas em dias distintos em equipamentos da área estéril, os esterilizadores 1, 2 e 3.

A eficiência do método de ATP – bioluminescência em água de enxágue foi comparada com análises de contagem padrão de mesófilos em petrifilm AC (aerobic count) e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água com meio de cultura para detecção qualitativa de grupos coliformes Aquatest.

Figura 1. Fluxograma das etapas da validação



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Método para padronização de valores em RLU

A indústria é composta por três pontos de abastecimento de água tratada que fornecem água para a área produtiva estéril que são os tanques 2, 4 e 5, em todos os pontos foram realizadas dez coletas de água em dias distintos, com a realização de análises de ATP-bioluminescência, contagem padrão de mesófilos e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes.

O método aplicado tem por objetivo avaliar se os dados satisfazem as exigências analíticas pré-determinada e avaliar a precisão, repetibilidade, limite de detecção e quantificação das amostras, com o objetivo de obter os valores mínimos e máximos (VALENTINI et al., 2007).

Método ATP - bioluminescência Water

As coletas das amostras foram realizadas a partir dos tanques de abastecimento de água e das tubulações acessíveis dos esterilizadores, com a quantidade de 25 ml de água de enxágue para as análises de ATP – bioluminescência water em sistema Lightning.

A análise foi realizada removendo do seu invólucro o swab e submergindo na amostra de água até a submersão da haste, em seguida pressionado o êmbolo para que a haste entre em contato com a enzima luciferina /luciferase que se encontra na ponta do invólucro, o resultado foi obtido através da medição no aparelho luminômetro e expressos em Unidade Real de Luz (RLU) (CABRAL, 2010).

Contagem padrão de mesófilos em petrifilm AC

As amostras de água após análise de ATP foram homogenizadas, coletado 1 ml e depositadas no petrifilm AC, elevando o filme superior e com lentidão adicionada a amostra no centro do filme inferior, o filme superior foi deixado cair sobre a amostra depositada no filme inferior e em seguida foi pressionada na amostra um difusor de plástico por 10 segundos e aguardado 1 minuto para solidificação do gel. Após a solidificação do gel as amostras foram incubadas a 32°C por 48 horas (DANTAS et al., 2010).

O petrifilm AC se trata de um meio pronto com ágar padrão desidratado que ao contato com amostragens líquidas ele se gelifica, possui um

indicador chamado cloreto de trifeniltetrazóico que dá uma cor característica as colônias facilitando a contagem (WATANABE, 2007).

Pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água

Foi coletada também de todos os pontos juntamente com as amostras para análise de ATP - bioluminescência, 100 ml de água para detecção qualitativa de coliformes totais e termotolerantes em água, foi adicionado o meio AQUATEST COLI-ONPG MUG na amostra coletada e homogeneizada suavemente, em seguida foi incubada em estufa 36° por 24 horas (UMERAMA, 2017).

Validação dos equipamentos

Os esterilizadores 1, 2 e 3 que pertencem a área produtiva estéril, foram submetidas a três coletas em dias distintos, as análises realizadas foram as mesmas, ATP – bioluminescência, contagem padrão de mesófilos e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água.

O procedimento de validação tem por objetivo qualificar e provar que o método proposto é adequado, confiável e que responde a todos os critérios exigidos (BRASIL, 2011).

Interpretação dos resultados

Os resultados foram avaliados e expressos conforme a instrução dos fabricantes LABORCLIN e 3M.

- Análises de bioluminescência: Resultados expressos em RLU, considerando os valores padrões determinados.

- Contagem padrão de mesófilos: Resultados expressos em UFC/ML (Unidade Formadora de Colônia/Mililitro).

- Pesquisa quantitativa de coliformes totais e termotolerantes em água: Resultado obtido de forma visual, onde a presença da coloração amarela representa positivo para coliformes totais, presença de fluorescência azul esverdeada positivo para coliformes termotolerantes e ausência de coloração resultado negativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ponto viável de coleta dos esterilizadores foi determinado pela praticidade de coleta e pela área de extensão percorrida pela água. Todas as coletas foram realizadas com frascos estéreis com tiosulfato para que houvesse a inativação do cloro, pois o mesmo interfere na leitura do ATP- bioluminescência. Os métodos de monitoramento de limpeza são utilizados para verificação dos processos de higienização e assim garantir que o produto que irá ser produzido não entre em contato com nenhum contaminante.

Para que uma superfície ou amostra de água seja considerada limpa e satisfatória, estes locais devem apresentar resultados negativo para coliformes e contagem microbiológica até 500 UFC/ML para amostras de água e para amostras de superfície até 50 UFC/ML (BRASIL, 2011; BRASIL, 2005; ANDRADE, 2008). A técnica de ATP proporciona resultados rápidos, onde fornece a quantidade de ATP microbiano ou não presente na superfície indicando se o processo de higienização esta adequada (GUERRERO et al., 2018).

Para garantirmos que o procedimento seja realizado de forma confiável a escolha dos pontos de coleta é imprescindível, pois deve levar em consideração o acesso, a segurança da amostra e enfim, se aquela amostra vai oferecer um resultado amplo da superfície. O ponto de coleta escolhido no respectivo trabalho avaliou todos esses requisitos, garantindo que a água coletada tenha passado anteriormente em grande parte da tubulação, porém não lhe é descartado os fatos de existirem pontos mortos nas próprias tubulações, mas com a coleta da água se houver possíveis formações de biofilme na superfície de contato com a água teremos uma grande possibilidade de detectar através desse método.

Devemos ressaltar que as coletas foram realizadas com frascos estéreis evitando que os mesmos estejam contaminados, pois evita falsos resultados e perca da credibilidade do método, e a presença de tiosulfato, que se trata de um inativado de cloro, pois o cloro interfere nos valores de RLU.

A escolha dos pontos de coleta se mostrou bem eficaz devido aos equipamentos escolhidos, que tinham pontos acessíveis, mas devemos ressaltar que em uma indústria nem todos os equipamentos ou pontos de coleta terão acesso prático a coleta de água, onde deverá ser mantido o método de esfregaço.

Método para padronização de valores em RLU

As amostras coletadas dos três tanques de abastecimento de água foi avaliado os valores mínimo e máximo obtidos onde apresentaram valores entre 5 e 45 RLU, os resultados em análises de contagem padrão de mesófilos foi avaliado a repetibilidade dos resultados onde apresentou crescimento em apenas três coletas no total, sendo avaliado em porcentagem os valores com crescimento corresponderam a 10% do total das análises, já as análises qualitativas de pesquisa de coliformes totais e termotolerantes que se trata de uma análise indicativa de patogênicos, apresentaram resultados negativos (Tabela 1).

Embora os fabricantes do leitor de ATP indiquem valores de até 150 RLU, para indicar uma superfície em condições satisfatória, é necessário que haja uma comparação de resultados, devido que cada indústria e produto têm suas características de processo. (KYRIAKIDES, 1995; ANDRADE, 2008).

A padronização do valor de RLU seguiu comparando o novo método de ATP-bioluminescência com os tradicionais. Para que haja a certificação que o método proposto avalia de forma segura a higienização dos equipamentos, deve ser validado com testes comparativos conforme demanda as monografias oficiais, apresentando evidências iguais ou superiores (PICANÇO, 2014).

Em relação ao número de amostragens tem o propósito de avaliar de forma mais ampla o padrão da água a ser monitorada. Tal número de amostragens se considera apropriado e responde aos dados esperados. Os resultados tiveram por objetivo avaliar valores mínimos e máximos em RLU para monitoramento de limpeza dos equipamentos.

Tabela 1 - Dados das análises para a comparação de RLU

	TANQUE 2				TANQUE 4				TANQUE 5			
	RLU / ATP.BIO.	C.P.M/ UFC.	COL.T.	COLI. TERM.	RLU/ ATP. BIO.	C.P.M/ UFC.	COL.T.	COLI. TERM.	RLU/ ATP. BIO.	C.P.M/ UFC.	COL.T.	COLI. TERM.
1	11	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	5	1	Negativo	Negativo	12	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
2	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	10	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	9	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
3	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	5	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
4	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	8	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	9	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
5	8	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	5	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	7	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
6	8	7	Negativo	Negativo	10	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	7	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
7	7	2	Negativo	Negativo	21	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	11	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
8	15	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	30	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
9	7	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	8	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
10	31	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	35	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	45	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo

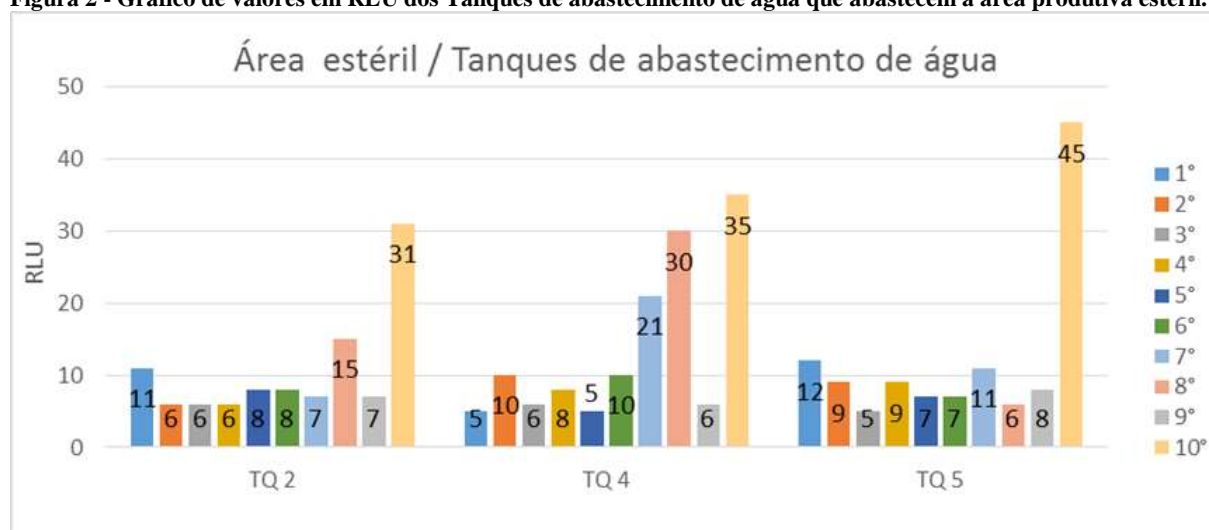
C.P. M/UFC: Contagem Padrão de mesófilos/ Unidade Formadora de Colônia; RLU/ATP. BIO: Unidade Real de Luz/ATP-Bioluminescência; COL.T: Coliformes Totais; COL.TERM: Coliformes Termotolerantes.
 Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Método ATP - bioluminescência Water

O método ATP - bioluminescência foi realizado em todas as amostras coletadas, tanto nos tanques de abastecimento (tanques 2, 4 e 5) onde seus

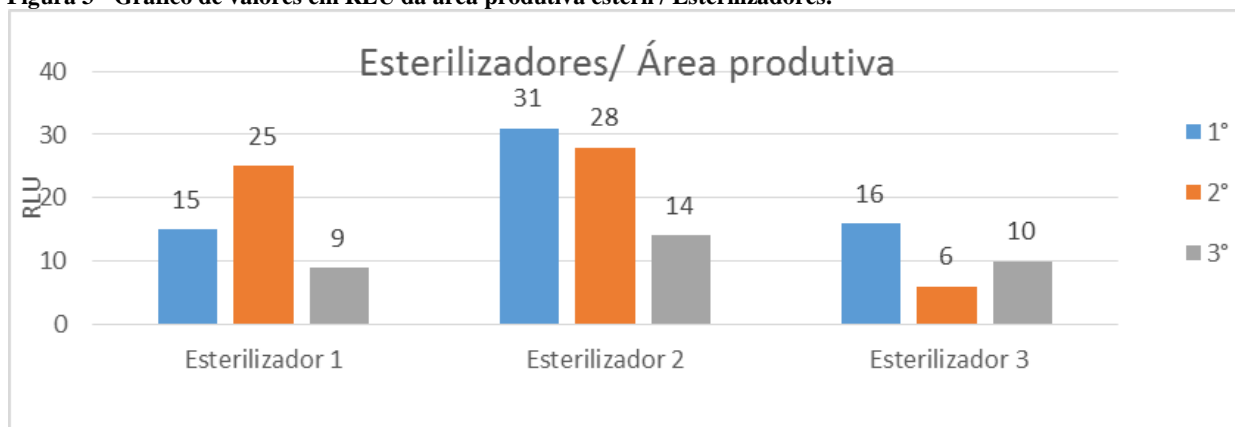
valores foram entre 5 RLU a 45 RLU (Figura 2) como também na área produtiva (esterilizadores 1, 2 e 3) com valores entre 6 RLU e 31 RLU (Figura 3) , as análises se mostraram rápidas e com resultados instantâneos

Figura 2 - Gráfico de valores em RLU dos Tanques de abastecimento de água que abastecem a área produtiva estéril.



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

Figura 3 - Gráfico de valores em RLU da área produtiva estéril / Esterilizadores.



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

O método de ATP- bioluminescência pode ser realizado de duas formas com amostras provenientes de superfície ou água (RAMIREZ, 2014). A escolha de qual método será utilizado dependerá do equipamento e do ponto de coleta. No presente trabalho a escolha do método com amostras de água do último enxágue foi aplicado para que se obtenha um resultado mais amplo do processo de higienização e que por sistema de arraste possamos encontrar possíveis focos de biofilme.

Os resultados em ATP não devem ser correlacionados a crescimento microbológico em UFC/ML, pois o método se trata de uma reação enzimática semi quantitativo ou qualitativo (PICANÇO, 2014). Não há relatos de estudos onde se correlacionam os valores de RLU com contagem microbológica em UFC, e também com a quantidade de ATP liberado por bactérias gram positivas, gram negativas, esporos, fungos ou leveduras. Devemos também ressaltar que o monitoramento de limpeza em ATP - bioluminescência não substitui o método convencional de contagem microbiana, porém todos os resíduos alimentícios ou até mesmo químicos detectados pelo método tem potencial de contaminação (SANTOS et al., 2013).

As vantagens do método esta na confiabilidade, robustez e praticidade, é importante ressaltar que o método dispõe de menos tempo do setor laboratorial, resultados em poucos minutos onde se garante a inocuidade do produto acabado (JIMENEZ, 2004; CLONTZ, 2008; PARENTERAL DRUG ASSOCIATION, 2013). Em comparação ao custo entre o material para realização do método ATP – bioluminescência em superfície, em água e o método tradicional, destacaram que o método de ATP-bioluminescência em água apresenta um custo mais elevado do que os outros métodos citados, no entanto o custo benefício deve ser considerado devido a obtenção de resultados mais amplos da superfície monitorada principalmente quando se trata de tubulações fechadas, obtenção dos resultados quase que de forma instantânea e otimização de tempo, lembrando que, métodos convencionais apresentam os resultados entre 24 a 72 horas onde o fluxo de produção se dá por encerrada, impedindo ações corretivas ou preventivas.

Contagem padrão de mesófilos em petrifilm AC

Foram realizados um total de trinta análises de contagem padrão de mesófilos em água nos tanques 2, 4 e 5 de abastecimento, onde apresentou crescimento em três (10%) no total das amostras. Cada tanque teve um total de dez amostras, o tanque 2 apresentou crescimento microbológico em duas (20%) das amostras, o tanque 4 apresentou crescimento microbológico em uma (10%) das amostras e o tanque 5 nenhum crescimento microbológico. O número de colônias foi de 1 a 7 UFC/ML. Os crescimentos microbiológicos foram identificados como bastonetes gram positivos.

No processo de validação foram realizados um total de nove análises de contagem padrão de mesófilos, sendo três para cada esterilizador os resultados não apresentaram nenhum crescimento microbológico

A análise de contagem padrão de mesófilos se trata de um método tradicional para avaliar a efetividade do processo de higienização. Os crescimentos microbiológicos ocorridos nas amostras dos tanques 2 e 4 não se descarta a possibilidade um desvio operacional na coleta das amostras devido à pouca repetibilidade de crescimento.

O número de crescimento microbológico exigido pela legislação brasileira em vigor para água potável e de uso industrial não pode ultrapassar de 500 UFC/ML, passando dessa contagem os valores são considerados insatisfatórios (BRASIL, 2011). Seguindo este conceito embora tenha ocorrido crescimento microbológico nos tanques de abastecimento, consideram-se os resultados dentro do padrão exigido.

Pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água

As análises de pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água apresentaram parâmetros esperados, onde todas as amostras apresentaram resultados negativos.

A pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em água foram realizadas seguindo legislações pertinentes, onde os resultados exigidos afirmam que

não a presença de contaminantes patogênicos. Os resultados obtidos seguiram os parâmetros exigidos pela RDC N° 275 que dispõe de valores negativos e/ou ausentes para coliformes totais e termotolerantes em água mineral natural e água natural (BRASIL, 2005).

Validação dos equipamentos

Para assegurar a credibilidade e confiabilidade do método, foi realizada a validação dos esterilizadores 1, 2 e 3 da área produtiva estéril, com a coleta de amostras de água do último enxágue do processo higienização, foram coletadas três amostras de cada equipamento em dias distintos e realizadas as mesmas análises para a padronização de RLU (Tabela 2).

Tabela 2 - Comparação dos resultados da área produtiva estéril / Esterilizadores.

N° de Amostras	Esterilizador 1				Esterilizador 2				Esterilizador 3			
	RLU / ATP.BIO.	C.P.M/ UFC.	COL.T.	COLI. TERM.	RLU/ ATP. BIO.	C.P.M/ UFC.	COL.T.	COLI. TERM.	RLU/ ATP. BIO.	C.P.M/ UFC.	COL.T.	COLI. TERM.
1	15	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	31	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	16	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
2	25	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	28	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	6	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo
3	9	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	14	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo	10	Ausente UFC/ML	Negativo	Negativo

C.P.M/UFC: Contagem Padrão de mesófilos/ Unidade Formadora de Colônia; RLU/ATP.BIO: Unidade Real de Luz/ATP-Bioluminescência; COL.T: Coliformes Totais; COL.TERM: Coliformes Termotolerantes
 Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

A validação dos equipamentos teve como propósito avaliar o método implantado e através do mesmo monitorar o processo de higienização, como podemos verificar na Tabela 2, os valores de RLU se apresentaram na mesma faixa de valores que obtivemos nos tanques de abastecimento através dos dados coletados verificou-se que o processo de higienização foi eficaz e que não houve nenhum início de formação de biofilme na tubulação.

A validação de métodos e equipamentos, realizados por estudos experimentais tem a finalidade de garantir que o método atende as exigências analíticas e assim assegurar a confiabilidade dos resultados (BRASIL, 2003).

CONCLUSÕES

A qualidade do produto final é imprescindível às indústrias, que buscam métodos de monitoramento de limpeza rápidos e seguros. Embora o método em ATP – bioluminescência não substituía totalmente o de contagem microbiológica ele apresenta praticidade e segurança em relação à detecção de contaminantes pela emissão de ATP, mesmo que não especifique se é de origem química, alimentar e/ou microbiológica.

O método de monitoramento de limpeza em ATP- bioluminescência usando água do último enxágue do processo de higienização, é um método que oferece resultados rápidos, precisos e confiáveis. As amostras de água permitem uma avaliação mais ampla da superfície, principalmente quando se trata de tubulações fechadas. Embora o valor de custo seja mais elevado quando comparados com os outros métodos, deve se levar em consideração os benefícios que o método oferece.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, N. J.; ANTUNES, M. A.; BASTOS, M. S. R. Higiene na Indústria de Alimentos Minimamente Processados. IN: Encontro Nacional sobre

Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. Resumos, Palestras e Oficinas – UFV- Viçosa, 2004.

ANDRADE, N. J. Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. Revista Higiene Alimentar. São Paulo, 2008. 412p.

ANDRADE, J. A; CARRELI, R.T; COSTA, P. D SIM, E. M. A técnica de ATP- bioluminescência na avaliação de processos de adesão microbiana na indústria de alimentos. Revista Higiene Alimentar. Viçosa, p. 360-386, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA); Guia Para Validação de Métodos Analíticos E Bioanalíticos Métodos Analíticos. Resolução RE n° 899 de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA); Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural. RDC n° 275, de 22 de setembro de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários. Brasília: Editora Mapa/ACS. 2011.

BRASIL. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011.

CABRAL, A. Novas tecnologias para o monitoramento de limpeza. 2° workshop processamento de artigos em serviço a saúde. Contagem 18 de Maio, 2010. Disponível em: <<http://www.contagem.mg.gov.br/arquivos/downloads/>

tecnologia_monitoramento_da_limpeza.pdf. Acesso em 22 de abr. de 2018.

CAIXETA, D. S. Sanificantes químicos no controle de biofilme formado por duas espécies de *Pseudomonas* em superfície de aço inoxidável. 2008. 33f. Dissertação (Dissertação de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

CANETTIERI, A. C. V. OLIVEIRA, T. Eficiência dos métodos microbiológicos e de ATP – bioluminescência na detecção da contaminação de diferentes superfícies. Revista Instituto Adolf Lutz. São Paulo, v. 69, n. 4, p.467- 474 2010.

CLONTZ, L. Microbial Limit and Bioburden Test: Validation Approaches and Global Requirements. Buffalo- Grove: CRC Press, 2007, cap. 4.

DANTAS, A.K. D. SOUZA, C. FERREIRA, M.S. Qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano. Revista biociências, Unitau. Ribeirão Preto – São Paulo, v. 16, n. 2, p. 132 – 138, 2010.

FARIA, M. S. L. Avaliação dos conceitos e procedimentos de limpeza e desinfecção em estabelecimentos alimentares. 2010. 96f. Dissertação (Dissertação de Mestrado em medicina veterinária). Faculdade de medicina veterinária, Lisboa.

FROTA, O. P; FERREIRA, A. M; GUERRA, O. G; RIGOTTI M. A; ANDRADE, D; BORGES N. M. A; ALMEIDA, M.T.G. Eficiência da limpeza e desinfecção de superfícies: Correlação entre métodos de avaliação. Revista Brasileira de Enfermagem. Brasília, v. 70, n. 6, p. 1242-1249, 2017.

GUERRERO, F. G. R; RODRIGUES, R. S.; FLORES, B.C.L; GOBERNÃ. Critério de ATP-Bioluminescência para Avaliação da Eficiência de Limpeza em Pontos Chaves de Amostragem de uma Fabrica Processadora de Frutas.6º Simpósio de Segurança Alimentar: Desvendando Mitos. FAURGS – Gramado, 2018.

GOMES, M. C. S. Validação da Eficácia dos Procedimentos de Limpeza, no Equipamento de Fabrico e Embalagem, na Indústria Farmacêutica. 2012. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Biológica). Instituto Superior de Engenharia de Lisboa área departamental de Engenharia Química, Lisboa.

JIMENEZ, L. Adenosine Triphosphate Bioluminescence Analysis for Rapid Screening of Microbial Contamination in Non – Sterile Pharmaceutical Samples. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, v. 58, n. 3, p. 159 – 168, 2004.

KASNOWSKI, M.C; MANTILLA, S. P. S; OLIVEIRA, L. A. T; FRANCO, R. M. Formação de biofilme na indústria e métodos de validação de superfície. Revista científica eletrônica de medicina veterinária – ISSN: 1679-7353, São Paulo. Ano VII – n. 15, 2010.

KYRIAKIDES, A. L; PATEL, P. D. Luminescence techniques for microbiological analysis of foods. In: Patel, P. D. Rapid Analysis Techniques in Food Microbiology. Glasgow: Blackie Academic & Professional. 1995, p. 196-231.

MACEDO, R. A. H; SILVA, A. S. A. Procedimento-padrão de higiene operacional na indústria de produtos de origem animal – carne. Anais IV SIMPAC. Revista científica. Viçosa-MG, v. 4, n. 1, p. 251-256, 2012.

OLIVEIRA, J. Uso de critérios para avaliação da qualidade microbiológica de um laticínio. 2016. 52f. Monografia (Trabalho de conclusão de curso bacharel em engenharia de alimentos). Universidade federal da fronteira sul campus de laranjeiras do sul, Laranjeira do Sul.

PARENTERAL DRUG ASSOCIATION. Evaluation, Validation and Implementation of New Test Methods: Technical Report, v. 54, n. 33, Suppl. TR33, p. 139, 2013.

PICANÇO, A. M. Estudo para Validação de Método Rápido Microbiológico Aplicado a Teste de Esterilidade: Técnica de bioluminescência de ATP. 2014. 67f. Dissertação (Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciência Farmacêuticas, São Paulo, 2014.

RAMIREZ, A. F. M. Implemetación de Medición sobre el Proceso de Limpieza y Desinfección de Los Equipos de Enfriamiento y Dispensación de Cerveza en Barril de Tipo “Fast Chiller”, Instalados em Los Puntos de Venta. 2014. 56 f. Monografía. Facultad Ingenieria Química. Costa Rica, 2014.

SANTOS, N. D. V; ROTTA, E. T; SILVA, C. F; DEUTSCHENDORF, C; SANTOS, R. P. Avaliação da limpeza terminal em uma unidade para pacientes portadores de Microrganismos multirresistentes. Revista HCPA. 2013, v.33, n. 1, p.7-14.

SANTOS, S. S. Investigação da presença e da formação de biofilme por estafilococos em micro – Usina de beneficiamento de Leite. 2009. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Medicina Veterinária Preventiva). Faculdade de ciências agrarias, Campus Jaboticabal, Jaboticabal.

UMERAMA, E. H. AQUATESTÉ COLI – ONPG MUG. Laborclin produtos para laboratório Ltda. Pinhais /PR, 2017. Disponível em < http://www.interlabdist.com.br/produtos/mostra_produto/1665,aquatest-coli-onpgmug-200testes>. Acesso em 12 de mai de 2018.

VALENTINI, S. R; SOMMER, W. A; MATIOLI, G. Validação de métodos analíticos. Revista Arq Mudi. Maringá – PR, v. 11, n. 2, p. 26-31, Abr, 2007.

WATANABE, E. Água do equipo odontológico: técnicas convencionais e modernas para avaliar a

contaminação microbiana. 2007. 141f. Tese (pós-graduação em biociências aplicadas a farmácia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto / USP – Área de concentração: Biociências aplicadas a farmácia. Ribeirão Preto / SP.