

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/01/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE
Salmonella SPP. POR MEIO DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)
ASSOCIADO A TÉCNICA DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR
LOOP (LAMP) EM CARÇAÇAS DE FRANGO.

AMANDA LOUISE LAURINDO

BOTUCATU – SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE
Salmonella SPP. POR MEIO DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)
ASSOCIADO A TÉCNICA DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR
LOOP (LAMP) EM CARÇAÇAS DE FRANGO.

AMANDA LOUISE LAURINDO

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Pessoa
Araújo Junior.

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Sossai
Possebon.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Laurindo, Amanda Louise.

Desenvolvimento de sistema de detecção e quantificação de *Salmonella* spp. por meio de número mais provável (NMP) associado a técnica de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) em carcaças de frango / Amanda Louise Laurindo.
- Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: João Pessoa Araújo Junior

Coorientador: Fábio Sossai Possebon

Capes: 50505009

1. Frango de corte. 2. Carcaças. 3. *Salmonella*.
4. Técnicas microbiológicas. 5. Técnicas de amplificação de ácido nucleico.

Palavras-chave: Amplificação isotérmica; Controle microbiológico; NMP-LAMP.

Nome da Autora: Amanda Louise Laurindo

Título: DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE *Salmonella* SPP. POR MEIO DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) ASSOCIADO A TÉCNICA DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP) EM CARÇAÇAS DE FRANGO.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior

Presidente e Orientador

Departamento de Microbiologia e Imunologia

Instituto de Biociências – UNESP – Botucatu/São Paulo

Prof. Dr. Juliano Gonçalves Pereira

Membro Titular

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ)

Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Botucatu

Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann

Membro Titular

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ)

Universidade de São Paulo (USP)

Data da defesa: 01/07/2022

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Primers INVA5 utilizados na qPCR para detecção de <i>Salmonella</i> ...	22
Tabela 2. Primers utilizados na LAMP para detecção de <i>Salmonella</i>	23
Tabela 3. Tabela para análise do Número Mais Provável (NMP).	25
Tabela 4. Valores de Cq na qPCR de isolados de <i>Salmonella</i> spp. com DNAs extraídos por diferentes métodos.....	26
Tabela 5. Comparação do NMP obtido através de diferentes técnicas.....	29
Tabela 6. Estimativa de custo para análise de uma amostra no NMP convencional	30
Tabela 7. Estimativa de custo para análise de uma amostra no NMP-LAMP utilizando o <i>kit</i> comercial (colorimétrico).	30
Tabela 8. Estimativa de custo para análise de uma amostra no NMP-LAMP “ <i>in house</i> ”	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da microbiologia convencional para isolamento de <i>Salmonella</i> spp.....	15
Figura 2. Esquema da técnica de Número Mais Provável utilizada para detecção e quantificação de <i>Salmonella</i> spp. neste estudo	16
Figura 3. Esquema da reação de LAMP	19
Figura 4. Esquema das etapas do NMP	24
Figura 5. Gráfico das curvas de amplificação para o alvo INVA5.	27
Figura 6. Resultado da reação de LAMP “ <i>in house</i> ”	27
Figura 7. Resultado da reação de LAMP utilizando o WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix	28

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	7
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1.	Panorama da avicultura brasileira.....	8
2.2.	Doenças de Origem Alimentar	10
2.3.	O gênero <i>Salmonella</i> spp.....	11
2.3.1.	Salmoneloses em aves	12
2.4.1.	Microbiologia Convencional	14
2.4.2.	Método do Número Mais Provável (NMP)	15
2.4.3.	Métodos moleculares: Extração de DNA para análises moleculares de <i>Salmonella</i> spp.....	16
2.4.4.	Métodos moleculares: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e PCR em tempo real (qPCR)	17
2.4.5.	Métodos moleculares: Amplificação Isotérmica Mediada por Alças – Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)	18
2.4.6.	Custos dos insumos para diagnósticos.....	20
3.	Objetivo	20
3.1.	Objetivos específicos	20
4.	Materiais e Métodos	20
4.1.	Comparação entre os métodos de extração de DNA por fervura e por <i>beads</i> magnéticas	20
4.2.	Teste da reação de LAMP.	22
4.3.	Teste do Número Mais Provável (NMP) associado à LAMP ...	23
4.4.	Análise estatística.....	26
5.	Resultados	26
5.1.	Teste da extração com fervura	26
5.2.	Teste da reação de LAMP.....	27

5.3. Teste do Número Mais Provável (NMP) associado à LAMP

28

6. Discussão	31
7. Conclusão	33
Referências	34

RESUMO

O Brasil ocupa hoje posição de destaque no cenário avícola como o segundo maior produtor e o maior exportador de carne de frango do mundo. No mercado interno, a carne de frango é preferência entre os brasileiros, seja por seu valor nutricional ou por seu preço mais acessível. Entretanto os números de casos de doenças de transmissão hídrica e alimentar – DTHA ainda são elevados. No Brasil, *Salmonella* spp. é um dos principais agentes envolvidos e a carne de frango e os ovos são os principais veículos. Atualmente os métodos de diagnóstico comumente utilizados para detecção e quantificação da *Salmonella* spp. são onerosos, demorados ou de alta complexidade de execução. Desta maneira, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um sistema rápido, prático e de baixo custo para detecção e quantificação de *Salmonella* spp em carne de frango, unindo as técnicas de Número Mais Provável e Amplificação Isotérmica Mediada por Alças (NMP-LAMP). Os objetivos específicos deste trabalho foram comparar dois métodos de extração de DNA (fervura e *beads* magnéticas), testar dois protocolos para reações de LAMP (“*in house*” e *kit* colorimétrico) e por fim, comparar o NMP convencional e NMP associado à técnica de LAMP, no qual alíquotas foram retiradas nas etapas de pré enriquecimento e enriquecimento seletivo, a fim de realizar extração e, em seguida, a técnica de LAMP. Os resultados das extrações de DNA obtiveram valores de Cq semelhantes. Já os protocolos de LAMP apresentaram resultados idênticos. Por fim o NMP-LAMP apresentou bons resultados quando comparado ao NMP convencional, já que não houve diferença estatística entre as técnicas, demonstrando que a união é promissora e sugerindo que é possível diminuir o tempo para obtenção de resultados. Entretanto os relatos acerca da união das técnicas ainda são escassos na literatura. Quanto aos custos, o maior valor da técnica de LAMP pode ser compensado pelo menor tempo na obtenção de resultados.

Palavras-chave: Amplificação isotérmica, NMP-LAMP, controle microbiológico

ABSTRACT

Brazil currently stands out in the poultry sector as the second largest producer and largest exporter of chicken meat in the world. In the domestic market, chicken meat is a nutritional preference among Brazilians, either for its value or for its more affordable price. Several cases of foodborne diseases are still higher. In Brazil, *Salmonella* spp. is one of the main agents involved and eggs and poultry meat are the main vehicle. Currently, the diagnostic methods commonly used for detection and quantification of *Salmonella* spp. are costly, time-consuming, or highly complex to implement. Thus, this work aimed to develop a fast, practical, and low-cost system for the detection and quantification of *Salmonella* spp in poultry meat, combining the Most Probable Number and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP-MPN) techniques. The specific objectives of this work were compared with two methods of DNA extraction (boil and magnetic beads), test two protocols for LAMP reactions (in house and colorimetric kit), and finally the comparison between conventional MPN and LAMP-MPN, in which aliquots were removed in the pre-enrichment and selective enrichment stages to perform DNA extraction, and then the LAMP technique. Both protocols of DNA extraction obtained similar Cq values. The LAMP protocols presented the same result. The LAMP-MPN showed good results when compared to conventional NMP, since there was no statistical difference between the techniques, demonstrating that the union is promissory and suggesting that it is possible to reduce the time to obtain results. However, reports of the union of techniques are still scarce in the literature. As for cost, the higher technical value of LAMP-MPN can be offset by the shorter time to maintain results.

Keywords: Isothermal Amplification, MPN-LAMP, microbiological control

1. INTRODUÇÃO

Há aproximadamente 12 mil anos o ser humano deu um grande passo em seu processo evolutivo com a Revolução Agrícola, quando passou a cultivar plantas e domesticar animais (HARARI, 2014). Desde então, a intensificação da produção animal cresceu juntamente com a demanda por alimentos. Na avicultura, por exemplo, não foi diferente. O alto investimento tecnológico permitiu atingir números extraordinários de produção nos últimos anos. No de 2021, no mundo todo foram produzidas 99.901 mil toneladas de carne de frango (ABPA, 2022). Entretanto, o modelo de criação de aves em confinamento e a alta densidade facilitam a instalação e a disseminação de doenças, por muitas vezes zoonóticas, acarretando riscos à saúde do consumidor, como é o caso das doenças de origem alimentar, também conhecidas como doenças de transmissão hídrica e alimentar – DTHA (ZANINELLI et al., 2019; MENDONÇA et al., 2011; COLLINS et al., 2004).

As doenças de origem alimentar são aquelas que resultam da ingestão de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos, parasitos, toxinas ou outros agentes tóxicos, como por exemplo, pesticidas (LIU, 2018). Além dos riscos à saúde, principalmente dos grupos mais vulneráveis (crianças, idosos e imunossuprimidos), estas doenças também trazem prejuízos aos sistemas de saúde de diversos países. A Organização Mundial de Saúde – OMS estima que todos os anos, 1 a cada 10 pessoas adoecem devido ao consumo de alimentos contaminados, gerando aproximadamente 600 milhões doentes e 420 mil mortes no mundo todo (PIRES et al., 2021; WHO et al., 2015). Levando-se em consideração o cenário pandêmico vivido nos últimos anos, pessoas com outros problemas de saúde ou doenças, encontraram dificuldades na busca por atendimento hospitalar, seja pelo medo de contaminação ou pela altas taxas de ocupação de leitos (FARIA, 2021).

Dentre os agentes patogênicos associados às DTHA, *Salmonella* spp. é protagonista de grande parte dos surtos. Acredita-se que mundialmente ela seja responsável por mais de 78 milhões de casos e cerca de 28 mil mortes todos os anos (MURREY et al., 2021; KIRK et al., 2015). A transmissão se dá principalmente pela ingestão de alimentos e água contaminados por fezes de

animais e pelo contato com animais domésticos e com o ambiente em que eles vivem (MURREY et al., 2021; HOELZER et al., 2011; BRYAN, 1978).

Dada a importância para a saúde pública, governos e indústria buscam criar programas para reduzir e até mesmo eliminar o patógeno dos alimentos. No Brasil, o Programa Nacional de Sanidade Avícola – PNSA (BRASIL, 2020) traz instruções normativas que abrangem diversos pontos da cadeia produtiva de aves. Já Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece os padrões microbiológicos para alimentos na forma em que serão ofertados para os consumidores. Enquanto nas indústrias há os programas de autocontrole tais como as boas práticas de fabricação – BPF e a análise de perigos e pontos críticos de controle – APPCC servem como ferramentas para garantir a produção de alimentos seguros.

Ainda hoje se faz necessário o desenvolvimento de ferramentas diagnósticas mais rápidas e com menor custo para o monitoramento dos patógenos nos diversos pontos da cadeia produtiva, visto que os métodos convencionais demandam tempo e muitos insumos para a sua realização (DE ANDRADE et al., 2021).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Panorama da avicultura brasileira

A avicultura brasileira se destaca no cenário mundial, sendo que em 2021, mesmo com todas as adversidades causadas pela pandemia, foram produzidas 14.329 mil toneladas de carne de frango, onde 4.610 mil foram destinadas à exportação, o que colocou o país como terceiro maior produtor e primeiro maior exportador deste produto (ABPA, 2022).

A produção de frangos de corte é distribuída por todo o território nacional, com destaque para a região sul, responsável por cerca de 64% da produção, seguida pela região sudeste, com aproximadamente 17% (ABPA, 2022). Cerca de 68% da produção nacional é destinada ao mercado interno (ABPA, 2022), sendo que a carne de frango é a mais consumida pelos brasileiros. Em 2021 foram 45,56 kg por habitante, a frente das carnes bovina com 26 Kg e suína com 16,7 kg (ABPA, 2022; CONAB, 2021). Diversos fatores podem explicar esta preferência, tais como seu baixo preço, quando comparada aos outros tipos de

7. Conclusão

As técnicas de extração por *beads* ou fervura e LAMP por kit colorimétrico ou *in house* apresentaram resultados satisfatórios e a escolha do método a ser utilizado dependerá do número de amostras e recursos financeiros e materiais disponíveis.

Os resultados do teste do NMP-LAMP foram robustos, sugerindo que é possível realizar a técnica em um tempo mais curto que o convencional. Entretanto a união destas duas técnicas ainda é pouco explorada, visto que há uma escassez de trabalhos abordando o tema. Em relação aos custos, a técnica de LAMP apresentou valores mais elevados quando comparados ao NMP convencional, mas diferença de valores para a técnica *in house* pode compensar pela obtenção de resultados em menos tempo.

Referências

ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2022**. Disponível em: <http://abpa-br.org/mercados/#relatorios>. Acesso em: 03 de maio de 2022.

AHADUZZAMAN, Md et al. A molecular based method for rapid detection of Salmonella spp. in poultry dust samples. **MethodsX**, v. 8, p. 101356, 2021.

BARANCELLI, Giovana Verginia; MARTIN, José Guilherme Prado; PORTO, Ernani. Salmonella em ovos: relação entre produção e consumo seguro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 19, n. 2, p. 73-82, 2012.

BARBAU-PIEDNOIR, Elodie et al. SYBR® Green qPCR Salmonella detection system allowing discrimination at the genus, species and subspecies levels. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 22, p. 9811-9824, 2013.

BARBOSA, Cristina et al. DNA extraction: finding the most suitable method. In: **Molecular microbial diagnostic methods**. Academic Press, 2016. p. 135-154.

BARROS, N. E. F.; OLIVEIRA, E. M. M.; MARIN, V. A. Aplicabilidade da metodologia de reação de polimerase em cadeia em tempo real na determinação do percentual de organismos geneticamente modificados em alimentos. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 85-92, jan./fev. 2008.

BERCHIERI JR, Â. et al. **Doenças das Aves**. 2ª Edição. Campinas: FACTA, 2009.

BLANC, Paloma Antunes; AZEREDO, Denise Perdomo. A segurança de alimentos no contexto do idoso. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 2, 2014.

BLODGETT, Robert. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. **BAM (Bacteriological Analytical Manual)**, 2010.

BOUKHAROUBA, Aya et al. Simultaneous Detection of Four Main Foodborne Pathogens in Ready-to-Eat Food by Using a Simple and Rapid Multiplex PCR (mPCR) Assay. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 3, p. 1031, 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos-PREBAF. **Manual de Procedimentos**. Primeira versão revisada, julho/2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). **Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA)**. [S. l.], 6 jan. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/programa-nacional-de-sanidade-avicola-pnsa>. Acesso em: 25 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil**. Informe 2022. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a->

z/d/dtha/arquivos/apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf/view. Acesso em: 03/08/2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016**. Brasília, DF, Nº 205, 25 de outubro de 2016. Seção 1, p13-16.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria De Vigilância Em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 56, de 4 de dezembro de 2007**. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, DF, 5 de dezembro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 78, de 03 de novembro de 2003**. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, DF, 5 nov. 2003.

BRYAN, Frank L. Factors that contribute to outbreaks of foodborne disease. **Journal of food protection**, v. 41, n. 10, p. 816-827, 1978.

BUNDIDAMORN, Damkerng; SUPAWASIT, Wannakarn; TREVANICH, Sudsai. A new single-tube platform of melting temperature curve analysis based on multiplex real-time PCR using EvaGreen for simultaneous screening detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli, Salmonella spp. and Listeria monocytogenes in food. **Food Control**, v. 94, p. 195-204, 2018.

CARDOSO, Angélica Cristina Roque. **Caracterização do perfil dos consumidores de carne de frango**. 2015. 79 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária, 2015.

CARDOZO, Stanislau Parreira et al. Identificação de Salmonella sp. em amostras de carcaças e ovos de frangos caipiras comercializados em feiras de Goiânia, Goiás. **Interação**, v. 21, n. 2, p. 49-60, 2021.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2019. **National Salmonella Surveillance**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html> . Acesso em: 22/10/2021.

CEOLIN, L. V.; LOVATO, M. Principais Enfermidades Infecciosas e Parasitárias em Perus. **O Boletim Informativo do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria**. Santa Maria, RS. Boletim Informativo Ano 6 - Número 6, outubro de 2012. p 11-18. 2012.

COLLINS, J. D.; WALL, P. G. Food safety and animal production systems: controlling zoonoses at farm level. **Revue Scientifique et Technique-Office International des Épizooties**, v. 23, n. 2, p. 685-700, 2004.

CORRÊA, D.F. Contaminação por Salmonella em Abatedouros de Aves, Programas de Prevenção e Pontos Críticos de Controle: Revisão de literatura. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade

Federal de Santa Catarina, Curitiba. CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **AgroConab**, Brasília, DF, v. 1, n. 9, out/nov. 2021.

COSTA, M. R.; MOURA, E. F. Manual de extração de DNA. **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2001.

DE ANDRADE, R. B. et al. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 741-750, 2021.

FARIA, A. Pandemia tem impacto em outras doenças. **Senado Federal**, 2021. Disponível em: <<https://www12.senado.leg.br/noticias/audios/2021/04/pandemia-tem-impacto-em-outras-doencas>>. Acesso em: 10 maio 2022.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2013.

GAST, Richard K.; PORTER JR, Robert E. Salmonella infections. **Diseases of poultry**, p. 717-753, 2020.

GONÇALVES, Daniela da Silva. **Deteção da bactéria Wolbachia em insetos através da técnica LAMP (amplificação isotérmica mediada por loop)**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2014.

GOUWS, Pieter A.; VISSER, Marinda; BRÖZEL, VOLKER S. A polymerase chain reaction procedure for the detection of *Salmonella* spp. within 24 hours. **Journal of food protection**, v. 61, n. 8, p. 1039-1042, 1998.

HARARI, Yuval Noah. **Sapiens: uma breve história da humanidade**. 38ª Edição. Porto Alegre: L&PM, 2018.

HOELZER, Karin; SWITT, Andrea Isabel Moreno; WIEDMANN, Martin. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. **Veterinary research**, v. 42, n. 1, p. 1-28, 2011.

HUANG, Chenxi et al. Development of a rapid *Salmonella* detection method via phage-conjugated magnetic bead separation coupled with real-time PCR quantification. **LWT**, v. 142, p. 111075, 2021.

KANITKAR, Yogendra H. et al. Most probable number with visual based LAMP for the quantification of reductive dehalogenase genes in groundwater samples. **Journal of microbiological methods**, v. 143, p. 44-49, 2017.

KIRK, Martyn D. et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. **PLoS medicine**, v. 12, n. 12, p. e1001921, 2015.

LIU, Dongyou (Ed.). **Handbook of foodborne diseases**. CRC Press, 2018.

LÖFSTRÖM, Charlotta et al. Detection of Salmonella in meat: comparative and interlaboratory validation of a noncomplex and cost-effective pre-PCR protocol. **Journal of AOAC International**, v. 95, n. 1, p. 100-104, 2012.

MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia Veterinária**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2016.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

MENDONÇA, Eliane Pereira. **Disseminação de Salmonella sp. na cadeia produtiva do frango de corte**. Orientador: Daise Aparecida Rosa. 2011. 84 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

MYINT, M. S. et al. The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated Salmonella in raw poultry compared to conventional culture. **Food microbiology**, v. 23, n. 6, p. 599-604, 2006.

MOMIN, Kasanchi M. et al. Development of a novel and rapid polymerase spiral reaction (PSR) assay to detect Salmonella in pork and pork products. **Molecular and cellular probes**, v. 50, p. 101510, 2020.

MORGADO, Michele E. et al. Climate change, extreme events, and increased risk of salmonellosis: foodborne diseases active surveillance network (FoodNet), 2004-2014. **Environmental Health**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2021.

MURRAY, Rianna T. et al. Prevalence of private drinking water wells is associated with salmonellosis incidence in Maryland, USA: An ecological analysis using foodborne diseases active surveillance network (FoodNet) data (2007–2016). **Science of The Total Environment**, v. 787, p. 147682, 2021.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 5ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2011.

NIESSEN, Ludwig et al. The application of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) in food testing for bacterial pathogens and fungal contaminants. **Food microbiology**, v. 36, n. 2, p. 191-206, 2013.

NOTOMI, T. et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. **Nucleic acids research**, v. 28, n. 12, p. e63-e63, 2000.

NUNES, Mariana de Lira. **Aplicação da técnica Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) no desenvolvimento de um teste para o diagnóstico da peste**. 2013. 74f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Departamento de Saúde Coletiva, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2013.

OLIVEIRA, MC de S. et al. Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase. **Embrapa Pecuária Sudeste-Livro científico (ALICE)**, 2007.

OLIVEIRA, S. D. et al. Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for Salmonella detection. **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, n. 4, p. 217-221, 2003.

PRABHAKAR, Parmanand et al. Performance evaluation of a selective-enrichment-isolation protocol for *Salmonella enterica* from seafood. **Journal of Microbiological Methods**, v. 180, p. 106120, 2021.

PIRES, Sara M. et al. Burden of foodborne diseases: think global, act local. **Current Opinion in Food Science**, 2021.

POSSEBON, Fabio Sossai et al. A fast and cheap in-house magnetic bead RNA extraction method for COVID-19 diagnosis. **Journal of Virological Methods**, v. 300, p. 114414, 2022.

RALL, Vera Lúcia Mores et al. Evaluation of three enrichment broths and five plating media for *Salmonella* detection in poultry. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 147-150, 2005.

RICHTER, Łukasz et al. Recent advances in bacteriophage-based methods for bacteria detection. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 2, p. 448-455, 2018.

RISTORI, C. A. et al. Quantificação de *Salmonella* spp. e avaliação dos dizeres de rotulagem de carcaças de frango congeladas comercializadas no Estado de São Paulo. BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista** (Online), v. 5, n. 52, p. 16-19, 2008.

SANTOS, R. DE L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2ª edição. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

SANTOS, Lilian Andriva dos. **Deteção e quantificação de *Salmonella* spp. na tecnologia de abate de frangos de corte**. 2014. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Ciências Biológicas) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2014.

SILVEIRA, Débora Rodrigues et al. Qualidade microbiológica de produtos de origem animal encaminhados para alimentação escolar. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, 2019.

SHINOHARA, N. K. S. et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 1675-1683, 2008.

TANNER, Nathan A.; ZHANG, Yinhua; EVANS JR, Thomas C. Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes. **Biotechniques**, v. 58, n. 2, p. 59-68, 2015.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2015.

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC)**. 2019. National *Salmonella* Surveillance. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html>>. Acesso em: 02/10/2021.

VON RÜCKERT, D. A. S. et al. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 326-330, 2009.

WALDMAN, Jéssica et al. Direct detection of *Salmonella* from poultry samples by DNA isothermal amplification. **British Poultry Science**, p. 1-7, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015**. World Health Organization, 2015.

XIE, Mei et al. Multiplex detection of foodborne pathogens by real-time loop-mediated isothermal amplification on a digital microfluidic chip. **Food Control**, p. 108824, 2022.

XU, Wenli et al. Establishment and application of polymerase spiral reaction amplification for Salmonella detection in food. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.29, N.10. p. 1543–1552, 2019.

YAMAGISHI, Junya et al. Comparison of boiling and robotics automation method in DNA extraction for metagenomic sequencing of human oral microbes. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0154389, 2016.

YAMATOGLI, R. S. et al. Qualitative and quantitative determination and resistance patterns of Salmonella from poultry carcasses. **Journal of food protection**, v. 79, n. 6, p. 950-955, 2016.

ZANINELLI, Rafael Lopes et al. Salmoneloses na produção avícola–revisão bibliográfica. **Ciência Veterinária UniFil**, v. 1, n. 3, p. 154-163, 2019.

ZHAO, Y. et al. Salmonella detection in powdered dairy products using a novel molecular tool. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 5, p. 3480-3496, 2017.

ZHAO, Xihong et al. Development and application of a rapid and simple loop-mediated isothermal amplification method for food-borne Salmonella detection. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 6, p. 1655-1659, 2010.

ZHENG, Qianwang et al. Comparison of enrichment broths for the recovery of healthy and heat-injured Salmonella typhimurium on raw duck wings. **Journal of food protection**, v. 76, n. 11, p. 1963-1968, 2013.