

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 20/08/2027

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**UTILIZAÇÃO DE CULTIVOS SERIADOS DE CONTEÚDO
CECAL DE AVES COMERCIAIS ADULTAS PARA PREVENIR
A INFECÇÃO DE AVES JOVENS POR *Salmonella*
SOROTIPOS A, B E C**

Isis Mari Miyashiro Kolososki

Médica Veterinária

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**UTILIZAÇÃO DE CULTIVOS SERIADOS DE CONTEÚDO
CECAL DE AVES COMERCIAIS ADULTAS PARA PREVENIR
A INFECÇÃO DE AVES JOVENS POR *Salmonella*
SOROTIPOS A, B E C**

Isis Mari Miyashiro Kolososki

Orientador: Prof. Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

FICHA CATALOGRÁFICA

K81u	<p>Kolososki, Isis Mari Miyashiro</p> <p>Utilização de cultivos seriados de conteúdo cecal de aves comerciais adultas para prevenir a infecção de aves jovens por Salmonella sorotipos A, B e C / Isis Mari Miyashiro Kolososki. -- Jaboticabal, 2026</p> <p>127 p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Mauro de Mesquita Souza Saraiva</p> <p>1. Salmonella. 2. Avicultura. 3. Microbiota. I. Título.</p>
------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: UTILIZAÇÃO DE CULTIVOS SERIADOS DE CONTEÚDO CECAL DE AVES COMERCIAIS ADULTAS PARA PREVENIR A INFECÇÃO DE AVES JOVENS POR *Salmonella* SOROTIPOS A, B E C

AUTORA: ISIS MARI MIYASHIRO KOLOSOSKI

ORIENTADOR: MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, área: Saúde Única pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA
Data: 21/02/2026 15:47:12 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
gov.br ALEXANDRE LEMOS DE BARROS MOREIRA FILHO
Data: 23/02/2026 14:54:59 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. ALEXANDRE LEMOS DE BARROS MOREIRA FILHO (Participação Virtual)
Departamento de Ciência Animal / Universidade Federal da Paraíba (UFPB) - Bananeiras/PB

Documento assinado digitalmente
gov.br ELMA LIMA LEITE
Data: 23/02/2026 12:57:38 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pós-Doutoranda ELMA LIMA LEITE (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / IBILCE UNESP São José do Rio Preto/SP

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2026.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Isis Mari Miyashiro Kolososki - nascida na cidade de Peruíbe, São Paulo, em 11 de agosto de 2000, filha de Noemi Miyashiro e Evandro Kolososki Ribeiro. Ingressou no curso de Medicina Veterinária (Bacharelado) pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" no ano de 2019. Durante a graduação, realizou treinamentos na FCAV/UNESP - Jaboticabal nas linhas de pesquisa de Obstetrícia (2019), Bovinocultura de Leite (2021), Ictiopatologia (2021), Ornitopatologia (2022); foi Integrante do Grupo de Estudos em Patologia Veterinária (GPAV) da FCAV/UNESP - Jaboticabal, (2021-2022) e coordenadora da Semana de Ciência e Tecnologia em Agropecuária (SECITAP) da FCAV/UNESP - Jaboticabal (2022). Em 2021 realizou treinamento no Instituto de Zootecnia (IZ), unidade de Sertãozinho - SP. Em 2023, realizou estágio no Instituto Biológico, unidade de Descalvado -SP, na empresa Cobb-Vantress LTDA. e na instituição Mercolab Laboratórios LTDA., como parte do estágio curricular obrigatório. Em 2024, ingressou no mestrado na FCAV/UNESP - Jaboticabal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob orientação dos docentes Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior e Prof. Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva.

EPÍGRAFE

“Diga-me, o que você planeja fazer com a sua vida, selvagem,
preciosa e única?”

- *Mary Oliver, O Dia de Verão*

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta etapa importante do meu desenvolvimento profissional não seria possível sem o apoio incondicional e a contribuição de pessoas essenciais em minha vida. Primeiramente, a Deus, pela infinita sabedoria que guiou meus passos, abrindo e fechando as portas necessárias para a concretização deste projeto.

Agradeço, imensamente, aos meus amados pais, Evandro e Noemi, e ao Luciano, por serem o meu alicerce. Por todo o incentivo e a inestimável confiança que depositaram em mim ao longo de todos esses anos.

Dedico, também, minha gratidão à minha irmã e melhor amiga, Lara, por ser a força que me manteve firme, pela parceria de uma vida inteira e por compartilhar comigo, com a mesma intensidade, cada momento de alegria e superação.

Meu agradecimento se estende ao meu parceiro, André, por ser o porto seguro, o constante incentivo e o companheiro que me inspira a cultivar o melhor de mim.

Agradeço, profundamente, aos Professores Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva e Dr. Angelo Berchieri Junior, pela confiança em meu potencial, pela inestimável paciência e, principalmente, pelos conhecimentos e ensinamentos transmitidos que foram fundamentais para a execução e o sucesso deste trabalho.

Agradeço às instituições de fomento, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; nº de processo 2024/05450-9) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), cujos apoios financeiros possibilitaram o desenvolvimento desta pesquisa.

Por fim, minha gratidão à toda a equipe do Laboratório de Ornitopatologia, pela indispensável colaboração, pelo companheirismo e pelo auxílio técnico dedicado na execução do meu projeto, especialmente ao Heitor Leocádio de Souza Rodrigues que compartilhou cada segundo dessa jornada comigo.

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

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iv
COMPROVANTE DE CADASTRO DE ACESSO NO SISGEN	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
CAPITULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo Geral	2
2.2. Objetivos Específicos	2
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3.1. Avicultura comercial e utilização de antimicrobianos	3
3.2. Salmoneloses.....	6
3.3. Moduladores de microbiota intestinal como alternativa ao uso de antimicrobianos na avicultura	8
3.4. Microbiota cecal de aves comerciais	12
4. REEFERÊNCIAS	15
¹ CAPÍTULO 2 - Competitive exclusion strategies utilizing healthy caecal microbiota impair <i>Salmonella enterica</i> serovars colonization in broilers	25
Abstract	26
Introduction	26
Material and Methods	28
<i>Bacterial strains</i>	28
<i>Caecal faeces serial dilutions</i>	29
<i>Experimental design</i>	29

<i>In vivo experimental conditions</i>	28
<i>Faecal excretion</i>	30
<i>Statistical analysis</i>	31
<i>Bioinformatic analysis</i>	31
Results.....	32
<i>Culture of caecal faeces analyses</i>	32
<i>Faecal excretion</i>	32
<i>Caecal colonisation and systemic infection</i>	34
<i>Analysis of SPIs, MLST, and virulence factors</i>	36
Discussion	38
Conclusion	41
Acknowledgements	41
Funding.....	42
Disclosure Statement	42
References	42
Supplementary Material 1.....	50
CAPÍTULO 3 - SCFA-producing taxa enriched by competitive exclusion cultures can drive resistance to non-typhoidal <i>Salmonella</i> colonization in broilers	51
Abstract	52
Graphical Abstract.....	53
Introduction	54
Material and Methods.....	55
<i>Ethics Statement</i>	55
<i>Bacterial strains</i>	56
<i>Cecal feces serial dilutions</i>	56

<i>Experimental design</i>	56
<i>In vivo experimental conditions</i>	57
<i>Fecal excretion</i>	57
<i>Cecal colonization and systemic infection</i>	57
<i>Microbiome DNA extraction and sequencing</i>	57
<i>Bioinformatics analysis</i>	58
<i>Statistical analysis</i>	58
Results.....	60
<i>Fecal excretion</i>	60
<i>Cecal colonization and systemic infection</i>	61
<i>Bioinformatic analysis</i>	62
<i>Diversity and Microbial Composition of Treatments</i>	63
<i>Microbial Ecology of Cecum</i>	65
<i>Diferencial Abundance</i>	68
<i>Cecal Diversity</i>	71
Discussion	73
Acknowledgements	77
Funding.....	77
Disclosure Statement	77
References	78
APÊNDICE	85

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

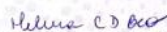
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Utilização de cultivos seriados de conteúdo cecal de aves comerciais adultas para prevenir a infecção de aves jovens por *Salmonella* sorotipos A, B e C", protocolo nº 2930/2024, sob a responsabilidade do Prof. Dr. ANGELO BERCHIERI JUNIOR, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 26 de junho de 2024.

(We certify that the research project entitled "Use of serial cultures of caecal contents from adult commercial birds to prevent infection of young birds with *Salmonella* serotypes A, B e C", protocol nº. 2930/2024, under the responsibility of Dr. ANGELO BERCHIERI JUNIOR, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the Chordata phylum, vertebrate subfile (except man), for the purposes of scientific research (or teaching) - is in accordance with the precepts of Law no. 11,794, of October 8, 2008, in Decree 6,899, of July 15, 2009, and with the rules issued by the National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on Animal Use (CEUA), from the SCHOOL OF AGRICULTURAL AND VETERINARY SCIENCES, UNESP - JABOTICABAL - SP Campus, at June, 26, 2024 an ordinary meeting.)

Vigência do Projeto	01/08/2024 a 01/12/2024
Espécie / Linhagem	Frangos de corte (<i>Gallus Gallus domesticus</i>)
Nº de animais	455
Peso / Idade	35 g / 1 dia de vida
Sexo	M/F
Origem	Incubatório comercial

Jaboticabal, 26 de junho de 2024


Dra. Helena Cristina Delgado Brito
Coordenadora – CEUA

COMPROVANTE DE CADASTRO DE ACESSO NO SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº AC20EAB

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AC20EAB**
Usuário: **UNESP**
CPF/CNPJ: **48.031.918/0001-24**
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Salmonella enterica
Salmonella enterica
Salmonella enterica
Salmonella enterica

Título da Atividade: **Utilização de cultivos seriados de conteúdo cecal de aves comerciais adultas para prevenir a infecção de aves jovens por Salmonella sorotipos A, B e C**

Equipe

Angelo Berchieri Junior	UNESP
Isis Mari Miyashiro Kolososki	Unesp
Mauro de Mesquita Souza Saralva	UNESP

Data do Cadastro: **17/11/2025 14:58:02**
Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **14:58** de **17/11/2025**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**

**UTILIZAÇÃO DE CULTIVOS SERIADOS DE CONTEÚDO CECAL DE AVES
COMERCIAIS ADULTAS PARA PREVENIR A INFECÇÃO DE AVES JOVENS
POR *Salmonella* SOROTIPOS A, B E C**

RESUMO- A salmonelose é uma zoonose de relevância global, reconhecida como um desafio para Saúde Única e associada ao consumo de produtos de origem animal. Na produção pecuária intensiva, o uso de antimicrobianos como promotores do crescimento promoveu ganhos em produtividade, no entanto, o uso sem controle desses compostos tem contribuído para o surgimento de microrganismos resistentes. Diante dos riscos e das restrições ao uso dessas substâncias, alternativas seguras e sustentáveis têm sido amplamente investigadas. Entre elas, destacam-se os produtos de Exclusão Competitiva (EC), derivados da microbiota intestinal de aves saudáveis, capazes de promover a saúde intestinal e inibir a colonização por patógenos sem induzir resistência antimicrobiana. Este estudo avaliou a eficácia de formulações aeróbia, anaeróbia e combinada de EC frente a diferentes sorovares de *Salmonella enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Infantis*). O experimento foi conduzido em duas etapas. Na primeira, observou-se que os tratamentos com EC aeróbio e combinado foram eficazes na primeira semana de vida no controle de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, respectivamente, indicando que a adaptabilidade do patógeno ao hospedeiro pode influenciar a eficácia dos tratamentos. Na segunda etapa, a EC reduziu significativamente a colonização cecal e sistêmica por *S. Heidelberg* e *S. Infantis*, sendo o tratamento combinado o mais eficaz. As análises de diversidade beta demonstraram separação estrutural precoce entre os grupos tratados e controles, enquanto a diversidade alfa revelou que o controle de SH exigiu uma maior diversidade da comunidade microbiana. Adicionalmente, análises de ecologia microbiana demonstraram aumento da riqueza e modulação estrutural da comunidade cecal, associadas ao enriquecimento de táxons benéficos, especialmente produtores de ácidos graxos de cadeia curta. Esses resultados evidenciam que a Exclusão Competitiva constitui uma estratégia eficaz e sustentável para o controle de *Salmonella* em frangos de corte.

Palavras-chave: Exclusão Competitiva; Frangos de Corte; Microbioma; Resistência Antimicrobiana; Salmonelose.

**UTILIZATION OF SERIAL CULTURES OF ADULT COMMERCIAL POULTRY
CECAL CONTENTS TO PREVENT *Salmonella* SEROTYPES A, B, AND C
INFECTION IN YOUNG POULTRY**

ABSTRACT- Salmonellosis is a globally relevant zoonosis, recognized as a One Health challenge and associated with the consumption of animal-derived products. In intensive livestock production, the use of antimicrobials as growth promoters has led to productivity gains; however, the uncontrolled use of these compounds has contributed to the emergence of resistant microorganisms. In light of the risks and restrictions related to their use, safe and sustainable alternatives have been widely investigated. Among these alternatives, Competitive Exclusion (CE) products stand out. Derived from the intestinal microbiota of healthy birds, they promote gut health and inhibit pathogen colonization without inducing antimicrobial resistance. This study evaluated the efficacy of aerobic, anaerobic, and combined CE formulations against different *Salmonella enterica* serovars (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, and *S. Infantis*). The experiment was conducted in two stages. In the first stage, aerobic and combined CE treatments were effective during the first week of life in controlling *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis*, respectively, indicating that pathogen–host adaptability may influence treatment efficacy. In the second stage, CE significantly reduced both cecal and systemic colonization by *S. Heidelberg* and *S. Infantis*, with the combined treatment showing the highest efficacy. Beta diversity analyses demonstrated early structural separation between treated and control groups, whereas alpha diversity analysis revealed that *S. Heidelberg* control required greater microbial community diversity. Additionally, microbial ecology analyses showed increased richness and structural modulation of the cecal community, associated with the enrichment of beneficial taxa, particularly short-chain fatty acid producers. These findings demonstrate that Competitive Exclusion represents an effective and sustainable strategy for controlling *Salmonella* in broiler chickens.

Key-words: Antimicrobial Resistance, Broiler Chickens, Competitive Exclusion, Microbiome, Salmonellosis.

CAPITULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A avicultura de corte é um dos principais pilares da segurança alimentar, desempenhando papel estratégico no fornecimento de proteína animal a custo acessível para a maior parte da população (Wong et al., 2017). Nesse contexto, o Brasil destaca-se como líder mundial na exportação de carne de frango desde 2004, posição que tende a ser mantida até o ano de 2031 (USDA, 2022). Contudo, a elevada densidade nos plantéis tem contribuído para disseminação de patógenos e aumentado as perdas associadas a desafios sanitários (Gilbert, Xiao & Robinson, 2017), os quais podem acometer seres humanos. Entre estes, as infecções por *Salmonella* spp. permanecem como uma das principais preocupações em Saúde Única, especialmente diante do surgimento e da disseminação global de cepas resistentes a antimicrobianos, as quais comprometem a eficácia terapêutica, seja em medicina veterinária ou humana (Saraiva et al., 2022; EFSA & ECDC, 2024; Kumar et al., 2025).

Historicamente, o uso de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal esteve associado à melhoria de desempenho e controle de patógenos. Contudo, a constatação de que o uso desses compostos contribui para a seleção e disseminação de genes de resistência impulsionou mudanças regulatórias acerca do uso desses fármacos (Saraiva et al., 2022). Tais restrições evidenciaram a necessidade de buscar por alternativas seguras e eficazes, capazes de manter o desempenho zootécnico sem comprometer a saúde animal e pública (Rahman et al., 2022).

Dentre as alternativas, produtos de exclusão competitiva (EC), obtidos da microbiota intestinal de aves adultas saudáveis, apresentaram desempenho eficaz na prevenção da colonização de enteropatógenos, como *Salmonella* (Nurmi & Rantala, 1973). No entanto, a aplicação de EC é limitada devido à variabilidade microbiológica das formulações e à compreensão limitada de seus mecanismos de ação (Pedroso et al., 2021).

Diante do exposto, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia de produtos de EC formulados a partir de culturas seriadas de conteúdo cecal de aves adultas no controle da infecção e da excreção fecal de diferentes sorovares de *Salmonella enterica* em frangos de corte. As formulações foram produzidas em condições aeróbia, anaeróbia e combinada, visando obter diferenças na composição microbiana decorrentes do método de cultivo. Parte-se da hipótese de que a formulação aeróbia favoreça a colonização precoce por anaeróbicos facultativos, enquanto a anaeróbia potencialize a fermentação e a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), contribuindo para a inibição metabólica de patógenos, e que a formulação combinada capaz de integrar esses mecanismos. Considera-se ainda que a eficácia dessa metodologia possa variar entre sorovares, em função de diferenças na capacidade de colonização, invasão e adaptação ao ambiente intestinal.

Conclusion

This study demonstrated that CE treatments, particularly the combined consortium (Group C), were effective in promoting early modulation of the intestinal microbiota and reducing *Salmonella* colonization and shedding in broiler chickens. CE administration accelerated microbial community maturation, characterized by the enrichment of SCAF taxa, including *Bacteroides* and *Subdoligranulum*. The dysbiosis induced by *S. Heidelberg* was more severe than that caused by *S. Infantis*, yet microbial treatments effectively mitigated both. Therefore, early CE application represents a promising and functional strategy to reestablish intestinal homeostasis and strengthen the birds' natural resistance to *Salmonella* spp. colonization. → DEFINIR O TRAT

Acknowledgements

Special thanks to the Poultry Science Laboratory (Lavinesp—FCAV/UNESP).

Funding

This work was supported in part by the São Paulo Research Foundation (FAPESP) under grant numbers [2024/05450-9 to I.M.M.K. and 2023/12978-7 to A.B.J.], the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES; Finance Code 001), and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Disclosure Statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Almeida, W. A. F., Berchieri Junior, A. & Barrow, P. A. (2002). The effect of serial culture and storage on the protective potential of a competitive exclusion preparation. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 4, 163–167. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2002000200006>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Andino, A. & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *Scientific World Journal*, 2015, 520179. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
- Arya, G., Holtslander, R., Robertson, J., Yoshida, C., Agarwal, S., & Boerlin, P. (2017). Epidemiology, pathogenesis, genoserotyping, antimicrobial resistance, and prevention and control of non-typhoidal *Salmonella* serovars. *Current Clinical Microbiology Reports*, 4, 43–53. <https://doi.org/10.1007/s40588-017-0057-7>
- Berchieri Junior, A., Murphy, C. K., Marston, K. & Barrow, P. A. (2001a). Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. *Avian Pathology*, 30(3), 221–231. <https://doi.org/10.1080/03079450120054631>
- Berchieri Junior, A., Wigley, P., Page, K., Murphy, C. K. & Barrow, P. A. (2001b). Further studies on vertical transmission and persistence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis phage type 4 in chickens. *Avian Pathology*, 30(4), 297–310. <https://doi.org/10.1080/03079450120066304>
- Bindari, Y. R. & Gerber, P. F. (2022). Centennial Review: Factors affecting the chicken gastrointestinal microbial composition and their association with gut health and productive performance. *Poultry Science*, 101(1), 101612. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101612>
- Boodhoo, N., et al. (2023). Effect of treatment with *Lactococcus lactis* NZ9000 on intestinal microbiota and mucosal immune responses against *Clostridium perfringens* in broiler chickens. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1257819.
- Bortoluzzi, C., de Souza Castro, F. L. & Kogut, M. (2022). Butyrate and intestinal homeostasis: effects on the intestinal microbiota and epithelial hypoxia. In: Kogut, M. H. & Zhang, G. (Eds.), *Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals*, vol. 4. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90303-9_4

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024). *About Salmonella infection*. Atlanta, GA: CDC. Available at: <https://www.cdc.gov/salmonella/about/index.html>. Accessed on December 8, 2025.

Clavijo, V. & Flórez, M. J. V. (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. *Poultry Science*, 97(3), 1006–1021. <https://doi.org/10.3382/ps/pex359>

Clausen, P. T. L. C., Aarestrup, F. M. & Lund, O. (2018). Rapid and precise alignment of raw reads against redundant databases with KMA. *BMC Bioinformatics*, 19, 307. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2336-6>

Collineau, L., Chapman, B., Bao, X., Sivapathasundaram, B., Carson, C. A. & Fazil, A. (2020). A farm-to-fork quantitative risk assessment model for *Salmonella Heidelberg* resistant to third-generation cephalosporins in broiler chickens in Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 330, 108559. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108559>

Dame-Korevaar, A., Kers, J. G., Van der Goot, J., Velkers, F. C., Ceccarelli, D., Mevius, D. J. & Fischer, E. A. (2020). Competitive exclusion prevents colonization and compartmentalization reduces transmission of ESBL-producing *Escherichia coli* in broilers. *Frontiers in Microbiology*, 11, 566619. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.566619>

Deng, L. & Wang, S. (2024). Colonization resistance: the role of gut microbiota in preventing *Salmonella* invasion and infection. *Gut Microbes*, 16(1), 2424914. <https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2424914>

De Coster, W., D'Hert, S., Schultz, D. T., Cruts, M. & Van Broeckhoven, C. (2018). NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 34(15), 2666–2669. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>

Diaz Carrasco, J. M., Redondo, E. A., Pin Viso, N. D., Redondo, L. M., Farber, M. D. & Fernandez Miyakawa, M. E. (2018). Tannins and bacitracin differentially modulate gut microbiota of broiler chickens. *BioMed Research International*, 2018, 1879168. <https://doi.org/10.1155/2018/1879168>

Ducatelle, R., Goossens, E., De Meyer, F., Eeckhaut, V., Antonissen, G., Haesebrouck, F. & Van Immerseel, F. (2018). Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives. *Veterinary Research*, 49, 43. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0538-6>

El Hage, R., El Hage, J., Snini, S. P., Ammoun, I., Touma, J., Rachid, R., Mathieu, F., Sabatier, J. M., Abi Khattar, Z. & El Rayess, Y. (2022). The detection of potential native probiotics *Lactobacillus* spp. against *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Infantis* and *Salmonella Kentucky* ST198 of Lebanese chicken origin. *Antibiotics*, 11(9), 1147. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091147>

- Fernández-Rubio, C., Ordonez, C., Abad-González, J., Garcia-Gallego, A., Honrubia, M. P., Mallo, J. J. & Balana-Fouce, R. (2009). Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from *Salmonella Enteritidis* infection. *Poultry Science*, 88(5), 943–948. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00484>
- Franklin, R. B., Garland, J. L., Bolster, C. H. & Mills, A. L. (2001). Impact of dilution on microbial community structure and functional potential. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2), 702–712. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.2.702-712.2001>
- Gong, H., Wang, T., Wu, M., Chu, Q., Lan, H., Lang, W. & Zheng, X. (2023). Maternal effects drive intestinal development beginning in the embryonic period based on immune and microbial transfer. *Microbiome*, 11, 41. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01490-5>
- Greenwood, P. E. & Nikulin, M. S. (1996). *A guide to chi-squared testing*. John Wiley & Sons. [https://doi.org/10.1016/S0167-9473\(97\)84761-5](https://doi.org/10.1016/S0167-9473(97)84761-5)
- Guzinski, J., Potter, J., Tang, Y., Davies, R., Teale, C. & Petrovska, L. (2024). Geographical and temporal distribution of multidrug-resistant *Salmonella Infantis* in Europe and the Americas. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1244533. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1244533>
- Karadedos, D. M., Mantzios, T., Kiouisi, D. E., Tsifintaris, M., Giannenas, I., Sakkas, P., et al. (2025). Metagenomic insight into cecal microbiota shifts in broiler chicks following *Eimeria* spp. vaccination. *Microorganisms*, 13(7), 1470. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13071470>
- Khalifa, A. & Ibrahim, H. I. M. (2023). *Enterococcus faecium* from chicken feces improves immune response and alleviates *Salmonella* infections: a pilot study. *Journal of Animal Science*, 101, skad016. <https://doi.org/10.1093/jas/skad016>
- Kolososki, I. M. M., Saraiva, M. M. S., Nascimento, C. F., Campos, I. C., Lima, T. S., Ferreira, V. A., Rabelo, A. L. C., Almeida, A. M. & Berchieri Junior, A. (2024). Competitive exclusion products as an antimicrobial alternative to control *Salmonella Heidelberg* in broilers. *Letters in Applied Microbiology*, 77(8), ovae071. <https://doi.org/10.1093/lambio/ovae071>
- Lamichhane, B., Mawad, A. M. M., Saleh, M., Kelley, W. G., Harrington, P. J., Lovestad, C. W., et al. (2024). Salmonellosis: epidemiology, pathogenesis, and innovative mitigation strategies. *Antibiotics*, 13(1), 76. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13010076>
- Lan, P. T. N., Sakamoto, M., Sakata, S. & Benno, Y. (2006). *Bacteroides barnesiae* sp. nov., *B. salanitronis* sp. nov. and *B. gallinarum* sp. nov. isolated from chicken cecum. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(12), 2853–2859. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64517-0>
- Lee, M. D., Pedroso, A. A. & Maurer, J. J. (2023). Bacterial composition of a competitive exclusion product and its correlation with product efficacy at reducing *Salmonella* in poultry. *Frontiers in Physiology*, 13, 1043383. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1043383>

- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K. & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220–230. <https://doi.org/10.1038/nature11550>
- Liu, X., Jiang, N., Wang, X., Yan, H., Guan, L., Kong, L., et al. (2024). *Weissella cibaria* relieves gut inflammation caused by *Escherichia coli* through immune modulation and microbiota regulation. *Foods*, 13(7), 1133. <https://doi.org/10.3390/foods13071133>
- Liu, L., Li, Q., Yang, Y. & Guo, A. (2021). Biological function of short-chain fatty acids and their regulation on intestinal health of poultry. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 736739. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.736739>
- Lynch, M. D. & Neufeld, J. D. (2015). Ecology and exploration of the rare biosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 13(4), 217–229. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3400>
- Mkangara, M. (2023). Prevention and control of human *Salmonella enterica* infections: An implication in food safety. *International Journal of Food Science*, 2023, 8899596. <https://doi.org/10.1155/2023/8899596>
- Miao, S., Hong, Z., Jian, H., Xu, Q., Liu, Y. & Wang, X. (2022). Alterations in intestinal antioxidant and immune function and cecal microbiota of laying hens fed coated sodium butyrate. *Animals*, 12(5), 545. <https://doi.org/10.3390/ani12050545>
- Montoro-Dasi, L., Lorenzo-Rebenaque, L., Marco-Fuertes, A., Vega, S. & Marin, C. (2023). Holistic strategies to control *Salmonella Infantis*: an emerging challenge in the European broiler sector. *Microorganisms*, 11(7), 1765. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071765>
- Moya, A. & Ferrer, M. (2016). Functional redundancy-induced stability of gut microbiota subjected to disturbance. *Trends in Microbiology*, 24(5), 402–413. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.02.002>
- Rantala, M. & Nurmi, E. (1973). Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens. *British Poultry Science*, 14(6), 627–630. <https://doi.org/10.1080/00071667308416073>
- Ransch, W., Tschäpe, H. & Bäumler, A. J. (2001). Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. *Microbes and Infection*, 3(3), 237–247. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01375-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01375-2)
- Rogers, A. W. L., Tsolis, R. M. & Bäumler, A. J. (2021). *Salmonella* versus the microbiome. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 85, e00027-19. <https://doi.org/10.1128/membr.00027-19>
- Rouger, A., Tresse, O. & Zagorec, M. (2017). Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. *Microorganisms*, 5(3), 50. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030050>
- Rychlik, I. (2020). Composition and function of chicken gut microbiota. *Animals*, 10(1), 103. <https://doi.org/10.3390/ani10010103>

- Safarchi, A., Al-Qadami, G., Tran, C. D. & Conlon, M. (2025). Understanding dysbiosis and resilience in the human gut microbiome: biomarkers, interventions, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1559521. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1559521>
- Sahlin, K., Tomaszekiewicz, M., Makova, K. D. & Medvedev, P. (2021). NGSspeciesID: DNA barcode and amplicon consensus generation from long-read sequencing data. *Molecular Ecology Resources*, 21(4), 1255–1268. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13335>
- Santillan, E., Seshan, H., Constancias, F., Drautz-Moses, D. I. & Wuertz, S. (2019). Frequency of disturbance alters diversity, function, and underlying assembly mechanisms of complex bacterial communities. *npj Biofilms and Microbiomes*, 5, 8. <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0079-4>
- Saraiva, M. M. S., Benevides, V. P., Guerra, P. R., Campos, I. C., Rodrigues Alves, L. B., Paiva, J. B., et al. (2024). Deletions of *ttrA* and *pduA* genes in *Salmonella enterica* affect survival within chicken-derived HD-11 macrophages. *Current Genetics*, 70(1), 14. <https://doi.org/10.1007/s00294-024-01299-1>
- Saraiva, M. M. S., Lim, K., Monte, D. F. M., Givisiez, P. E. N., Alves, L. B. R., Freitas Neto, O. C., et al. (2022). Antimicrobial resistance in the globalized food chain: a One Health perspective applied to the poultry industry. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(1), 465–486. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00635-8>
- Schneitz, C. (2005). Competitive exclusion in poultry – 30 years of research. *Food Control*, 16(8), 657–667. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.06.002>
- Schneitz, C., Koivunen, E., Tuunainen, P. & Valaja, J. (2016). The effects of a competitive exclusion product and two probiotics on *Salmonella* colonization and nutrient digestibility in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 25(3), 396–406. <https://doi.org/10.3382/japr/pfw025>
- Shade, A. & Handelsman, J. (2012). Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome. *Environmental Microbiology*, 14(1), 4–12. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02582.x>
- Shaji, S., Selvaraj, R. K. & Shanmugasundaram, R. (2023). *Salmonella* infection in poultry: a review on the pathogen and control strategies. *Microorganisms*, 11(11), 2814. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112814>
- Soares, L. S. G., Casella, T., Kawagoe, E. K., Benetti Filho, V., Omori, W. P. & Nogueira, M. C. L. (2023). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance in *Salmonella Heidelberg* in southern Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 391, 110151. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110151>
- Stanley, D., Keyburn, A. L., Denman, S. E. & Moore, R. J. (2012). Changes in the caecal microflora of chickens following *Clostridium perfringens* challenge to induce

necrotic enteritis. *Veterinary Microbiology*, 159(1–2), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.03.032>

Stanley, D., Geier, M. S., Hughes, R. J., Denman, S. E. & Moore, R. J. (2013). Highly variable microbiota development in the chicken gastrointestinal tract. *PLoS One*, 8(12), e84290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084290>

Stanley, D. & Bajagai, Y. S. (2022). Feed safety and the development of poultry intestinal microbiota. *Animals*, 12(20), 2890. <https://doi.org/10.3390/ani12202890>

Stirling, G. & Wilsey, B. (2001). Empirical relationships between species richness, evenness, and proportional diversity. *The American Naturalist*, 158(3), 286–299. <https://doi.org/10.1086/321317>

Such, N., Farkas, V., Csitári, G., Pál, L., Márton, A., Menyhárt, L. & Dubleczy, K. (2021). Relative effects of dietary administration of a competitive exclusion culture and a synbiotic product, age, and sampling site on intestinal microbiota maturation in broiler chickens. *Veterinary Sciences*, 8(9), 187. <https://doi.org/10.3390/vetsci8090187>

Szott, V., Reichelt, B., Friese, A. & Roesler, U. (2022). A complex competitive exclusion culture reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broiler chickens at slaughter age in vivo. *Veterinary Sciences*, 9(4), 181. <https://doi.org/10.3390/vetsci9040181>

Tanikawa, T., Shoji, N., Sonohara, N., Saito, S., Shimura, Y., Fukushima, J. & Inamoto, T. (2011). Aging transition of the bacterial community structure in chick ceca. *Poultry Science*, 90(5), 1004–1008. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01153>

Tsolis, R. M. & Bäumler, A. J. (2020). Gastrointestinal host–pathogen interaction in the age of microbiome research. *Current Opinion in Microbiology*, 53, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.03.002>

Wibisono, F. M., Wibison, F. J., Effendi, M. H., Plumeriastuti, H., Hidayatullah, A. R., Hartadi, E. B. & Sofiana, E. D. (2020). A review of salmonellosis on poultry farms: public health importance. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(9), 481–486. <https://doi.org/10.31838/srp.2020.9.69>

Wick, R. R., Judd, L. M. & Holt, K. E. (2019). Performance of neural network basecalling tools for Oxford Nanopore sequencing. *Genome Biology*, 20, 129. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1727-y>

Wu, B., Bai, Y., Guan, Y., Lou, C., Chen, Z. & Li, H. (2024). Characterisation of gut microbiota in early chicken development. *Journal of Animal Feed Science*, 33, 311–320. <https://doi.org/10.22358/jafs/185677/2024>

Yang, C., Wu, J., Yang, L., Hu, Q., Li, L., Yang, Y. & Zhao, Q. (2024). Altered gut microbial profile accompanied by abnormal short-chain fatty acid metabolism exacerbates nonalcoholic fatty liver disease progression. *Scientific Reports*, 14(1), 22385. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-80000-x>

- Zancan, F. T., Berchieri Junior, A., Fernandes, S. A. & Gama, N. M. S. Q. (2000). *Salmonella* spp. investigation in transport boxes of day-old birds. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31, 229–232. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000300016>
- Zheng, S., Li, Y., Chen, C., Wang, N. & Yang, F. (2025). Solutions to the dilemma of antibiotics use in livestock and poultry farming: regulation policy and alternatives. *Toxics*, 13(5), 348. <https://doi.org/10.3390/toxics13050348>
- Zhou, Q., Lan, F., Li, X., Yan, W., Sun, C. & Wen, C. (2021). Spatial and temporal characterization of gut microbiota in broilers. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 712226. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.712226>