

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 26/10/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS (FCAV)
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE SOROVARES DE *Salmonella*
spp. ISOLADOS NA AVICULTURA POR WHOLE GENOME
SEQUENCING**

Valdinete Pereira Benevides

Bióloga

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS (FCAV)
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE SOROVARES DE *Salmonella*
spp. ISOLADOS NA AVICULTURA POR WHOLE GENOME
SEQUENCING**

Valdinete Pereira Benevides

Orientador: Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior

Coorientador: Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Microbiologia Agropecuária

2024

B465c Benevides, Valdinete Pereira
Caracterização genética de sorovares de Salmonella spp. isolados na avicultura por whole genome sequencing / Valdinete Pereira Benevides. -- Jaboticabal, 2024
131 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Angelo Berchieri Junior
Coorientador: Mauro de Mesquita Souza Saraiva

1. Salmonella. 2. Antimicrobianos. 3. Microbiologia. 4. Genes. 5. Bactérias Resistência a antibióticos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE SOROVARES DE *Salmonella* spp. ISOLADOS NA AVICULTURA POR WHOLE GENOME SEQUENCING

AUTORA: VALDINETE PEREIRA BENEVIDES

ORIENTADOR: ANGELO BERCHIERI JUNIOR

COORIENTADOR: MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA
Data: 29/04/2024 11:36:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisador Dr. MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Pesquisadora Dra. MONIQUE RIBEIRO TIBA CASAS (Participação Virtual)
Centro de Bacteriologia-Instituto Adolfo Lutz / São Paulo/SP



Documento assinado digitalmente
MONIQUE RIBEIRO TIBA CASAS
Data: 29/04/2024 13:28:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. JULIANA PFRIMER FALCÃO (Participação Virtual)
Departamento Análises Clínicas Toxicológicas e Bromatológicas / FCFRP USP R



Documento assinado digitalmente
JULIANA PFRIMER FALCAO
Data: 30/04/2024 11:34:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora Dra. NÚBIA MICHELLE VIEIRA DA SILVA (Participação Virtual)
Instituto Nacional do Semiárido - INSA / Campina Grande/PB



Documento assinado digitalmente
NUBIA MICHELLE VIEIRA DA SILVA
Data: 30/04/2024 23:07:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisador Dr. LUCAS BOCCHINI RODRIGUES ALVES (Participação Virtual)
Laboratório de Sanidade Animal (Seara/JBS) / Nuporanga/SP



Assinado de forma digital
por LUCAS BOCCHINI
RODRIGUES
ALVES:38121314801
Dados: 2024.05.01 15:18:47
-03'00'

Jaboticabal, 26 de abril de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Valdinete Pereira Benevides – Nascida em Riacho de Santana, Bahia, em 11 de dezembro de 1995, filha de Janete Maria Pereira e Valdivino Alves Benevides. Em 2013, ingressou em Biologia no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), obtendo o título de Bióloga em 2016. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica tendo desenvolvido projeto de pesquisa na área de Microbiologia, sob orientação da Prof. Dra. Patrícia Amoroso de Andrade e bolsista de iniciação a docência. Em agosto de 2017, ingressou no Mestrado na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal pelo Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Nº Processo: 2017/25743-7), sob orientação do Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior e coorientação da Dra. Marcela da Silva Rubio. Em 2019, ingressou no curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária sob orientação do Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior e coorientação do Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Jaboticabal, com bolsa de estudo da CAPES e FAPESP (Nº Processo: 2020/07018-6), com período sanduíche na University of Copenhagen, Department of Veterinary and Animal Sciences, Dinamarca, sob supervisão do Prof. Dr. John Ermedahl Olsen (Nº Processo BEPE/FAPESP: 2021/10285-9).

“Great things are not done by impulse, but by a series of small things brought together.”

Vincent Van Gogh

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que com sua infinita sabedoria, me deu saúde e força para superar as dificuldades.

A minha mãe (Janete M. P. Oliveira), cuja incansável dedicação e esforços inestimáveis foram a âncora que sustentou minha jornada educacional. A ela, meu eterno agradecimento por ser a luz que iluminou meu caminho, com muito amor e inspiração para me motivar a seguir em frente.

A minha irmã (Karina P. N. da Silva) pelo apoio, amor e por acreditar em mim desde o primeiro instante.

Aos meus padrinhos (Nina e Argemiro) e ao Edivaldo, pelo carinho, dedicação e pelas orações. Agradeço do fundo do coração por serem pilares essenciais em minha vida.

Ao meu pai de criação Luzimar Neves da Silva, expresso profunda gratidão pela inesgotável fonte de incentivo e por ser uma presença inspiradora, na qual contribuiu no meu crescimento.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte oferecido para o desenvolvimento do trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pela concessão de bolsa de Doutorado, processo nº 2020/07018-6 e bolsa de intercâmbio, processo nº 2021/10285-9.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária (Unesp, Universidade de São Paulo, Unesp, Campus Jaboticabal).

Ao meu estimado orientador Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior por sua orientação diligente desde o período do Mestrado. Agradeço sinceramente por todos os valiosos conselhos, pela paciência incansável, pelo apoio constante e pela convivência enriquecedora ao longo desses anos de colaboração acadêmica.

Ao Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva, meu coorientador dedicado, expresso minha profunda gratidão por sua orientação constante, especialmente nos

momentos desafiadores. Agradeço também por sua disposição em auxiliar sempre que necessário, fornecendo *insights* valiosos, nos quais foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao Prof. Dr. John Ermedahl Olsen e Prof. Dr. Henrik Christensen pela recepção, auxílio e suporta no meu período na Universidade of Copenhagen, Dinamarca. Agradeço por tornarem a minha eexperiência acadêmica memorável e cheia de aprendizagens.

As técnicas Tanja Kristiansen e Natasha Chanell Pedersen pela assistência no Department of Veterinary and Animal Sciences, Dinamarca.

Aos meus colegas do Laboratório de Ornitopatologia – UNESP/FCAV, que sempre estiveram ao meu lado compartilhando suas experiências de forma construtiva.

A Me. Adriana Maria de Almeida, que sempre me ajudou com sua experiência e conhecimento. Obrigada por ser uma fonte constante de inspiração e apoio.

Aos meus eternos amigos, Fabinho, Vitória, Dircelena e Fábio Pikunas, que são verdadeiramente como uma família para mim, não há palavras suficientes para expressar a profunda gratidão por todo o apoio e ajuda que me concederam ao longo desta jornada.

Aos meus queridos amigos Adriana Nazário, Lucas Bocchini, Alexandra Moya, Fernanda Barbosa, Isabella Campos, Viviane Ferreira, Túlio Spina, Giovanna Paschone, Thaís Codognoto, André Rabelo e Isís Kolososki pelo apoio incondicional e pelos preciosos momentos compartilhados ao longo desta jornada. Cada um de vocês contribuiu de maneira única para tornar essa caminhada mais significativa e repleta de lembranças especiais.

Aos meus amigos da University of Copenhagen e do intercâmbio, por tornarem minha experiência incrível. Em especial, Priscila Guerra, Anna Alencar, Jaqueline Gerhardt, Phillip Mercebach, Clara Tassinato, Joana Castro, Isabela Pinho e Mareliza Menezes. Obrigada por fazerem parte deste capítulo da minha vida e por cada momento compartilhado.

Aos funcionários do departamento de Patologia Veterinária e pós-graduação da Unesp-Jaboticabal.

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

SUMÁRIO

Resumo	iv
Abstract	vii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. Características e nomenclatura do gênero <i>Salmonella</i>	1
2. Salmonelose em avicultura e saúde pública	1
3. Caracterização genômica por <i>Whole Genome Sequencing</i> (WGS)	3
4. Resistência antimicrobiana em <i>Salmonella</i> spp.	4
5. Patogenicidade e virulência de <i>Salmonella</i> spp.	6
5.1. Diversidade genética e outros fatores de virulência relacionados com a especificidade e adaptação ao hospedeiro	8
6. Objetivos	10
6.1. Objetivo geral.....	10
6.2 Objetivos específicos	10
7. Referências	11
CAPÍTULO 2 – Genomic Features and Phylogenetic Analysis of Antimicrobial-Resistant <i>Salmonella</i> Mbandaka ST413 Strains ¹	17
1. Introduction.....	19
2. Materials and Methods	20
2.1. Sample Collection	20
2.2. Whole Genome Sequencing (WGS)	20
2.3. Downstream Bioinformatic Analyses.....	21
2.4. Data Availability and Accession Numbers.....	23
3. Results	23
3.1. Genome Assembly, Genome Annotation, and MLST	23
3.2. Antimicrobial Resistance Determinants	24
3.3. Plasmid Replicons and Homology to Published Plasmid Sequences	25
3.4. Analysis of SPIs and Virulence Determinants.....	27
3.5. Prophage Regions in Genomes of <i>S. Mbandaka</i>	31
3.6. Phylogenetic Insights into <i>S. Mbandaka</i>	32
4. Discussion	34
5. Conclusions	39
6. References	41

CAPÍTULO 3 – Genomic profiling of neglected <i>Salmonella enterica</i> serovars from poultry and human ¹	51
1. Introduction.....	52
2. Materials and methods	53
2.1. Bacterial strains	53
2.2. DNA Extraction and Whole-Genome Sequencing.....	54
2.3. Genomic analysis.....	55
2.4. Phylogenetic analysis	56
2.5. Data availability and accession numbers	56
3. Results	57
3.1. Genomic Sequencing, Genomic Annotation and Multilocus Sequence Typing	57
3.2. Selected sequences from genomic database	59
3.3. Antimicrobial resistance determinants	59
3.4. <i>Salmonella</i> pathogenicity islands.....	62
3.5. Plasmid replicons.....	63
3.6. Virulence factors	64
3.7. Phylogenetic Relationships of <i>Salmonella enterica</i> isolated from Brazil	68
4. Discussion	69
5. Conclusion.....	73
6. References	74
CAPÍTULO 4 – <i>Salmonella</i> Heidelberg isolates from poultry in Brazil and United States share a large number of resistance and virulence determinants ¹	85
1. Introduction.....	86
2. Material and methods	87
2.1. Bacterial genomes	87
2.2. Genome Sequencing and Data Processing	87
2.3. Genomic features analysis.....	88
2.4. Phylogenetic Relationships.....	88
2.5. Genomic Data Deposition	89
3. Result	89
3.1. Selection of sequences in genomic databases	89
3.2. Quality of genomic data	89
3.3. Antimicrobial resistance determinants	90

3.4. Distributions of SPIs and plasmid replicons	92
3.5. Phylogenetic Relationship.....	93
4. Discussion	95
5. Conclusion.....	100
6. References	101
CAPÍTULO 5 – Considerações Finais	108
APÊNDICES.....	110

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE SOROVARES DE *Salmonella* spp. ISOLADOS NA AVICULTURA POR WHOLE GENOME SEQUENCING

Resumo - As bactérias do gênero *Salmonella* são patógenos que podem infectar animais e seres humanos. Alguns sorovares de *Salmonella enterica* podem colonizar o trato gastrointestinal de aves de produção e se disseminarem pelo organismo sem provocar o aparecimento de sinais clínicos. Entretanto, a presença dessas bactérias, pode significar risco a saúde pública, tornando os alimentos de origem avícola potenciais fontes de infecção para os seres humanos. Pouco se sabe sobre os fatores associados à diversidade genética que podem contribuir para a adaptação e persistência de *Salmonella* spp. a um ou vários hospedeiros. Além disso, os métodos tradicionais de sorotipificação e identificação de marcadores genéticos no gênero *Salmonella* é laborioso e pode transcorrer por vários dias. Dessa forma, o presente estudo foi dividida em três manuscritos (capítulos 2-4). No capítulo 2 apresentamos características genômicas de seis estirpes brasileiras de *Salmonella* Mbandaka ST413 isoladas de granjas de postura comercial. Os genes de resistência mais frequentes foram *aac(6')-Iaa*, *sul1*, *qacE*, *bla_{OXA-129}*, *tet(B)* e *aadA1*, além de mutação no gene *parC* associada à resistência a quinolonas. Quatro dos seis genomas continham um plasmídeo IncHI2A de 112.960 pb, carreando genes de resistência a tetraciclina (*tetACDR*) e mercúrio (*mer*). A maioria das genomas também possuía a ilha genômica de *Salmonella* 1 (SGI1) e sete ilhas de patogenicidade (SPIs) relacionadas à virulência (SPIs 1-5, 9, and C63PI). A análise filogenética utilizando os seis novos genomas sequenciados em nosso estudo e mais 481 genomas do banco de dados de acesso público, mostrou que os isolados de origem Brasileira formaram clados bem definidos, relacionados a estirpes de humanos e alimentos, indicando sua importância epidemiológica e potencial para surtos alimentares. Esses resultados destacam que *S. Mbandaka* ST413 nesse estudo são resistentes a múltiplos antimicrobianos e carregam genes de virulência conservados, características que favorecem sua disseminação regional e global. No capítulo 3 realizamos uma análise genômica comparativa de quatro sorovares (*S. Schwarzengrund*, *S. Senftenberg*, *S. Saintpaul*, *S. Braenderup*) de 301 genomas de *Salmonella enterica* de humanos e

poultry, coletados do Enterobase, além de incluir dez novos genomas sequenciados de isolados de amostras fecais de galinhas poedeiras no Brasil entre 2016 e 2017. Utilizando análise de bioinformática foram preditos tipos de *Multilocus Sequence Typing* (MLST), *replicons* plasmidiais, genes de resistência antimicrobiana, além da predição dos fatores de virulência típicos implicados nos mecanismos de virulência de *Salmonella enterica* e alguns específicos que podem estar relacionados a adaptação ao hospedeiro. Identificamos 52 genes de resistência antimicrobiana, com 48% (25/52) compartilhados entre isolados de aves e humanos, 21,1% (11/52) exclusivos de aves e 30,7% (16/52) exclusivos de humanos. Mutações cromossômicas associadas aos genes *gyrA* e *parC* também foram previstas. Em todos os genomas foram identificados SPIs, algumas variando conforme o hospedeiro e sorovar (SPI 1–5, SPI 8–14, CS54 e C63PI). To the best of our knowledge, this is the first work to report *Salmonella* Braenderup carrying the SPI-10. SGI-1 foi detectada em alguns isolados de *S. Schwarzengrund* de isolados de aves e a ilha CS54 foi observada exclusivamente em genomas dos sorovares *S. Saintpaul* e *S. Braenderup*. Detectamos uma diversidade de replicons de plasmídeos, sendo o sorovar Saintpaul o menos diverso. Analisamos 271 genes de virulência, com 161 comuns a todos os sorovares e os demais distribuídos de forma distinta entre os sorovares analisados. Nosso estudo destaca o potencial de sorovares de *Salmonella enterica* negligenciados na avicultura que ameaçam a saúde pública devido à seu potencial de virulência e resistência a múltiplas moléculas antimicrobianas e de desinfetantes. No capítulo 4, foi realizada uma predição de características genômicas de *Salmonella* Heidelberg, um importante patógeno de origem alimentar em produtos avícolas resistentes à diferentes antimicrobianos, que pode causar infecções graves em humanos. Nesse estudo, analisamos 317 genomas de *S. Heidelberg* isoladas de aves do Brasil e Estados Unidos, incluindo 314 do banco de dados Enterobase e três novos genomas brasileiros sequenciados. Os principais genes de resistência encontrados foram *aac(6')-Iaa*, *fosA7*, *sul2*, *tet(A)* e *bla_{CMY-2}*. Foram detectadas mutações nos genes *gyrA* e *parC*, relacionados à resistência a quinolonas. Os replicons de plasmídeos mais comuns foram ColpVC, IncC, IncI1-I(Gamma) e IncX1. O estudo destaca a diversidade genômica de SH relacionados as maiores regiões de produtoras de frango do mundo e a necessidade de melhorar a vigilância para prevenir surtos por este patógeno. De

forma geral, foi demonstrado em nossos estudos a diversidade genômica desses sorovares de *Salmonella enterica* e sua capacidade de colonizar e se estabelecer em diversos nichos, incluindo humanos, animais e o ambiente. Essa plasticidade genética e potencial evolutivo representam preocupações de segurança alimentar e de saúde pública.

Palavras-chave: genes de virulência, resistência antimicrobiana, salmonelas paratíficas, WGS

GENETIC CHARACTERIZATION OF *Salmonella* spp. SEROTYPES ISOLATED FROM POULTRY BY WHOLE GENOME SEQUENCING.

Abstract – Bacteria of the genus *Salmonella* are pathogens that can infect animals and humans. Some serovars of *Salmonella enterica* can be installed in poultry, in the digestive tract, and be disseminated without causing the appearance of clinical signs. However, the presence of these bacteria can pose a risk to public health, making foods of poultry origin potential sources of infection for humans. Little is known about the factors associated with genetic diversity that may be contributing to the adaptation and persistence of *Salmonella* spp. to one or more hosts. Furthermore, traditional methods of serotyping and identification of genetic markers in the *Salmonella* genus are laborious and can take several days. This study was divided into three manuscripts (chapters 2-4). In Chapter 2, we present genomic characteristics of six Brazilian strains of *Salmonella* Mbandaka ST413 isolated from commercial layer farms. The most frequent resistance genes were *aac(6')-laa*, *sul1*, *qacE*, *bla_{OXA-129}*, *tet(B)*, and *aadA1*, along with a mutation in the *parC* gene associated with quinolone resistance. Four of six genomes contained a 112,960 bp IncHI2A plasmid carrying tetracycline resistance genes (*tetACDR*) and mercury resistance genes (*mer*). Most genomes also harbored the *Salmonella* genomic island 1 (SGI1) and seven *Salmonella* pathogenicity islands (SPIs) related to virulence (SPIs 1-5, 9, and C63PI). Phylogenetic analysis using the six newly sequenced genomes in our study and an additional 481 genomes from the public database showed that the Brazilian isolates formed well-defined clades, related to strains from humans and food, indicating their epidemiological importance and potential for foodborne outbreaks. These results highlight that *S. Mbandaka* ST413 in this study are resistant to multiple antimicrobials and carry conserved virulence genes, characteristics that favor their regional and global dissemination. In Chapter 3, we conducted a comparative genomic analysis of four serovars (*S. Schwarzengrund*, *S. Senftenberg*, *S. Saintpaul*, *S. Braenderup*) from 301 *Salmonella enterica* genomes from humans and poultry, collected from Enterobase. Additionally, we included ten newly sequenced genomes from isolates obtained from fecal samples of laying hens in Brazil between 2016 and 2017. Using bioinformatics analysis, we predicted Multilocus Sequence Typing (MLST) types, plasmid replicons, antimicrobial resistance genes, as well as typical virulence factors implicated in the virulence mechanisms of

Salmonella enterica and some specific factors that may be related to host adaptation. We identified 52 antimicrobial resistance genes, with 48% (25/52) shared between avian and human isolates, 21.1% (11/52) exclusive to avian isolates, and 30.7% (16/52) exclusive to human isolates. Chromosomal mutations associated with the *gyrA* and *parC* genes were also predicted. SPIs were identified in all genomes, with some variations depending on the host and serovar (SPI 1–5, SPI 8–14, CS54, and C63PI). To the best of our knowledge, this is the first study reporting *Salmonella* Braenderup carrying SPI-10. SGI-1 was detected in some isolates of *S. Schwarzengrund* from avian isolates, and the CS54 island was exclusively observed in genomes of the serovars *S. Saintpaul* and *S. Braenderup*. We detected a diversity of plasmid replicons, with the Saintpaul serovar being the least diverse. We analyzed 271 virulence genes, with 161 common to all serovars and the remainder distributed differently among the serovars analyzed. Our study highlights the potential of neglected *Salmonella enterica* serovars in poultry farming that pose a public health threat due to their virulence potential and resistance to multiple antimicrobial and disinfectant molecules. In Chapter 4, we conducted a prediction of genomic characteristics of *Salmonella* Heidelberg, an important foodborne pathogen in poultry products resistant to different antimicrobials, which can cause severe infections in humans. In this study, we analyzed 317 genomes of *S. Heidelberg* isolated from poultry in Brazil and the United States, including 314 from the Enterobase database and three newly sequenced Brazilian genomes. The main resistance genes found were *aac(6')-Iaa*, *fosA7*, *sul2*, *tet(A)*, and *bla_{CMY-2}*. Mutations in the *gyrA* and *parC* genes related to quinolone resistance were detected. The most common plasmid replicons were ColpVC, IncC, IncI1-I(Gamma), and IncX1. The study highlights the genomic diversity of *S. Heidelberg* related to the largest chicken-producing regions in the world and the need to improve surveillance to prevent outbreaks by this pathogen. Overall, our studies demonstrated the genomic diversity of these *Salmonella enterica* serovars and their ability to colonize and establish in various niches, including humans, animals, and the environment. This genetic plasticity and evolutionary potential represent concerns for food safety and public health.

Keywords: virulence genes, antimicrobial resistance, paratyphoidal salmonellosis, WGS

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Cadastro nº A28695F

Número do cadastro:	A28695F
Usuário:	UNESP
CPF/CNPJ:	48.031.918/0001-24
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético
Finalidade do Acesso:	Pesquisa

[illegible]

Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica
 Salmonella enterica

Título da Atividade: **Caracterização genética de sorovares de Salmonella spp. isoladas na avicultura por Whole Genome Sequencing**

Equipe

Valdinete Pereira Benevides	FCAV/UNESP
Mauro de Mesquita Souza Saraiva	FCAV/UNESP
Angelo Berchieri Junior	FCAV/UNESP

Parceiras no Exterior

University of Copenhagen

Envios de Amostra

Espécie:	Salmonella enterica
Tipo do Patrimônio Genético:	-
Forma do Patrimônio Genético:	Garrafa/frasco com meio de cultivo
Instituição Destinatária:	University of Copenhagen
Sede da Instituição Destinatária:	DEPARTMENT OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES, Faculty of Health and Medical Sciences
Espécie:	Salmonella enterica
Tipo do Patrimônio Genético:	-
Forma do Patrimônio Genético:	Garrafa/frasco com meio de cultivo
Instituição Destinatária:	University of Copenhagen
Sede da Instituição Destinatária:	DEPARTMENT OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES, Faculty of Health and Medical Sciences
Espécie:	Salmonella enterica
Tipo do Patrimônio Genético:	-

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Características e nomenclatura do gênero *Salmonella*

As bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos. Produzem sulfeto de hidrogênio (H₂S) e fermentam a glicose, mas não são capazes de fermentar lactose e sacarose. Quase a totalidade dos exemplares expressam flagelos e são móveis, com exceção de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Gallinarum biovars Gallinarum e Pullorum (Grimont et al., 2000).

Até o presente momento foram tipificados mais de 2.659 sorovares de *Salmonella* spp., dos quais cerca de 100 já foram isolados tanto em seres humanos quanto em animais (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). O gênero é dividido em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, sendo que a última abriga mais de 99% dos sorovares conhecidos. Por sua vez, *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies (subesp.): *S. enterica* subesp. *enterica*, *S. enterica* subesp. *salamae*, *S. enterica* subesp. *arizonae*, *S. enterica* subesp. *diarizonae*, *S. enterica* subesp. *houtenae*, *S. enterica* subesp. *indica*. Dentre estas, a subespécie *enterica* alberga aproximadamente 60% dos sorovares, a maioria dos quais causadores de infecções em inúmeros hospedeiros, entre humanos e animais (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014).

A complexidade para identificar os exemplares desse gênero é uma outra característica de *Salmonella* spp. As provas bioquímicas definem o gênero, enquanto que as provas antigênicas com base nos antígenos somáticos (O) e flagelares (H) determinam os sorovares (Grimont et al., 2000). Além disso, o antígeno de virulência ou capsular (Vi) pode ser identificado em sorovares específicos, como *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* e *S. Dublin* (Grimont e Weill, 2007).

5. Conclusion

Salmonella Heidelberg from Brazil and US share a large number of resistance genes, suggesting that this genetic material was possibly transferred from different geographic locations at some point. In addition, this serovar represents a public health threat since it might increase the risk of transmission of multi-resistance strains to humans and contaminated poultry products can play a role in these cases. Finally, our study provides genomic features of *S. Heidelberg* isolated from poultry from two of the largest chicken meat-producing countries and provides a background to prevent the spread of resistance genes.

Supplementary Materials

Table S1: Metadata for the 317 *Salmonella* Heidelberg genomes retrieved from the Enterobase database to perform genomic analysis in this study.

Author Contributions

Study conception and design, V.P.B, M.M.S.S., J.E.O., and A.B.J.; acquisition of data, analysis, and interpretation of data, V.P.B., M.M.S.S., I.C.C, S.R.S, V.F.O.M, A.M.A., H.C., and J.E.O.; drafting of the manuscript, V.P.B., M.M.S.S., I.C.C., S.R.S, and J.E.O.; supervision and critical revision, M.M.S.S., P.R.G, A.B.J., H.C., and J.E.O. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This research was funded by the São Paulo Research Foundation (FAPESP) [Grant Number 2020/07018-6 and 2021/10285-9 (Valdinete Pereira Benevides)]. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Acknowledgments

The Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Copenhagen is acknowledged for supporting the work. We are grateful to technicians Tanja Kristiansen and Natasha Chanell Pedersen for their excellent assistance. We also

thank Dra. Monique Ribeiro Tiba Casas of the Adolf Lutz Institute for their sampling and typification of *Salmonella* Heidelberg strains in our previous works.

Conflict of interest

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

6. References

- [1] U. United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Services, "Livestock and Poultry: World Markets and Trade.," p. 2024.
- [2] L.A. Hughes, S. Shopland, P. Wigley, et al., "Characterisation of *Salmonella* enterica serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005 – 2006.," *BMC Veterinary Research*. vol. 4, no. 1, p. 4, 2008.
- [3] D. Voss-Rech, C.S.L. Vaz, L. Alves, et al., "A temporal study of *Salmonella* enterica serotypes from broiler farms in Brazil.," *Poultry Science*. vol. 94, no. 3, pp. 433–441, 2015.
- [4] K. Yousfi, V. Usongo, C. Berry, et al., "Source Tracking Based on Core Genome SNV and CRISPR Typing of *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg Isolates Involved in Foodborne Outbreaks in Québec, 2012.," *Frontiers in Microbiology*. vol. 11, p. 1317, 2020.
- [5] D. Kipper, R.H. Orsi, L.M. Carroll, et al., "Recent Evolution and Genomic Profile of *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg Isolates from Poultry Flocks in Brazil.," *Applied and Environmental Microbiology*. vol. 87, no. 21, pp. e01036-21, 2021.
- [6] J.P. Folster, G. Pecic, A. Singh, et al., "Characterization of Extended-Spectrum Cephalosporin–Resistant *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg Isolated from Food Animals, Retail Meat, and Humans in the United States 2009." *Foodborne Pathogens and Disease*. vol. 9, no. 7, pp. 638–645, 2012.
- [7] A.I.S. Souza, M.M.S. Saraiva, M.R.T. Casas, et al., "High occurrence of β -lactamase-producing *Salmonella* Heidelberg from poultry origin.," *PLOS ONE*. vol. 15, no. 3, p. e0230676, 2020.
- [8] L. Deblais, B. Lorentz, J. Scaria, et al., "Comparative Genomic Studies of *Salmonella* Heidelberg Isolated From Chicken- and Turkey-Associated Farm Environmental Samples.," *Frontiers in Microbiology*. vol. 9, p. 1841, 2018.
- [9] N.-F. Alikhan, Z. Zhou, M.J. Sergeant, and M. Achtman, "A genomic overview of the population structure of *Salmonella*..," *PLOS Genetics*. vol. 14, no. 4, p. e1007261, 2018.

- [10] Z. Zhou, N.-F. Alikhan, K. Mohamed, Y. Fan, the Agama Study Group, and M. Achtman, "The Enterobase user's guide, with case studies on *Salmonella* transmissions, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia* core genomic diversity." *Genome Research*. vol. 30, no. 1, pp. 138–152, 2020.
- [11] M. Achtman, Z. Zhou, N.-F. Alikhan, et al., "Genomic diversity of *Salmonella enterica* -The UoWUCC 10K genomes project.," *Wellcome Open Research*. vol. 5, p. 223, 2021.
- [12] S. Andrews, "FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.," p. 2010.
- [13] A.M. Bolger, M. Lohse, and B. Usadel, "Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data.," *Bioinformatics*. vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120, 2014.
- [14] R.R. Wick, L.M. Judd, C.L. Gorrie, and K.E. Holt, "Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads.," *PLOS Computational Biology*. vol. 13, no. 6, p. e1005595, 2017.
- [15] R.K. Aziz, D. Bartels, A.A. Best, et al., "The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology.," *BMC Genomics*. vol. 9, no. 1, p. 75, 2008.
- [16] V. Bortolaia, R.S. Kaas, E. Ruppe, et al., "ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes.," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. vol. 75, no. 12, pp. 3491–3500, 2020.
- [17] E. Zankari, R. Allesøe, K.G. Joensen, L.M. Cavaco, O. Lund, and F.M. Aarestrup, "PointFinder: a novel web tool for WGS-based detection of antimicrobial resistance associated with chromosomal point mutations in bacterial pathogens.," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. vol. 72, no. 10, pp. 2764–2768, 2017.
- [18] A. Carattoli, E. Zankari, A. García-Fernández, et al., "In Silico Detection and Typing of Plasmids using PlasmidFinder and Plasmid Multilocus Sequence Typing." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. vol. 58, no. 7, pp. 3895–3903, 2014.
- [19] L. Roer, R.S. Hendriksen, P. Leekitcharoenphon, et al., "Is the Evolution of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Linked to Restriction-Modification Systems?" *mSystems*. vol. 1, no. 3, pp. e00009-16, 2016.
- [20] T. Seemann, "Prokka: rapid prokaryotic genome annotation.," *Bioinformatics*. vol. 30, no. 14, pp. 2068–2069, 2014.
- [21] A.J. Page, C.A. Cummins, M. Hunt, et al., "Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis.," *Bioinformatics*. vol. 31, no. 22, pp. 3691–3693, 2015.
- [22] K. Katoh and D.M. Standley, "MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability.," *Molecular Biology and Evolution*. vol. 30, no. 4, pp. 772–780, 2013.

- [23] B.Q. Minh, H.A. Schmidt, O. Chernomor, et al., "IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era.," *Molecular Biology and Evolution*. vol. 37, no. 5, pp. 1530–1534, 2020.
- [24] D.T. Hoang, O. Chernomor, A. von Haeseler, B.Q. Minh, and L.S. Vinh, "UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation.," *Molecular Biology and Evolution*. vol. 35, no. 2, pp. 518–522, 2018.
- [25] S. Kalyaanamoorthy, B.Q. Minh, T.K.F. Wong, A. von Haeseler, and L.S. Jermini, "ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates.," *Nature Methods*. vol. 14, no. 6, pp. 587–589, 2017.
- [26] I. Letunic and P. Bork, "Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation.," *Nucleic Acids Research*. vol. 49, no. W1, pp. W293–W296, 2021.
- [27] E. Hofer, S.J.D. Silva Filho, and E.M.F.D. Reis, "Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil.," *Pesquisa Veterinária Brasileira*. vol. 17, no. 2, pp. 55–62, 1997.
- [28] C.F. Smyser, N. Adinarayanan, H.V. Roekel, and G.H. Snoeyenbos, "Field and Laboratory Observations on *Salmonella* Heidelberg Infection in Three Chicken Breeding Flocks.," *Avian Diseases*. vol. 10, no. 3, p. 314, 1966.
- [29] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), *An Atlas of Salmonella in the United States, 1968-2011. Laboratory-based Enteric Disease Surveillance*, Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, 2013.
- [30] J.A.F.F. Finger, W.S.G.V. Baroni, D.F. Maffei, D.H.M. Bastos, and U.M. Pinto, "Overview of Foodborne Disease Outbreaks in Brazil from 2000 to 2018.," *Foods*. vol. 8, no. 10, p. 434, 2019.
- [31] S. Secretaria de Vigilância em Saúde, "Doenças transmitidas por alimentos.," p. 2019.
- [32] R.A.C. Penha Filho, J.C. Ferreira, A.M.I. Kanashiro, A. Berchieri Junior, and A.L.D.C. Darini, "Emergent multidrug-resistant nontyphoidal *Salmonella* serovars isolated from poultry in Brazil coharboring blaCTX-M-2 and qnrB or blaCMY-2 in large plasmids.," *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. vol. 95, no. 1, pp. 93–98, 2019.
- [33] A. Oladeinde, Z. Abdo, M.O. Press, et al., "Horizontal Gene Transfer Is the Main Driver of Antimicrobial Resistance in Broiler Chicks Infected with *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg.," *mSystems*. vol. 6, no. 4, pp. e00729-21, 2021.
- [34] M. Fernández-Martínez, E. Miró, A. Ortega, et al., "Molecular identification of aminoglycoside-modifying enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* resistant to amoxicillin/clavulanic acid isolated in Spain.," *International Journal of Antimicrobial Agents*. vol. 46, no. 2, pp. 157–163, 2015.

- [35] S. Magnet, P. Courvalin, and T. Lambert, "Activation of the Cryptic *aac(6')*-ly Aminoglycoside Resistance Gene of *Salmonella* by a Chromosomal Deletion Generating a Transcriptional Fusion.," *Journal of Bacteriology*. vol. 181, no. 21, pp. 6650–6655, 1999.
- [36] S.J. Salipante, "Determining the Limits of the Evolutionary Potential of an Antibiotic Resistance Gene.," *Molecular Biology and Evolution*. vol. 20, no. 4, pp. 653–659, 2003.
- [37] L. Hu, G. Cao, E.W. Brown, et al., "Antimicrobial resistance and related gene analysis of *Salmonella* from egg and chicken sources by whole-genome sequencing.," *Poultry Science*. vol. 99, no. 12, pp. 7076–7083, 2020.
- [38] E. Van Duijkeren, C. Schwarz, D. Bouchard, et al., "The use of aminoglycosides in animals within the EU: development of resistance in animals and possible impact on human and animal health: a review.," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. vol. 74, no. 9, pp. 2480–2496, 2019.
- [39] M.A. Rehman, X. Yin, M.G. Persaud-Lachhman, and M.S. Diarra, "First Detection of a Fosfomycin Resistance Gene, *fosA7*, in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg Isolated from Broiler Chickens." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. vol. 61, no. 8, pp. e00410-17, 2017.
- [40] D.F. Monte, N. Lincopan, H. Berman, et al., "Genomic Features of High-Priority *Salmonella enterica* Serovars Circulating in the Food Production Chain, Brazil, 2000–2016.," *Scientific Reports*. vol. 9, no. 1, p. 11058, 2019.
- [41] A.B.S. Saidenberg, L.S. Franco, J.N. Reple, et al., "*Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Minnesota in Brazilian broilers: Genomic characterization of third-generation cephalosporin and fluoroquinolone-resistant strains." *Environmental Microbiology Reports*. vol. 15, no. 2, pp. 119–128, 2023.
- [42] M. Lysitsas, I. Chatzipanagiotidou, C. Billinis, and G. Valiakos, "Fosfomycin Resistance in Bacteria Isolated from Companion Animals (Dogs and Cats).," *Veterinary Sciences*. vol. 10, no. 5, p. 337, 2023.
- [43] M.R. Tiba-Casas, C.H. Camargo, F.B. Soares, Y. Doi, and S.A. Fernandes, "Emergence of CMY-2-Producing *Salmonella* Heidelberg Associated with IncI1 Plasmids Isolated from Poultry in Brazil." *Microbial Drug Resistance*. vol. 25, no. 2, pp. 271–276, 2019.
- [44] J. Campos, J. Mourão, L. Silveira, et al., "Imported poultry meat as a source of extended-spectrum cephalosporin-resistant CMY-2-producing *Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Minnesota in the European Union, 2014–2015.," *International Journal of Antimicrobial Agents*. vol. 51, no. 1, pp. 151–154, 2018.
- [45] M. Anjum, J.S. Madsen, J. Nesme, et al., "Fate of CMY-2-Encoding Plasmids Introduced into the Human Fecal Microbiota by Exogenous *Escherichia coli*." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. vol. 63, no. 5, pp. e02528-18, 2019.

- [46] G.A. Jacoby, "AmpC β -Lactamases." *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 22, no. 1. pp. 161-182, 2009.
- [47] Health Services Surveillance and Monitoring Office, Health Services General Office, and Brazilian Health Regulatory Agency, "National Plan for Antimicrobial Resistance Prevention and Control in Health Services.," p. 2017.
- [48] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA), and European Medicines Agency (EMA), "ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals.," *EFSA Journal*. vol. 15, no. 7, p. 2017.
- [49] D.F.M. Monte, M.A. Nethery, H. Berman, S. Keelara, N. Lincopan, P.J. Fedorka-Cray, R. Barrangou, M. Landgraf, "Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats Genotyping of Multidrug-Resistant *Salmonella* Heidelberg Strains Isolated From the Poultry Production Chain Across Brazil," *Frontiers in Microbiology*, vol. 13, p. 867278, 2022.
- [50] L. Sielski Galvão Soares, T. Casella, E.K. Kawagoe, V. Benetti Filho, W.P. Omori, M.C.L. Nogueira, G. Wagner, R. Rodrigues de Oliveira, S.R. Stahlhofer, F. Antunes Ferreira, E.C. Tondo, J. De Dea Lindner, "Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of *Salmonella* Heidelberg in the south of Brazil," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 391-393, p. 110151, 2023.
- [51] F.P. Vilela, P.F. Brandão, D.R. Souza, R. Timm, P.R.F. Salvarani, D. Bernardi, E.M. Lopes, M.T. Medeiros, M. Frazzon, A.S. Dias, "Genomic analyses of drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg strains isolated from meat and related sources between 2013 and 2017 in the south region of Brazil," *Current Genetics*, vol. 69, no. 2-3, pp. 141-152, 2023.
- [52] Brasil, "Instrução Normativa nº 26, de 09 de julho de 2009," https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/legislacao/copy_of_INSTRUONORMATIVAN26DE9DEJULHODE2009.pdf, (2009).
- [53] Y.-Y. Liu, Y. Wang, T.R. Walsh, et al., "Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study.," *The Lancet Infectious Diseases*. vol. 16, no. 2, pp. 161–168, 2016.
- [54] L.M. Carroll, A. Gaballa, C. Guldemann, G. Sullivan, L.O. Henderson, and M. Wiedmann, "Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene *mcr-9* in a Multidrug-Resistant, Colistin-Susceptible *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Isolate." *mBio*. vol. 10, no. 3, pp. e00853-19, 2019.

- [55] U. Binsker, A. Käsbohrer, and J.A. Hammerl, "Global colistin use: a review of the emergence of resistant *Enterobacterales* and the impact on their genetic basis." *FEMS Microbiology Reviews*. vol. 46, no. 1, p. fuab049, 2022.
- [56] E.L. Leite, W.J. Araújo, T.R. Vieira, et al., "First reported genome of an *mcr-9*-mediated colistin-resistant *Salmonella* Typhimurium isolate from Brazilian livestock.," *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. vol. 23, pp. 394–397, 2020.
- [57] Luo, Q., Yu, W., Zhou, K., Guo, L., Shen, P., Lu, H., et al., "Molecular epidemiology and colistin resistant mechanism of *mcr*-positive and *mcr*-negative clinical isolated *Escherichia coli*," *Frontiers in Microbiology*, vol. 8, p. 2262, 2017.
- [58] L.M. Carroll, A. Gaballa, C. Guldemann, G. Sullivan, L.O. Henderson, M. Wiedmann, "Identification of Novel Mobilized Colistin Resistance Gene *mcr-9* in a Multidrug-Resistant, Colistin-Susceptible *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Isolate," *mBio*, vol. 10, p. e00853-19, 2019.
- [59] X. Wang, Z. Ling, N. Sun, Y. Liu, J. Huang, L. Wang, "Molecular genetic characteristics of *mcr-9*-harbouring *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolated from raw milk," *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 57, p. 106332, 2021.
- [60] J. Fan, et al., "Molecular genetic characteristics of plasmid-borne *mcr-9* in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and Thompson in Zhejiang, China," *Frontiers in Microbiology*, vol. 13, p. 852434, 2022.
- [61] N. Kieffer, G. Royer, J. Decousser, A. Bourrel, M. Palmieri, J. Ortiz De La Rosa, H. Jacquier, E. Denamur, P. Nordmann, L. Poirel, "*mcr-9*, an Inducible Gene Encoding an Acquired Phosphoethanolamine Transferase in *Escherichia coli*, and Its Origin," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 63, p. e00965-19, 2019.
- [62] World Health Organization (WHO), "WHO List of Medically Important Antimicrobials," https://cdn.who.int/media/docs/default-source/gcp/who-mia-list-2024-iv.pdf?sfvrsn=3320dd3d_2, (2024).
- [63] M.E. Velazquez-Meza, M. Galarde-López, B. Carrillo-Quiróz, and C.M. Alpuche-Aranda, "Antimicrobial resistance: One Health approach.," *Veterinary World*. pp. 743–749, 2022.
- [64] Brasil, "Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016," http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro_ged/pdf/2489_GED.pdf, (2016).
- [65] R. Misra, R. Thakare, N. Amrin, K.N. Prasad, S. Chopra, and T.N. Dhole, "Antimicrobial susceptibility pattern and sequence analysis of DNA gyrase and DNA topoisomerase IV in *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A isolates with decreased susceptibility to ciprofloxacin." *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. vol. 110, no. 8, pp. 472–479, 2016.

- [66] S. Baker, P.T. Duy, T.V.T. Nga, et al., "Fitness benefits in fluoroquinolone-resistant *Salmonella* Typhi in the absence of antimicrobial pressure.," *eLife*. vol. 2, p. e01229, 2013.
- [67] S. Neuert, S. Nair, M.R. Day, et al., "Prediction of Phenotypic Antimicrobial Resistance Profiles From Whole Genome Sequences of Non-typhoidal *Salmonella enterica*.,," *Frontiers in Microbiology*. vol. 9, p. 592, 2018.
- [68] M. de M.S. Saraiva, V.P. Benevides, N.M.V. da Silva, et al., "Genomic and Evolutionary Analysis of *Salmonella enterica* Serovar Kentucky Sequence Type 198 Isolated From Livestock In East Africa.,," *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. vol. 12, p. 772829, 2022.
- [69] M. Barlow, "What Antimicrobial Resistance Has Taught Us About Horizontal Gene Transfer.,," In: M.B. Gogarten, J.P. Gogarten, and L.C. Olendzenski, Eds. *Horizontal Gene Transfer*. pp. 397–411. Humana Press, Totowa, NJ (2009).
- [70] E. Cabezón, J. Ripoll-Rozada, A. Peña, F. de la Cruz, and I. Arechaga, "Towards an integrated model of bacterial conjugation.,," *FEMS Microbiology Reviews*. vol. 39, no. 1, pp. 81–95, 2015.
- [71] T. Ball, D. Monte, A. Aidara-Kane, et al., "International lineages of *Salmonella enterica* serovars isolated from chicken farms, Wakiso District, Uganda.,," *PLOS ONE*. vol. 15, no. 1, p. e0220484, 2020.
- [72] S.J. Ambrose, C.J. Harmer, and R.M. Hall, "Evolution and typing of IncC plasmids contributing to antibiotic resistance in Gram-negative bacteria.,," *Plasmid*. vol. 99, pp. 40–55, 2018.
- [73] B. Coburn, G.A. Grassl, and B.B. Finlay, "*Salmonella*, the host and disease: a brief review." *Immunology & Cell Biology*. vol. 85, no. 2, pp. 112–118, 2007.
- [74] I. Rychlik, D. Karasova, A. Sebkova, et al., "Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis for chickens.,," *BMC Microbiology*. vol. 9, no. 1, p. 268, 2009.
- [75] M.M.C. Buckner, M. Croxen, E.T. Arena, and B.B. Finlay, "A comprehensive study of the contribution of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium SPI2 effectors to bacterial colonization, survival, and replication in typhoid fever, macrophage, and epithelial cell infection models." *Virulence*. vol. 2, no. 3, pp. 208–216, 2011.
- [76] J.R. Elder, N.C. Paul, R. Burin, J. Guard, and D.H. Shah, "Genomic organization and role of SPI-13 in nutritional fitness of *Salmonella*.,," *International Journal of Medical Microbiology*. vol. 308, no. 8, pp. 1043–1052, 2018.
- [77] L. Jiang, L. Feng, B. Yang, et al., "Signal transduction pathway mediated by the novel regulator LoiA for low oxygen tension induced *Salmonella* Typhimurium invasion.,," *PLOS Pathogens*. vol. 13, no. 6, p. e1006429, 2017.

- [78] J.C. Velásquez, A.A. Hidalgo, N. Villagra, C.A. Santiviago, G.C. Mora, and J.A. Fuentes, "SPI-9 of *Salmonella enterica* serovar Typhi is constituted by an operon positively regulated by RpoS and contributes to adherence to epithelial cells in culture.," *Microbiology*. vol. 162, no. 8, pp. 1367–1378, 2016.
- [79] C. Latasa, A. Roux, A. Toledo-Arana, et al., "BapA, a large secreted protein required for biofilm formation and host colonization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis." *Molecular Microbiology*. vol. 58, no. 5, pp. 1322–1339, 2005.
- [80] Mkangara, M. (2023). Prevention and Control of Human *Salmonella enterica* Infections: An Implication in Food Safety. *International Journal of Food Science*, 2023, 8899596. DOI: 10.1155/2023/8899596.
- [81] Voss-Rech, D., Kramer, B., Santiago Silva, V., Rebelatto, R., Abreu, P. G., Coldebella, A., & Luiz Vaz, C. S. (2019). Longitudinal study reveals persistent environmental *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broiler farms. *Veterinary Microbiology*, 233, 118-123. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.04.004.
- [82] ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. (2023). Relatório Anual 2023. Recuperado de <https://abpa-br.org/abpa-relatorio-anual/>.