

WEYBER FERREIRA DE SOUZA

**ESTUDO DE VIRULÊNCIA DE *Salmonella* spp. ISOLADOS DE LINFONODOS
MESENTÉRICOS SUINOS: UMA ABORDAGEM UTILIZANDO O
SEQUENCIAMENTO DE GENOMA COMPLETO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Ricardo Seiti Yamatogi

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S729e
2021 Souza, Weyber Ferreira de, 1990-
Estudo de virulência de *Salmonella* spp. isolados de
linfonodos mesentéricos suínos: uma abordagem utilizando o
sequenciamento de genoma completo. / Weyber Ferreira de
Souza. – Viçosa, MG, 2021.

1 dissertação eletrônica (66 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Orientador: Ricardo Seiti Yamatogi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2021.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.219>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Sequenciamento Completo do Genoma. 2. Salmonela.
3. Sorogrupo. I. Yamatogi, Ricardo Seiti, 1981-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 614.51

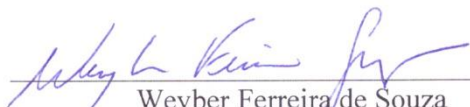
WEYBER FERREIRA DE SOUZA

**ESTUDO DE VIRULÊNCIA DE *SALMONELLA* SPP. ISOLADOS DE LINFONODOS
MESENTÉRICOS SUINOS: UMA ABORDAGEM UTILIZANDO O
SEQUENCIAMENTO DE GENOMA COMPLETO**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de outubro de 2021.

Assentimento:



Weyber Ferreira de Souza
Autor



Ricardo Seiti Yamatogi
Orientador

“O importante é estar pronto, a qualquer momento, a sacrificar aquilo que somos a favor do que podemos vir a ser.”

(Charles Dubois)

AGRADECIMENTOS

Ao utilizar poucas páginas para agradecer a imensa quantidade de pessoas que fizeram parte dessa trajetória não é uma tarefa fácil. Provavelmente, esquecerei alguém, mas já fica registrado minha sincera gratidão a todos que me apoiaram de alguma forma nesse período.

Agradeço a minha mãe, Dona Josefa, por sempre que possível, mesmo diante de dificuldades, sempre me forneceu todos os apoios necessários para que eu me mantivesse tanto tempo longe de casa.

Um agradecimento especial ao Bernardo, que em um dos momentos mais controversos da minha vida até hoje, foi a pessoa que estendeu as mãos e ficou ao lado. Muito Obrigado!

Ao meu orientador, Prof Ricardo, tenho até alguma dificuldade de definir em palavras, mas toda a paciência e compreensão me mostraram o extraordinário profissional que o senhor é. Sem dúvidas um grande exemplo pra mim. Muito obrigado!

Aos meus amigos, Gabriele, Lucas, Diego, Ana e Pamela que independente da distância ou dos novos projetos, sempre estamos juntos.

Aos companheiros da república Portão dos Fundos, em especial ao Gabriel e ao Neylon, que por um longo período me apoiaram como uma família, e apesar dos pesares, permaneço com um grande carinho e admiração por todos vocês.

Ao Thiago e a Catarina, que praticamente todos os dias me lembram como as verdadeiras amigas são importantes.

Ao Douglas, Luiz, Iago, Nataly, Leticia, Michelle, Marlon, Guilherme Daniel, Stefani, Rafaela, Victoria, Aline e todo mundo, muito obrigado.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária por viabilizarem toda a estrutura, apoio e condições de realizar este sonho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os professores e funcionários do DVT e de outros departamentos, que direta ou indiretamente contribuíram para minha caminhada neste mestrado e para a realização desse trabalho, meu muito obrigado!

RESUMO

SOUZA, Weyber Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2021. **Estudo de virulência de *Salmonella* spp. isolados de linfonodos mesentéricos suínos: Uma abordagem utilizando o sequenciamento de genoma completo.** Orientador: Ricardo Seiti Yamatogi.

Salmonella spp. é um importante patógeno causador de doenças de origem alimentar, gerando impactos na economia e saúde pública. Esta dissertação está dividida em dois capítulos, o primeiro com uma revisão sobre o tema e o segundo a apresentação dos resultados da pesquisa. O objetivo desse estudo foi avaliar os componentes genéticos relacionados aos fatores de virulência e genes ortólogos de 10 sorovares. Foram utilizados 27 isolados de *Salmonella* spp., compreendendo os sorovares *S. Derby* (n=4), *S. Give* (n=2), *S. Cerro* (n=3), *S. Typhimurium* (n=4), *S. I.4[5],12:i:-* (n=4), *S. Panamá* (n=3), *S. Infantis* (n=1), *S. Bredeney* (n=4), *S. London* (n=1) e *S. Bovimorbificans* (n=1) oriundos de linfonodos mesentéricos suínos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná. Os isolados tiveram seus genes ortólogos comparados assim como, a presença de 142 fatores de virulência distribuídos em 20 estruturas que compreendem as ilhas de patogenicidade, ilhotas, genes de regulação, adesão, fimbrias, flagelos, entre outros, por meio do sequenciamento de genoma completo (WGS). O resultado da comparação genômica agrupou os isolados em 3 grupos principais com destaque de um grupo formado somente por *Salmonella* do Estado de Minas Gerais. Além disso, foram preditos um total de 125 genes de virulência, destacando os sorovares *S. Typhimurium* e *S. I.4[5],12:i:-* que apresentaram os maiores quantitativos de fatores de virulência, diferentemente dos sorovares *S. Derby* e *S. Cerro*. As análises demonstraram que 38 genes (*invA*, *hilA*, *orgA*, *prgK*, *sipA*, *sipB*, *sipC*, *sipD*, *slrP*, *sopA*, *sopD*, *sopE2*, *spaO*, *sptP*, *sifA*, *sseB*, *sseC*, *sseL*, *ssrA*, *ttrC*, *spiC*, *mgtC*, *sopB*, *pagN*, *sodC1*, *phoP*, *phoQ*, *tolC*, *sdiA*, *entF*, *fhuA*, *leuO*, *oxyR*, *slyA*, *fimA*, *flgL*, *flgK*, *fliC*) apresentaram 100% de frequência nos isolados. Os genes relacionados as ilhas de patogenicidade, regulação, fimbrias e flagelos se mostraram bem conservados em todos os genomas estudados. Assim, a constante investigação de *Salmonella* em suínos fornece dados para subsidiar respostas ligados ao aspecto epidemiológico do agente. Além disso, estudo genéticos como, por exemplo, a pesquisa de genes de virulência auxiliam em um melhor entendimento da patogenicidade e subsidiam informações para o controle e desenvolvimento de programas relacionados e este agente.

Palavras-chave: WGS. *S. Typhimurium*. Sorovares.

ABSTRACT

SOUZA, Weyber Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October 2021. **Virulence factors of *Salmonella* spp. isolates from swine mesenteric lymph nodes: A WGS approach.** Advisor: Ricardo Seiti Yamatogi.

Salmonella spp. is foodborne pathogen, impacting the economy and public health. This dissertation is divided into two chapters, the first is a review about main topic and the second is the manuscript. In this study, 27 isolates of *Salmonella* spp. were used, comprising the serovars *S. Derby* (n= 4), *S. Give* (n= 2), *S. Cerro* (n= 3), *S. Typhimurium* (n= 4), *S. I4[5],12:i:-* (n= 4), *S. Panama* (n= 3), *S. Infantis* (n= 1), *S. Bredeney* (n= 4), *S. London* (n= 1) and *S. Bovimorbificans*(n= 1) from pigs mesenteric lymph nodes from the Minas Gerais, São Paulo and Paraná States. The isolates had their ortholog genes compared, as well as the presence of 142 virulence factors distributed in 20 structures comprising the pathogenicity islands, islets, regulatory genes, adhesion, fimbriae, flagella, among others, through complete whole genome sequencing (WGS). The result of the genomic comparison grouped the isolates into 3 groups, being a group composed only by *Salmonella* from the Minas Gerais state. In addition, a total of 125 virulence genes were predicted, highlighting serovars *S. Typhimurium* and *SI4[5],12:i:-* which presented the highest number of virulence factors, unlike serovars *S. Derby* and *S. Cerro*. A totally of 38 genes (*invA*, *hilA*, *orgA*, *prgK*, *sipA*, *sipB*, *sipC*, *sipD*, *slrP*, *sopA*, *sopD*, *sopE2*, *spaO*, *sptP*, *sifA*, *sseB*, *sseC*, *sseL*, *ssrA*, *ttrC*, *mgt*, *sopB*, *pagN*, *sodC1*, *phoP*, *phoQ*, *tolC*, *sdiA*, *entF*, *fhuA*, *leuO*, *oxyR*, *slyA*, *fimA*, *flgL*, *flgK*, *fliC*) showed 100% frequency in the isolates. The genes related to pathogenicity islands, regulation, fimbriae and flagella were conserved in all genomes. Thus, investigation of *Salmonella* in swine provides data to epidemiological aspect of the agent. In addition, genetic data provides information to understand the pathogenicity of agent and help the development of new programs related to this agent.

Keywords: WGS. *S. Typhimurium*. Sorovars.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. CAPITOLO 1. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1. Cadeia produtiva suína.....	10
2.2. Características do gênero <i>Salmonella</i> spp.	11
2.3. Aspectos epidemiológicos	112
2.4. Fatores de Virulência	17
2.4.1. Sequenciamento de genoma completo	21
3. REFERENCIAS	24
4. OBJETIVOS	34
4.1. Objetivo geral	34
4.2. Objetivos específicos	34
CAPITULO 2. ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO: Estudo de virulência de <i>Salmonella</i> spp. isolados de linfonodo mesentérico suíno: uma abordagem utilizando o sequenciamento de genoma completo	35
ABSTRACT	37
1. Introdução	38
2. Materiais e Métodos.....	39
2.1 Origem das cepas	39
2.2 Sequenciamento genômico	39
2.3 Análises de bioinformática	39
3. Resultados	40
4. Discussão	45
5. Conclusão.....	48
6. Agradecimentos	48
REFERENCIAS	48
ANEXOS	59

1. INTRODUÇÃO

A suinocultura brasileira possui grande importância no agronegócio nacional, de acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) em 2020 foram produzidos 4,436 mil de toneladas de carne suína, sendo 23% desse montante destinados à exportação, que coloca o Brasil como 4º maior exportador dessa matriz no mundo.

Em contrapartida, a carne suína está classificada como um importante veículo de transmissão de *Salmonella* spp., fato que tem motivado pesquisas dedicadas à cadeia de produção suína. Para conter essa disseminação, a implementação de controles sanitários para monitorar a produção animal e a manipulação de produtos de origem suína se fazem necessários neste sistema.

A Salmonelose é uma importante infecção veiculada por alimentos, que possuem diversas características, como sua distribuição ubiqüitária, uma alta capacidade de disseminação no ambiente e com diversas fontes de contaminação como, por exemplo, a carne suína. Segundo o Ministério da Saúde, estima-se que a *Salmonella* seja responsável por 11,3% dos surtos de Doenças transmitidas por alimentos (DTA) no Brasil.

Ao encontrar um hospedeiro, a habilidade do gênero *Salmonella* em causar doenças é multifatorial, porém a severidade da doença é influenciado pelos fatores de virulência. Alguns desses fatores podem estar localizados em elementos genéticos móveis, como regiões específicas do cromossomo da bactéria, as chamadas de ilhas de patogenicidade, além da presença de fímbrias, flagelos, mobilidade, habilidade de invasão e replicação nas células epiteliais, resistência a antimicrobianos, entre outros.

Em diversos países, como no Brasil, não é rotineiro a caracterização dos sorovares de *Salmonella* isoladas em alimentos. Entretanto, devido às características do gênero, é importante o monitoramento constante e avaliação das cepas isoladas em alimentos contaminados. O conhecimento das cepas circulantes, seu potencial de virulência, resistência a antimicrobianos, e também a disseminação de fenótipos e genótipos específicos podem auxiliar na compreensão das vias de disseminação, formas de transmissão e origem das contaminações. Essas informações subsidiam as autoridades para implementação de estratégias de controle, definir prioridades no monitoramento, além de avaliar as possibilidades de tratamento das infecções mais graves em humanos.

Com os avanços da biologia molecular, tornou-se possível o desenvolvimento de técnicas promissoras, como o sequenciamento de genoma completo, para o estudo de comunidades microbianas e investigação das características individuais de cada patógeno.

CAPITULO 1 - Revisão Bibliográfica

Weyber Ferreira de Souza

2.1. Cadeia produtiva suína

A suinocultura brasileira possui grande destaque na pecuária nacional, apresentando uma importância socioeconômica bem solidificada, contribuindo para a geração de empregos diretos e indiretos. Além disso, a carne suína é a fonte de proteína animal mais consumida no mundo (ABPA, 2020).

O Brasil possui um importante papel no cenário internacional, sendo o 4º maior produtor e exportador mundial de carne suína, tendo como líderes, em termos produtivos, a China, União Europeia e Estados Unidos. Segundo a Associação Brasileira de proteína Animal - ABPA, os maiores estados brasileiros produtores de carne suína, em termos de abate, são Santa Catarina (30,73%), Paraná (21,10%), Rio Grande do Sul (19,08%) e Minas Gerais (9,95%). Em 2020, foram registradas cerca de 1,970 milhões de matrizes nas granjas brasileiras, que representaram a produção de 4,43 milhões de toneladas de carne suína (ABPA, 2020).

Ainda de acordo com a ABPA, 77% da produção de carne suína brasileira é destinada ao mercado interno. Nos últimos anos o consumo *per capita* de carne suína tem aumentado, tendo registrado em 2020, uma média de 16,0 Kg/hab (ABPA, 2020). O Brasil possui excelentes condições para a criação de suínos, dentre elas é possível destacar o clima tropical, mão-de-obra de baixo custo, facilidade para manejo e tratamento de dejetos pelas grandes dimensões territoriais, topografia plana, grande produção de grãos (milho e soja), dentre outros (FRAGA; CAVATORTA; GONÇALVES, 2017).

Na cadeia produtiva de suínos, a contaminação por salmonelas ocorre devido à presença de sorovares patogênicos adaptados à espécie suína, responsáveis pela ocorrência de gastroenterites e septicemias, e pelos sorovares adaptados que não causam a doença clínica nos animais, sendo os principais causadores e fontes contaminação de carcaças nos abatedouros, as quais podem posteriormente infectar os humanos (ZERO; RODRIGUES, 2017).

As fontes de contaminação nas etapas da cadeia produtiva suína são diversas, sendo possível destacar desde problemas de densidade, programas sanitários nas granjas, assim como, o contato com utensílios e equipamentos da linha de abate, contato com outras carcaças contaminadas e com conteúdo intestinal que, eventualmente, pode extravasar durante alguma etapa do processo (PAIM et al., 2019). O processo de abate, quando realizado de forma adequada do ponto de vista higiênico-sanitário e respeitando os programas de autocontrole, é

capaz de eliminar ou reduzir a níveis aceitáveis a presença de microrganismos patogênicos como a *Salmonella* (FORSYTHE, 2013).

2.2. Características do gênero *Salmonella* spp.

Entre os patógenos mais envolvidos em infecções alimentares no mundo, e reconhecidos pela Organização Mundial da Saúde - OMS como um dos mais relevantes por seu papel na saúde pública está incluso o gênero *Salmonella* (WHO, 2021). A história da *Salmonella* se inicia por volta de 1643 quando Thomas Willis descreveu, de uma forma geral, a febre tifóide. Em 1718, Junker começou a esclarecer alguns aspectos sobre a etiologia das febres tifóides e, em 1856, William Budd acreditava que o agente causador era excretado pela urina e fezes e que o leite e a água eram importantes veículos de infecção. Entretanto, foi em 1880 que Carl Joseph Eberth conseguiu esclarecer a etiologia da febre tifóide observando o bacilo tífico em órgãos de pacientes da Febre Tifóide. Em 1884, Gaffky, isolou o agente em cultura pura, então a *Salmonella* ficou por muito tempo conhecida como “bacilo de Eberth” (LEDERMANN D., 2003; ENG et al., 2015).

A designação do gênero *Salmonella* foi adotada em 1900, por Lignières, em homenagem a Daniel Elmer Salmon, médico veterinário e bacteriologista americano do século XIX, que isolou o microrganismo atualmente conhecido como *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis de suínos. Desde então, diversos sorovares foram isolados de humanos, animais, alimentos, rações, água e outras fontes (ENG et al., 2015).

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. pertencem a família *Enterobacteriaceae*, são anaeróbias facultativas, Gram-negativas, bastonetes curtos, não são formadoras de esporos e possuem um requerimento nutricional simples. A maioria dos sorovares são móveis e possuem flagelos com exceção das *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*. A temperatura de multiplicação varia de 5 a 46°C, sendo a temperatura ótima de 37°C, são relativamente termo sensíveis, sendo destruídas a 60°C por 15 a 20 minutos. São organismos quimiotróficos, apresentando metabolismo tanto respiratório quanto fermentativo, são indol negativos e produzem ácido sulfídrico (FORSYTHE, 2013; ADLEY; RYAN, 2016).

Além disso são patógenos resistentes ao congelamento e a dessecação, podendo sobreviver no ambiente por anos, porém são sensíveis a luz solar e a maioria dos desinfetantes fenóis, clorados e iodados. Seu crescimento ocorre em pH ótimo entre 6,5 a 7,5, podendo variar entre 4,5 e 9,0, sendo inativada em pH inferior a 4,1 (BRASIL, 2011; ADLEY; RYAN, 2016).

A *Salmonella* está amplamente distribuída no ambiente e pode causar uma variedade de doenças em humanos e animais. Por serem microrganismos intracelulares facultativos e com características de sobrevivência e multiplicação no interior de fagócitos, em humanos, a infecção por *Salmonella* pode causar doenças diferentes, como febre tifóide, septicemia, infecções localizadas de vários tecidos corporais e gastroenterite (OLIVEIRA et al, 2013).

O método de classificação adotado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é o esquema de Kauffmann-White, que divide o gênero *Salmonella* em duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella enterica* é dividida em seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) que por sua vez são classificadas em sorovares. Atualmente são conhecidos 2659 sorovares, sendo a maioria pertencente à espécie *S. enterica* (ISSENHUTH-JEANJEAN et al., 2014; RYAN; O'DWYER; ADLEY, 2017).

Os sorovares são diferenciados por seus antígenos somáticos (O), flagelar (H) e capsular (Vi). De acordo com os fatores antigênicos comuns, esses sorovares são divididos em sorogrupos (FORSYTHE, 2013). Entre os diversos sorovares existentes, a *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis são mais associados à salmonelose veiculada por alimentos (TARABEES et al., 2017).

A sorotipagem do agente pode ser realizada considerando todas as estruturas antigênicas, no entanto, para facilitar a coleta de dados epidemiológicos é comum utilizar reações mais simples e rápidas, específicas para o antígeno O, possibilitando a separação das estirpes em seis diferentes sorogrupos: A, B, C1, C2, D e E (ENG et al., 2015).

Desse modo, o antígeno O é capaz de determinar o grupo ao qual o isolado pertence, enquanto o antígeno H determina o sorovar. Já o antígeno capsular ocorre apenas em *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* e em *S. Dublin* (RYAN; O'DWYER; ADLEY, 2017). A maior parte dos sorovares de *Salmonella enterica* infecta uma grande variedade de animais, mas a adaptação acontece apenas em alguns sorovares. A *S. Typhi*, por exemplo, só infectam humanos (FORSYTHE, 2013).

2.3. Aspectos epidemiológicos

Em suínos, a infecção por *Salmonella* por sorovares não adaptados é considerada assintomática, não afetando o crescimento e nem os índices produtivos dos animais. Mesmo os sorovares adaptados, não são motivo de preocupação na espécie. A única exceção é *S.*

Choleraesuis, agente altamente patogênico para os suínos e também classificado como uma zoonose (VAN DER GAAG et al., 2004; NEITZKE; ROZA; WEBER, 2017).

A infecção por *Salmonella* ocorre pela via fecal-oral. Resumidamente, ao chegar no intestino, ocorre uma invasão das células M pela bactéria e de enterócitos por meio de rearranjo do citoesqueleto dessas células, induzida por proteínas efetoras secretadas pelo agente. O processo gerado atrai neutrófilos para o local, seguido por uma infiltração dessas células na lâmina própria e resultando no alcance a porção basal das células e a fagocitose macrófagos e neutrófilos. Em humanos, a doença pode se apresentar de várias formas, acontecendo uma dependência do sorovar envolvido como, por exemplo, o sorovar adaptado *S. Typhi*, responsável pela febre tifóide, o *S. Paratyphi A* e *C* pela febre entérica. Os demais sorovares não adaptados causam normalmente gastroenterite em humanos (SANTOS et al., 2003; PAIM et al., 2019).

O período de incubação da *Salmonella* pode variar entre 6 e 72 horas, com uma média de 12 a 36 horas para manifestação de sintomas, que podem perdurar até sete dias (EFSA, 2018). Em diversas espécies, tanto o tempo de incubação quanto a gravidade da infecção dependem de diversos fatores relacionados tanto ao hospedeiro quanto ao microrganismo. Crianças, idosos, gestantes e pacientes imuno comprometidos são mais susceptíveis a salmonelose com quadros clínicos mais graves. O potencial de virulência da cepa, sua capacidade de invasão, de resistência a antimicrobianos e sua dose infectante também influenciam na gravidade da doença (TACK et al., 2019)

De acordo com Gonzalez-Escobedo et al. (2011), a febre tifóide é a enfermidade mais prevalente em locais com condições de saneamento básico precárias, sendo associada à ingestão de alimentos e água contaminada por conteúdo fecal. A doença é caracterizada por uma manifestação de sepse, onde tecidos como fígado, baço, intestinos, ossos e vesícula biliar podem ser acometidos, cursando em sinais clínicos diversos, como náuseas, vômito, febre, diarreia, constipação e até óbito (CRAWFORD et al., 2010; FORSYTHE, 2013).

A febre entérica apresenta sintomatologia similar a da febre tifóide, porém, com uma característica mais branda. As infecções nestes casos podem ocorrer em decorrência do consumo de água e alguns alimentos contaminados como o leite cru, ovos, mariscos e vegetais. A gastroenterite ocorre após a ingestão dos sorovares não adaptados, sendo o *S. Enteritidis* o mais relatado, porém, outros sorovares, como o Typhimurium, Derby, Panama,

Schwarzengrund, Infantis, Agona, já foram relatados. (CAPALONGA et al., 2014; ZERO; RODRIGUES, 2017).

A infecção dos animais pode ocorrer pela ingestão de alimentos contaminados, contato com animais de outras propriedades, como insetos, pulgas, pássaros, cachorros ou gatos e pelo próprio ambiente de produção. A contaminação da carne suína, por sua vez, ocorre no abatedouro, através do contato direto ou pela contaminação cruzada da carcaça positivas para o patógeno com o conteúdo intestinal ou fezes (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018).

O jejum pré-abate e o estresse do transporte têm sido indicados como grandes fatores desencadeantes para a excreção da *Salmonella* sp. podendo influenciar a contaminação dos animais em contato nos caminhões assim como, nas baias de espera dos abatedouros, já que a invasão do agente ocorre poucas horas após a transmissão. Essas condições potencializam a contaminação da cadeia produtiva, pois o alto índice de animais infectados determina os riscos de contaminação de carcaças e produtos, através de eventual extravasamento de conteúdo intestinal e contaminações cruzadas. (MCKEAN et al., 2001; ZERO; RODRIGUES, 2017)

No processo evolutivo de cada sorovar há acúmulos de mutações, que muitas vezes selecionam cepas que acabam por desenvolver mecanismos próprios para infecção de um hospedeiro específico (JAJERE, 2019). Dentre eles, pode-se citar como sorovares espécie-específicos *S. Pullorum* para as aves, *S. Dublin* para bovinos, *S. Cholerasuis* para suínos e *S. Typhi* e *S. Paratyphi* para os humanos. A infecção de humanos por sorovares específicos para outras espécies geralmente podem causar complicações, uma vez que essas estirpes podem ser altamente invasivas, e em casos mais graves, pode causar óbito (NAKAO et al., 2018).

A gravidade da salmonelose em humanos está diretamente relacionada à interação hospedeiro-parasita. Condições do hospedeiro como idade, genética, doenças crônicas pré-existentes, comprometimento do sistema imune, entre outros, são fatores relacionados à gravidade da doença (MENDONÇA et al., 2020). Porém, características do patógeno, como resistência a antimicrobianos, capacidade de invasão, produção de fímbrias, codificação de proteínas efectoras, formação de biofilmes, entre outras, também estão relacionadas aos danos ao hospedeiro, bem como sua manutenção no ambiente, e conseqüentemente, na maior possibilidade de infectar um hospedeiro suscetível (SILVA et al., 2019).

A sorotipagem da *Salmonella* sp. é de grande importância para a saúde pública, a segurança dos alimentos e o comércio nacional e internacional de alimentos, em especial os

de origem animal. O conhecimento dos sorovares mais prevalentes em uma determinada região geográfica ou em produtos específicos, como a carne suína, permite que sejam adotadas medidas mais efetivas de prevenção e controle da *Salmonella* (LIMA et al., 2016).

Tanto os Estados Unidos quanto a União Europeia, possuem órgãos de vigilância bastante ativos, com a preocupação de identificar o patógeno envolvido e realizar notificações, para que os dados epidemiológicos contribuam na rastreabilidade e na identificação de possíveis novos surtos. No Brasil, apesar de possuir órgãos de vigilância sanitária e epidemiológica, a identificação e a subnotificação é outra realidade com investigações incompletas e não notificadas aos órgãos oficiais, produzindo um sistema epidemiológico com dados frágil e falhas. Portanto, a real incidência do envolvimento da *Salmonella* spp. em casos de infecção alimentar é desconhecida no Brasil (SANTOS et al., 2020).

Dados dos Estados Unidos, do ano de 2018, mostram que *Salmonella* foi responsável por aproximadamente 9.084 casos, 2.416 hospitalizações e 36 óbitos, sendo todos relacionados a doenças de origem alimentar (TACK et al., 2019). Na União Européia, apesar das normas regulatórias para manter os níveis de *Salmonella* sob controle tanto em animais quanto em humanos, em 2019, casos envolvendo *Salmonella* foram confirmados em 87.923 humanos, tendo sido relatados 926 surtos de salmonelose de origem alimentar, que causaram 9.169 manifestações clínicas, 1.915 hospitalizações e 7 óbitos (EFSA, 2021).

A fragilidade dos dados epidemiológicos sobre a prevalência e a escassez de dados quantitativos desses patógenos na cadeia alimentar pode inviabilizar a adoção de medidas profiláticas adequadas (RISTORI et al., 2017). Dados epidemiológicos do Ministério da Saúde indicam que os agentes etiológicos mais frequentes associados às doenças de origem alimentar são de origem bacteriana, predominando *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. (BRASIL, 2018a). Entre os sorvares de *Salmonella*, *S. Typhimurium* tem sido relatada como o principal sorovar isolado de infecções sistêmicas em humanos e *S. Enteritidis* está mais relacionada a surtos alimentares (REIS et al., 2018)

No período de 2003 a 2018, foram oficialmente notificados 10.898 surtos de doenças de origem alimentar no Brasil, tendo as regiões Sul e Sudeste os maiores percentuais registrados. Os alimentos são identificados como causa em 45,6% dos casos, entretanto apenas 21,3% dos agentes etiológicos responsáveis foram identificados. Até 2008, a maior ocorrência registrada

em alimentos foi associada à *Salmonella* spp., havendo uma inversão de agente causador em 2011, quando o agente mais frequente passou a ser a *Escherichia coli*. (BRASIL, 2018a).

Mundialmente, os quadros de gastroenterite aguda causados por *Salmonella* não tifoïdes possuem como principais alimentos envolvidos diversos produtos de origem animal como, por exemplo, suínos, bovinos, frango, ovos, leite, além de frutas e hortaliças (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020). Esta bactéria faz parte da microbiota em muitas espécies animais como reptéis, pássaros, insetos e animais de fazenda, classificando-os como importantes reservatório desse patógeno (DESTA SISAY, 2015).

A prevenção da salmonelose consiste em diversas medidas de controle que devem ser adotadas do campo à mesa, ou seja, na granja, nas indústrias alimentícias, no transporte, acondicionamento e manipulação dos produtos de origem animal, bem como nas cozinhas industriais e residenciais. Em todas essas fases, a higienização adequada do ambiente e das instalações é primordial para o controle do patógeno, cabendo ao consumidor final continuar com as práticas de higienização na residência e realizar a cocção adequado do alimento (TACK et al., 2019).

A presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas foi alvo de avaliação do Ministério da Agricultura entre 2014 e 2015, obtendo prevalência de 10%. A partir destes dados foi formulado um programa de controle microbiológico em carcaças com a Instrução Normativa 60/2018, onde consta um plano de amostragem em cada etapa do abate e processamento de acordo com o tamanho do estabelecimento, para se ter um acompanhamento na prevalência de *Salmonella* sp. nas carcaças (MASSARA BRASILEIRO et al., 2017; BRASIL, 2018b). Na Europa, em 2016, o índice de detecção de *Salmonella* em carne suína foi de 2,38% (DE CESARE, 2018).

As salmoneloses possuem grande importância mundial na área da saúde pública, devido as suas características de morbidade, por serem epidêmicas e principalmente pela dificuldade de controle. Esses fatores devem-se a diversos parâmetros epidemiológicos, principalmente pelas diversas fontes e vias de infecção e transmissão presentes em seu ciclo (PAIM et al., 2019).

Estudos têm relatado a presença de *Salmonella* na cadeia produtiva suína brasileira nas últimas décadas, identificando este patógeno em animais, linfonodos mesentéricos, cortes processados e linguiça frescal (BESSA et al., 2004; SILVA et al., 2008; SPRICIGO et al., 2008; BANDEIRA et al., 2018). Estudos recentes relacionam suínos como reservatórios de

Salmonella sp. ao abate, demonstrando uma importante amplificação no índice de amostras positivas ao longo do processamento com matéria-prima proveniente de lotes positivos. (BERSOT et al., 2019; PAIM et al., 2019; POSSEBON et al., 2020; VIANA et al., 2020; DE AZEVEDO et al., 2021)

No aspecto de produção, a realização de testes de sorotipagem para identificar quais os sorovares presentes nas granjas contaminadas é uma importante ferramenta epidemiológica de caráter complementar na identificação de *Salmonella*, pois aponta a tendência da presença de um determinado sorovar em determinada região geográfica, facilitando assim a identificação de fontes de contaminação e meios de transmissão (LIMA et al., 2016).

2.4. Fatores de virulência

A presença de uma ancestralidade e o diverso maquinário bacteriano em comum, a maioria dos sorovares do gênero *Salmonella* geram uma gastroenterite no hospedeiro. Tal situação é consequência dos diversos genes-chave de virulência adquiridos da coevolução e contato com diferentes hospedeiros, iniciando com os pecilotérmicos e expandindo para inúmero outros hospedeiros as espécies homeotérmicos, alcançando reservatórios de infecções humanas (TANNER; KINGSLEY, 2018).

A família *Enterobacteriaceae* é composta por membros similares entre si e o gênero *Salmonella* é bastante estudado dentro desta família. A variação genética deste microrganismo está relacionada à codificação de estruturas como os lipopolissacarídeos, flagelos e fímbrias, bem como a expressão de genes de virulência específicos que alteram a fisiologia celular ou protegem o patógeno das defesas do hospedeiro. A variabilidade fenotípica observada em cepas de *Salmonella enterica* é determinada por mecanismos biológicos em seu genoma e sua repercussão na epidemiologia da doença são frequentemente objetos de estudos (FIERER; GUINEY, 2001; HSU et al., 2013; MENDONÇA et al., 2020).

Vários sorovares de *Salmonella* spp. tiveram seu material genético sequenciados e caracterizados por métodos moleculares, portanto, grande parte dos genes é descrita e também se conhece a maioria das funções que cada um determina para a bactéria (FIGUEIREDO et al., 2015). Alguns genes possuem funções necessárias à sobrevivência, pois codificam proteínas funcionais para a movimentação, respiração, aquisição de nutrientes entre outras. Outros genes podem determinar funções que definem vantagens evolutivas e competitivas para o microrganismo, como invasão da célula hospedeira, resistência a determinados

antimicrobianos e enterotoxinas. Um exemplo, o gene *sapA* é associado a resistência a antimicrobianos enquanto o gene *spvB* é um plasmídeo com funções relacionado a virulência (MOHAMED et al., 2014; LAN et al., 2018).

Esses genes podem ser localizados em plasmídeos ou dentro do cromossomo como unidades de um ou alguns genes de virulência (ilhas) ou grandes cassettes compostos por diversos genes e operons (ilhas de patogenicidade). As ilhas de patogenicidade geralmente acomodam grandes grupos de genes que contribuem para um fenótipo de virulência particular, que pode se manifestar em um momento específico durante o curso da infecção. Assim, para algumas bactérias entéricas, uma única ilha de patogenicidade pode converter um microrganismo normalmente benigno em um patógeno (KIM et al., 2017; JAJERE, 2019).

A patogenicidade da *Salmonella* depende de uma variedade de fatores de virulência que auxiliam o patógeno nos processos de adesão, invasão, sobrevivência intracelular, expressão fimbrial, infecção sistêmica, produção de toxinas e absorção de magnésio e ferro (ZOU; KEELARA; THAKUR, 2012; FARDSANEI et al., 2018).

Durante a fase de adesão, as moléculas adesinas, expressas pela bactéria, interagem e se fixam em receptores específicos presentes na superfície das células do hospedeiro. Contudo, as adesinas possuem determinantes antigênicos que sinalizam ao sistema imune acerca da existência de um corpo estranho ativando a resposta inflamatória das células de defesa, como neutrófilos (OLIVEIRA, A. P; SOLA, M. C; FEI0STEL, J. C; MOREIRA, N. M; OLIVEIRA, 2013).

Essas sinalizações que ocorrem nas células do hospedeiro podem induzir a alterações em suas superfícies e mudança na conformação dos receptores. Dessa forma, o patógeno pode trocar seu padrão de adesina por outro para se adaptar melhor ao novo formato de receptores e dar continuidade à sua colonização bacteriana (FIGUEROA OCHOA; VERDUGO RODRÍGUEZ, 2005).

As adesinas de bactérias Gram-negativas são representadas pela cápsula, pili, fímbrias, flagelos e LPS. Por dispor de várias delas, *Salmonella* spp tem sucesso ao aderir em superfícies vivas e não-vivas e, ainda, obtém estabilidade para formar biofilmes (OLIVEIRA, A. P; SOLA, M. C; FEI0STEL, J. C; MOREIRA, N. M; OLIVEIRA, 2013). Os genes *agfA* e *lpfA*, por exemplo, codificam a síntese de fímbrias, contribuem na fixação das bactérias entre si ao substrato. Eles são associados ao potencial de formação de biofilmes, à adaptação ambiental e participam do processo de invasão celular. As fímbrias sintetizadas colaboram

ainda, no estabelecimento da colonização bacteriana das células epiteliais do organismo infectado (YOO et al., 2013). WEBBER et al., (2019) avaliaram a prevalência desses genes em cepas de *Salmonella* e identificaram a presença de ambos os genes em 100% das amostras.

Plasmídeos estão presentes em diversos sorovares, podendo transferir informações genéticas além de possuírem a capacidade de codificar fatores de virulência mediante seus genes de virulência (VAN DEN BERG et al., 2019). Em especial, um plasmídeo de alta massa molecular, denominado *spv* (*Salmonella plasmid virulence*) que codifica cinco genes (*spvRABCD*) e se relacionam à capacidade de auxiliar no crescimento, sobrevivência e multiplicação da bactéria e são considerados como essenciais para a bactéria multiplicar e sobreviver em estágios intracelulares da infecção (HOOTON et al., 2014).

Ilhas de patogenicidade são estruturas contidas no genoma, constituídas por amplas regiões cromossômicas que variam de 10.000 a 200.000 pares de bases, de alta instabilidade e com características distintas do restante do genoma bacteriano. Estas são diferentes do restante do cromossomo e estão comumente associadas a genes que codificam RNA transportador. Suas extremidades possuem regiões denominadas de *hot spots*, que são elementos envolvidos na mobilidade genética (FIGUEIREDO et al., 2015; MOHAMMED et al., 2017).

Nas ilhas de patogenicidade estão presentes vários genes que podem contribuir para um determinado fenótipo de virulência, o qual é manifestado em um período específico durante o curso da infecção. A aquisição de uma ilha de patogenicidade por um organismo não garante a sua transformação em um patógeno de fato, a virulência é determinada não só pelo microrganismo, mas também pela susceptibilidade do hospedeiro (OLIVEIRA, A. P; SOLA, M. C; FEIOSTEL, J. C; MOREIRA, N. M; OLIVEIRA, 2013; LOU et al., 2019).

Existem atualmente, 17 ilhas de patogenicidade descritas no gênero *Salmonella*, a SPI-1 é a mais bem caracterizada, principalmente por estar presente em todas as espécies de *Salmonella* e conter o gene *invA*, muito utilizado na identificação do gênero (JAJERE, 2019). Na SPI-1 estão localizados genes necessários para invasão, característica importante para virulência (HENSEL, 2004).

Uma das principais *operon* codificados na SPI-1 é conhecida como sistema de secreção do tipo 3 ou T3SS (*Type-3 Secretory System*), que regulam o respectivo fenótipo de virulência pela translocação de proteínas codificadas pelas bactérias para o citosol da célula hospedeira. Os sistemas de secreção do tipo III são usados por muitos patógenos bacterianos para

viabilizar fatores de virulência à célula hospedeira e interferir ou subverter as vias normais de sinalização da célula hospedeira. Porém, nem todos os genes localizados neste locus estão necessariamente relacionados com o T3SS. O cluster do gene *sit*, por exemplo, que codifica um sistema de captura de ferro, também está localizado em SPI-1.(FIGUEIRA; HOLDEN, 2012; OLIVEIRA, A. P; SOLA, M. C; FEIOSTEL, J. C; MOREIRA, N. M; OLIVEIRA, 2013).

A SPI-1 possui aproximadamente 40 kb de tamanho e possuem pelo menos 29 genes, codificando vários componentes de um sistema de secreção do tipo III, seus reguladores e seus efetores secretados (JAJERE, 2019). Exemplos de efetores codificados pela SPI-1 são *sptP* (*Salmonella protein tyrosine phosphatase*), *sipA* (*Salmonella invasion protein*), SipB, SipC e AvrA (*fator de avirulência A*). As proteínas Sip (SipA, SipB, SipC, SipD) foram caracterizadas com base em seu envolvimento na invasão das células, contribuindo para os rearranjos de actina na célula hospedeira para potencializar a invasão (STUBER et al., 2003; JAJERE, 2019).

A capacidade de *Salmonella* em sobreviver no interior de fagócitos e de replicar dentro de vesículas de células eucarióticas é um processo complexo, requerendo o envolvimento de muitos genes, incluindo aqueles que auxiliam na sobrevivência a formas reativas de oxigênio, baixo pH e defensinas. A maioria destes genes está localizada na SPI-2, essencial para habilidade de proliferar em tecido extra-intestinal e causar infecções sistêmicas (SCHMIDT; HENSEL, 2004; FIGUEIRA; HOLDEN, 2012).

A organização genética e funcional de SPI-3 é diferente de SPI-1 e SPI-2, o principal fator de virulência codificado pela SPI-3 é um sistema de transporte de alta afinidade com Magnésio (MgtCB), que é importante para o fenótipo de *Salmonella* intracelular. Para a replicação intracelular, a bactéria precisa adaptar-se ao ambiente microbicida e pobre em nutrientes do fagossomo, o qual é limitado em purinas, pirimidinas, alguns aminoácidos e íons de magnésio. Um número grande de vias metabólicas e sistemas de transporte é necessário para a adaptação a este ambiente (BLANC-POTARD et al., 1999; LEE; LEE, 2015). Cepas mutantes deficientes no sistema MgtCB são incapazes de proliferação intracelular e virulência sistêmica. (LEE; LEE, 2015)

As características da SPI-4 na virulência de *Salmonella* ainda não estão completamente esclarecidas, mas muitos fatores de virulência estão presentes, como o T1SS e ORFs (*open reading frame*) (HENSEL, 2004). Genes da SPI-4 são necessários para a fase intestinal da

infecção, pela codificação de adesinas não fimbriais (RYCHLIK et al., 2009; JAJERE, 2019). SPI-4 codifica um T1SS para a adesina não fimbrial *SiiE*, que media o contato íntimo da bactéria com os microvilosidades da membrana apical, sendo necessária para adesão da *Salmonella* às células epiteliais polarizadas. A adesão às células, mediada pela SPI-4 pode ser um requerimento funcional para a subsequente translocação de proteínas efetoras mediada por SPI-1, resultando em inflamação e respostas inflamatórias. Sem a adesão mediada pela secreção de *SiiE*, *Salmonella* é quase incapaz de ativar a remodelação do citoesqueleto celular mediada pela SPI-1 levando à absorção do patógeno (WILLE et al., 2014; JAJERE, 2019).

A SPI-5 é um pequeno locus de 7,6 Kb que codifica proteínas efetoras para os T3SS codificados por SPI-1 e SPI-2. Nesta codifica-se proteínas efetoras que em conjunto a outras proteínas são necessárias a enteropatogenicidade no hospedeiro suscetível. O gene *SopB* é translocado pelo T3SS codificado pela SPI-1 e a expressão de *sopB* é controlada por HilA, o regulador de transcrição central de SPI-1. Estudos indicam que o gene *sopB* está presente em *Salmonella bongori* e em todas as subespécies de *Salmonella enterica* (HENSEL, 2004; BERTELLONI et al., 2017)

Um locus de 59 Kb no genoma do sorovar Typhi que foi denominado de SPI-6, onde contém o gene *saf* para fimbrias, *pagN* que codifica uma invasina e muitos genes de função desconhecida. Apesar de SPI-6 codificar muitos genes de virulência, o papel dessa ilha é pouco esclarecido (HENSEL, 2004; MOHAMMED et al., 2017).

A SPI-7 possui tamanho de 133 Kb, é um locus associado aos sorovares Typhi, Dublin e Paratyphi C (HENSEL, 2004), e sua estrutura em forma de mosaico compreende regiões implicadas na virulência. Um importante fator de virulência codificado pela SPI-7 é o antígeno Vi, um exopolissacarídeo capsular. O fago *sopE* que codifica a proteína efetora *SopE* do T3SS-SPI1 está presente em SPI7. Outro fator de virulência é o pilus IVB codificado pelo grupo de genes *pil* (HENSEL, 2004; SETH-SMITH, 2008; JAJERE, 2019).

As ilhas de patogenicidade 6 a 17 ainda carecem de estudos, sendo algumas funções muito importantes já identificadas. Na SPI-8 os fatores de virulência são bacteriocinas, embora a SPI-8 parece ser específica para o sorovar Typhi, sua distribuição ainda não foi investigada em detalhes (HENSEL, 2004), A SPI-11 e SPI-13 possuem um papel importante que é a permanência no interior de macrófagos (SHAH et al., 2005; ELDER et al., 2018).

2.4.1. Sequenciamento de genoma completo

O estudo de métodos para detecção da presença de fatores de virulência em bactérias patogênicas é foco de muitas pesquisas no intuito de facilitar a sua identificação e reduzir os custos finais nesse processo. Métodos como sequenciamento de DNA, hibridização de DNA e Reação em cadeia da polimerase são bastante utilizados na detecção de genes de virulência e resistência a antimicrobianos em numerosos gêneros de bactérias. A detecção de genes relacionados a transposons, integrons e plasmídeos é realizada principalmente por técnicas de biologia molecular (IBRAHIM; MORIN, 2018). Ainda, a caracterização de ilhas de patogenicidade é utilizada para descrever sorovares e linhagens específicos de *Salmonella* spp. (CHEN et al., 2005).

Com o passar do tempo, a variabilidade genética pode ocorrer nos microrganismos, principalmente de genes que estejam situados em elementos móveis, já que são facilmente obtidos ou perdidos. Estudos em *S. Heidelberg* apontou essa variação temporal gênica no Brasil. Webber et al., (2019) comprovaram que estirpes isoladas entre os anos de 2016 e 2017 eram distintas geneticamente de outras identificadas em 2006. Para compreender o atual quadro epidemiológico da salmonelose e utilizar os melhores métodos de prevenção e controle dessa doença, é importante monitorar os perfis de virulência do gênero e para isto técnicas de sequenciamento do genoma são utilizados nos dias de hoje.

O sequenciamento de todo o genoma bacteriano é possível de ser realizado, apesar de representar uma técnica laboriosa e onerosa. A respeito de *Salmonella*, existem dados publicados de sequenciamento de diversos sorovares e podem ser obtidos na plataforma GenBank que é administrado pelo Centro Nacional para Informação de Biotecnologia (NCBI). A partir dos dados presentes no GenBank pode-se comparar um ou mais fragmentos de DNA obtidos de *Salmonella* sem haver necessidade de sequenciar todo o seu genoma (AKIBA; KUSUMOTO; IWATA, 2011).

Entre as tecnologias de sequenciamento genético, o *Whole Genome Sequencing* (WGS) tem possibilitado o diagnóstico e a tipagem molecular de patógenos e se tornado cada vez mais acessível (TASMIN et al., 2017). Segundo HOFFMANN et al., (2014), o WGS seria um método confiável para distinguir isolados de surtos provocados por *Salmonella* spp., já que permite a detecção de alterações em poucos nucleotídeos entre estirpes aparentemente clonais. Além do mais, o WGS proporciona a visualização do genoma bacteriano com alto grau de resolução, permitindo não só comparações com propósitos epidemiológicos, mas também, a visualização de alterações estruturais ligadas a evolução dos microrganismos e aquisição de características de virulência (WALKER et al., 2013).

Monte e colaboradores (2019), ao utilizar técnicas de WGS, identificaram sorovares raros e resistentes a antimicrobianos na cadeia produtiva de alimentos no Brasil, demonstrando ser um meio útil de conhecer as interações filogenéticas e fornecer genotipagem de alta resolução em cepas de *Salmonella*.

Diversos estudos em todo o mundo têm destacado a importância do uso do WGS na identificação e vigilância de surtos envolvendo *Salmonella*, permitindo identificar os sorovares específicos envolvidos, como os genes de virulência se disseminam ao longo da cadeia de alimentos, permitindo a adoção de medidas mais direcionadas e efetivas, pois seu poder discriminatório excede os métodos clássicos de tipagem como sorotipagem, PFGE e perfis de resistência (CHAUDHARY et al., 2015; MCDERMOTT et al., 2016; INNS et al., 2017; IBRAHIM; MORIN, 2018; RAU et al., 2018; SIMON et al., 2018).

3. REFERENCIAS

- ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. **Journal of tropical medicine**, v. 2020, p. 4674235, 2020. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32684938>>.
- ADDIS, M.; SISAY, D. A Review on Major Food Borne Bacterial Illnesses. **Journal of Tropical Diseases & Public Health**, v. 3, n. 4, p. 1–7, 2015.
- ADLEY, C. C.; RYAN, M. P. The Nature and Extent of Foodborne Disease. In: **Antimicrobial Food Packaging**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 1–10.
- AKIBA, M.; KUSUMOTO, M.; IWATA, T. Rapid identification of *Salmonella enterica* serovars, Typhimurium, Choleraesuis, Infantis, Hadar, Enteritidis, Dublin and Gallinarum, by multiplex PCR. **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, n. 1, p. 9–15, abr. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701211000534>>.
- ANDREWS, S. **FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data**. 2010, 2017. .
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, A. Relatório Anual. **Associação Brasileira de Proteína Animal**, p. 160, 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>.
- BANDEIRA, R.; PELLEGRINI, D. da C. P.; CARDOSO, M. Ocorrência de *Salmonella* sp. em cortes de pernil provenientes de lotes suínos; portadores ao abate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 2, p. 203, 30 mar. 2018. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/15972>>.
- BATEMAN, A. et al. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D480–D489, 8 jan. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article/49/D1/D480/6006196>>.
- BERTELLONI, F. et al. Some pathogenic characters of paratyphoid *Salmonella enterica* strains isolated from poultry. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 12, p. 1161–1166, dez. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1995764517313585>>.
- BESEMER, J. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 12, p. 2607–2618, 15 jun. 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/29.12.2607>>.
- BESSA, M. C.; COSTA, M. da; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 80–84, jun. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2004000200006&lng=pt&tIng=pt>.
- BLANC-POTARD, A.-B. et al. The SPI-3 Pathogenicity Island of *Salmonella enterica*. **Journal of Bacteriology**, v. 181, n. 3, p. 998–1004, fev. 1999. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JB.181.3.998-1004.1999>>.
- BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, ago. 2014.

BRANDWAGT, D. et al. Outbreak of *Salmonella Bovismorbificans* associated with the consumption of uncooked ham products, the Netherlands, 2016 to 2017. **Eurosurveillance**, v. 23, n. 1, 4 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.1.17-00335>>.

BRASIL. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da Salmonella spp.** [s.l.: s.n.]

BRASIL. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, p. 16, 2018a.

BRASIL. Instrução Normativa nº 60, de 20 de dezembro de 2018. **Diário Oficial da União**, v. I, p. 4–6, 2018b.

BURNS, A. M. et al. *Salmonella* occurrence and Enterobacteriaceae counts in pig feed ingredients and compound feed from feed mills in Ireland. **Preventive veterinary medicine**, v. 121, n. 3–4, p. 231–9, 1 out. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26211839>>.

CAPALONGA, R. et al. *Salmonella* serotypes, resistance patterns, and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 07, p. 811–817, 14 jul. 2014. Disponível em: <<https://jidc.org/index.php/journal/article/view/25022289>>.

CDC. An atlas of *Salmonella* in the United States, 1968–2011. **National Center for Emerging Zoonotic Infectious Diseases. Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases**, v. 1, n. 1, p. 1–248, 2013. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/>>.

CHAUDHARY, J. H. et al. Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. **Veterinary World**, v. 8, n. 1, p. 121–124, jan. 2015. Disponível em: <<http://www.veterinaryworld.org/Vol.8/January-2015/23.html>>.

CHEN, S. et al. A DNA microarray for identification of virulence and antimicrobial resistance genes in *Salmonella* serovars and *Escherichia coli*. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, n. 3, p. 195–201, jun. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890850804001082>>.

CHEVREUX, B. et al. Using the miraEST assembler for reliable and automated mRNA transcript assembly and SNP detection in sequenced ESTs. **Genome Research**, v. 14, n. 6, p. 1147–1159, jun. 2004.

CHLEBICZ, A.; ŚLIŻEWSKA, K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 5, p. 863, 26 abr. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1660-4601/15/5/863>>.

CONSORTIUM, U. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. **Nucleic acids research**, v. 47, n. D1, p. D506–D515, 2019.

COTA, J. B. et al. Pheno and genotyping of *Salmonella* from slaughtered pigs in a Portuguese abattoir reveal differential persistence ability. **Veterinary Microbiology**, v. 239, n. October, p. 108457, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108457>>.

CRAWFORD, R. W. et al. Gallstones play a significant role in *Salmonella* spp. gallbladder colonization and carriage. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 9, p.

4353–4358, 2 mar. 2010. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1000862107>>.

DE CESARE, A. Salmonella in Foods: A Reemerging Problem. **Advances in food and nutrition research**, v. 86, p. 137–179, 2018. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30077221>>.

DE MELO, A. N. F. et al. Genomic investigation of antimicrobial resistance determinants and virulence factors in Salmonella enterica serovars isolated from contaminated food and human stool samples in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 343, p. 109091, abr. 2021.

DESTA SISAY, M. A. A Review on Major Food Borne Bacterial Illnesses. **Journal of Tropical Diseases**, v. 03, n. 04, 2015. Disponível em:

<<http://www.esciencecentral.org/journals/a-review-on-major-food-borne-bacterial-illnesses-2329-891X-1000176.php?aid=59714>>.

DONACHIE, A. et al. National outbreak of Salmonella GIVE linked to a local food manufacturer in Malta, October 2016. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 11, p. 1425–1432, 26 ago. 2018. Disponível em:

<https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268818001656/type/journal_article>.

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 12, dez. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2018.5500>>.

EFSA AND ECDC. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 19, n. 2, p. 286, fev. 2021. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2021.6406>>.

ELDER, J. R. et al. Genomic organization and role of SPI-13 in nutritional fitness of Salmonella. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, n. 8, p. 1043–1052, dez. 2018. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422118303400>>.

EMMS, D. M.; KELLY, S. OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics. **Genome Biology**, v. 20, n. 1, p. 238, 14 dez. 2019. Disponível em:

<<https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-019-1832-y>>.

ENG, S.-K. et al. Salmonella : A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284–293, 3 jul. 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21553769.2015.1051243>>.

FARDSANEI, F. et al. Antimicrobial resistance, virulence genes and genetic relatedness of Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates recovered from human gastroenteritis in Tehran, Iran. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 12, p. 220–226, mar. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213716517301923>>.

FIERER, J.; GUINEY, D. G. Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of Salmonella infection. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 7, p. 775–780, 1 abr. 2001. Disponível em: <<http://www.jci.org/articles/view/12561>>.

FIGUEIRA, R.; HOLDEN, D. W. Functions of the Salmonella pathogenicity island 2 (SPI-2) type III secretion system effectors. **Microbiology (Reading, England)**, v. 158, n. Pt 5, p.

1147–1161, maio 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22422755>>.

FIGUEIREDO, R. et al. Virulence characterization of *Salmonella enterica* by a new microarray: Detection and evaluation of the cytolethal distending toxin gene activity in the unusual host *S. Typhimurium*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–14, 5 ago. 2015. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0135010>>.

FIGUEROA OCHOA, I. M.; VERDUGO RODRÍGUEZ, A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 47, n. 1–2, p. 25–42, 2005.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. [s.l.: s.n.]

FOUNOU, L. L.; FOUNOU, R. C.; ESSACK, S. Y. Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country-Perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 23 nov. 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01881/full>>.

FRAGA, N. C.; CAVATORTA, M. G.; GONÇALVES, C. TROPEIROS DE PORCOS: A IMPORTÂNCIA DOS PORCADEIROS E DA SUINOCULTURA NA FORMAÇÃO SOCIOESPACIAL DE PITANGA (PR). **Revista Tamoios**, v. 13, n. 1, 4 jul. 2017. Disponível em: <<http://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/tamoios/article/view/25257>>.

GONZALEZ-ESCOBEDO, G.; MARSHALL, J. M.; GUNN, J. S. Chronic and acute infection of the gall bladder by *Salmonella* Typhi: understanding the carrier state. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 9–14, 29 jan. 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro2490>>.

GRANT, A. J. et al. Attenuated *Salmonella* Typhimurium Lacking the Pathogenicity Island-2 Type 3 Secretion System Grow to High Bacterial Numbers inside Phagocytes in Mice. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 12, p. e1003070, 6 dez. 2012. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1003070>>.

GYMOESE, P. et al. Investigation of Outbreaks of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Its Monophasic Variants Using Whole-Genome Sequencing, Denmark. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 10, p. 1631–1639, out. 2017. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/10/16-1248_article.htm>.

HENSEL, M. Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 294, n. 2–3, p. 95–102, set. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422104000566>>.

HOFFMANN, M. et al. Comparative Genomic Analysis and Virulence Differences in Closely Related *Salmonella enterica* Serotype Heidelberg Isolates from Humans, Retail Meats, and Animals. **Genome Biology and Evolution**, v. 6, n. 5, p. 1046–1068, maio 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/gbe/article-lookup/doi/10.1093/gbe/evu079>>.

HOOTON, S. P. T. et al. The complete plasmid sequences of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium U288. **Plasmid**, v. 76, p. 32–39, nov. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147619X14000614>>.

HSU, Y.-M. et al. Comparative study of class 1 integron, ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole, tetracycline (ACSSuT) and fluoroquinolone resistance in various *Salmonella* serovars from humans and animals. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 1, p. 9–16, jan. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147957112001002>>.

- IBRAHIM, G. M.; MORIN, P. M. Salmonella Serotyping Using Whole Genome Sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 13 dez. 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02993/full>>.
- ILYAS, B.; TSAI, C. N.; COOMBES, B. K. Evolution of Salmonella-Host Cell Interactions through a Dynamic Bacterial Genome. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 0, n. SEP, p. 428, set. 2017.
- INNS, T. et al. Prospective use of whole genome sequencing (WGS) detected a multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 2, p. 289–298, 26 jan. 2017. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0950268816001941/type/journal_article>.
- ISSENHUTH-JEANJEAN, S. et al. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in microbiology**, v. 165, n. 7, p. 526–30, set. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25049166>>.
- JACOBSEN, A. et al. The Salmonella enterica Pan-genome. **Microbial Ecology** 2011 **62:3**, v. 62, n. 3, p. 487–504, jun. 2011.
- JAJERE, S. M. A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. **Veterinary World**, v. 12, n. 4, p. 504–521, 6 abr. 2019. Disponível em: <<http://www.veterinaryworld.org/Vol.12/April-2019/5.html>>.
- KIM, S. et al. Genomic Approaches for Understanding the Characteristics of Salmonella enterica subsp. enterica Serovar Typhimurium ST1120, Isolated from Swine Feces in Korea. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 11, p. 1983–1993, 28 nov. 2017. Disponível em: <<http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1708.08027>>.
- LAN, T. T. Q. et al. Distribution of Virulence Genes among Salmonella Serotypes Isolated from Pigs in Southern Vietnam. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 9, p. 1459–1466, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/81/9/1459/175057/Distribution-of-Virulence-Genes-among-Salmonella>>.
- LEDERMANN D., W. Una historia del bacilo de Eberth desde Junker hasta Germanier. **Revista chilena de infectología**, v. 20, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182003020200020&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.
- LEE, J.-W.; LEE, E.-J. Regulation and function of the Salmonella MgtC virulence protein. **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 10, p. 667–672, 1 out. 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12275-015-5283-1>>.
- LETUNIC, I.; BORK, P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W293–W296, 2 jul. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article/49/W1/W293/6246398>>.
- LIMA, A. L. et al. Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em Salmonella spp. isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 39–47, fev. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352016000100039&lng=pt&tlng=pt>.

- LOU, L. et al. Salmonella Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 31 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2019.00270/full>>.
- MACHADO, G. B. et al. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572016000100402&lng=pt&tlng=pt>.
- MAPA. Fontes importantes de contaminação por Salmonella em granjas terminadoras de Suínos. **Comunicado Técnico 389**, p. 5, 2004.
- MASSARA BRASILEIRO, A. C. et al. National prevalence of Salmonella spp. In pork slaughterhouses under federal inspection in Brazil, 2014/2015. In: International Conference on the Epidemiology and Control of Biological, Chemical and Physical Hazards in Pigs and Pork, **Anais...** Iowa State University, Digital Press, 2017. Disponível em: <<https://lib.dr.iastate.edu/safepork/2017/allpapers/4/>>.
- MCARTHUR, A. G. et al. The comprehensive antibiotic resistance database. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 57, n. 7, p. 3348–3357, 2013.
- MCDERMOTT, P. F. et al. Whole-Genome Sequencing for Detecting Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal Salmonella. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 9, p. 5515–5520, set. 2016. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01030-16>>.
- MCGHIE, E. J. et al. *Salmonella* takes control: effector-driven manipulation of the host. **Current Opinion in Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 117–124, fev. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136952740800180X>>.
- MCKEAN, J. D. et al. The Prevalence of Food-borne Pathogenic Organisms in Swine and Pork : A Pilot Survey and Demonstration Project from Production Farm to Dressed Carcasses. **Iowa State University Animal Industry Report**, n. 2, p. 202–207, 2001.
- MENDONÇA, E. P. et al. Characteristics of virulence, resistance and genetic diversity of strains of Salmonella Infantis isolated from broiler chicken in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 29–38, jan. 2020. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2020000100029&tlng=en>.
- MOHAMED, T. et al. Molecular characterization of antibiotic resistant Salmonella Typhimurium and Salmonella Kentucky isolated from pre- and post-chill whole broilers carcasses. **Food Microbiology**, v. 38, p. 6–15, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.08.002>>.
- MOHAMMED, M. et al. The invasome of Salmonella Dublin as revealed by whole genome sequencing. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 544, 4 dez. 2017. Disponível em: <<http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-017-2628-x>>.
- MONTE, D. F. et al. Genomic Features of High-Priority Salmonella enterica Serovars Circulating in the Food Production Chain, Brazil, 2000–2016. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 11058, 30 dez. 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-019-45838-0>>.
- NAGOETTE, M. et al. Detection and Characterization of Salmonella spp. in Raw

Commingle Bulk Tank Milk from Dairies in Pennsylvania. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 16, n. 6, p. 434–437, jun. 2019. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2018.2552>>.

NAKAO, J. H. et al. Unusually high illness severity and short incubation periods in two foodborne outbreaks of Salmonella Heidelberg infections with potential coincident Staphylococcus aureus intoxication. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 1, p. 19–27, 6 jan. 2018. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268817002655/type/journal_article>.

NEITZKE, D. C.; ROZA, C. R. da; WEBER, F. H. Segurança dos alimentos: contaminação por Salmonella sp. no abate de suínos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232017000100418&lng=pt&tlng=pt>.

NURK, S. et al. Assembling genomes and mini-metagenomes from highly chimeric reads. In: Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics), **Anais...** Springer, Berlin, Heidelberg, 2013.

OLIVEIRA, A. P.; SOLA, M. C.; FEI0STEL, J. C.; MOREIRA, N. M.; OLIVEIRA, J. J. Salmonella enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. **Enciclopedia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1947–1972, 2013. Disponível em: <<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3503>>.

OVERBEEK, R. et al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). **Nucleic acids research**, v. 42, n. D1, p. D206–D214, 2014.

PAIM, D. S. et al. Enumeration, antimicrobial resistance and typing of salmonella enterica: Profile of strains carried in the intestinal contents of pigs at slaughter in Southern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, p. 1–11, 2019.

PELLEGRINI, D. da C. P. et al. Distribution of Salmonella clonal groups in four Brazilian feed mills. **Food Control**, v. 47, p. 672–678, jan. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713514004629>>.

PORNSUKAROM, S.; VAN VLIET, A. H. M.; THAKUR, S. Whole genome sequencing analysis of multiple Salmonella serovars provides insights into phylogenetic relatedness, antimicrobial resistance, and virulence markers across humans, food animals and agriculture environmental sources. **BMC Genomics** 2018 19:1, v. 19, n. 1, p. 1–14, nov. 2018.

PROROGA, Y. T. R. et al. Characterization of Salmonella Typhimurium and its monophasic variant 1,4, [5],12:i:- isolated from different sources. **Folia Microbiologica**, v. 64, n. 6, p. 711–718, 2019.

RAU, R. B. et al. Emergence of mcr- 1 Producing Salmonella enterica serovar Typhimurium from Retail Meat: First Detection in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 1, p. 58–59, jan. 2018. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2017.2346>>.

RISTORI, C. A. et al. Assessment of Consumer Exposure to Salmonella spp., Campylobacter spp., and Shiga Toxin–Producing Escherichia coli in Meat Products at Retail in the City of Sao Paulo, Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 8, p. 447–453, ago. 2017. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2016.2270>>.

RÖNNQVIST, M. et al. Salmonella risk to consumers via pork is related to the Salmonella prevalence in pig feed. **Food Microbiology**, v. 71, p. 93–97, 2018.

RYAN, M. P.; O'DWYER, J.; ADLEY, C. C. Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen Salmonella. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–6, 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/3782182/>>.

RYCHLIK, I. et al. Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of Salmonella enterica serovar Enteritidis for chickens. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 268, 2009. Disponível em: <<http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-9-268>>.

SANTOS, K. P. O. dos et al. Salmonella spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **Pubvet**, v. 14, n. 10, p. 1–9, out. 2020. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/artigo/7420/salmonella-spp-como-agente-causal-em-doencas-transmitidas-por-alimentos-e-sua-importancia-na-saude-publica-revisao>>.

SANTOS, R. L. et al. Pathogenesis of Salmonella-induced enteritis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 1, p. 03–12, jan. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2003000100002&lng=en&tlng=en>.

SCHMIDT, H.; HENSEL, M. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 1, p. 14–56, jan. 2004. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.17.1.14-56.2004>>.

SCHROEDER, S. et al. A prolonged outbreak of Salmonella Infantis associated with pork products in central Germany, April–October 2013. **Epidemiology and Infection**, v. 144, n. 7, p. 1429–1439, 23 maio 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0950268815002629/type/journal_article>.

SEEMANN, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 30, n. 14, p. 2068–9, 15 jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24642063>>.

SETH-SMITH, H. M. B. SPI-7: Salmonella's Vi-Encoding Pathogenicity Island. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 2, n. 04, 1 ago. 2008. Disponível em: <<http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/220>>.

SHAH, D. H. et al. Identification of Salmonella gallinarum virulence genes in a chicken infection model using PCR-based signature-tagged mutagenesis. **Microbiology**, v. 151, n. 12, p. 3957–3968, 1 dez. 2005. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.28126-0>>.

SILVA, M. C. da et al. Prevalência de Salmonella sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 266–268, 23 jul. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000100045&lng=pt&tlng=pt>.

SILVA, P. L. A. P. A. et al. Biofilm Formation in Different Salmonella Serotypes Isolated from Poultry. **Current Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 124–129, 17 jan. 2019. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00284-018-1599-5>>.

SIMON, S. et al. Evaluation of WGS based approaches for investigating a food-borne outbreak caused by *Salmonella enterica* serovar Derby in Germany. **Food Microbiology**, v. 71, p. 46–54, maio 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002016309194>>.

SPRICIGO, D. A. et al. Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de lingüiça frescal suína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 779–785, dez. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000400003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

STUBER, K. et al. Detection of type III secretion genes as a general indicator of bacterial virulence. **Molecular and cellular probes**, v. 17, n. 1, p. 25–32, fev. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628591>>.

TACK, D. M. et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2015–2018. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 16, p. 369–373, abr. 2019.

TACK, D. M. et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2019. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 69, n. 17, p. 509–514, maio 2020.

TANNER, J. R.; KINGSLEY, R. A. Evolution of *Salmonella* within Hosts. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 12, p. 986–998, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.001>>.

TARABEES, R. et al. Isolation and characterization of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium from chicken meat in Egypt. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 11, n. 04, p. 314–319, 30 abr. 2017. Disponível em: <<https://jids.org/index.php/journal/article/view/28459222>>.

TASMIN, R. et al. Genotypic and phenotypic characterization of multidrug resistant *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Kentucky strains recovered from chicken carcasses. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. e0176938, 8 maio 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0176938>>.

TEJADA, T. et al. DNA Profiles of *Salmonella* Spp. Isolated from Chicken Products and From Broiler and Human Feces. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 18, n. 4, p. 693–700, dez. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-635X2016000400693&lng=en&tlng=en>.

VAN DEN BERG, R. R. et al. Characterization and whole genome sequencing of closely related multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates from imported poultry meat in the Netherlands. **PLoS ONE**, v. 14, n. 7, p. 1–20, 2019.

VAN DER GAAG, M. A. et al. A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. **European Journal of Operational Research**, v. 156, n. 3, p. 782–798, ago. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377221703001413>>.

WALKER, T. M. et al. Whole-genome sequencing to delineate *Mycobacterium tuberculosis*

outbreaks: a retrospective observational study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 2, p. 137–146, fev. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309912702773>>.

WEBBER, B. et al. Detection of virulence genes in Salmonella Heidelberg isolated from chicken carcasses. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652019005000218&tlng=en>.

WHO. **Estimating the burden of foodborne diseases: A practical handbook for countries**. [s.l: s.n.]

WILLE, T. et al. SiiA and SiiB are novel type I secretion system subunits controlling SPI4-mediated adhesion of *Salmonella enterica*. **Cellular Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 161–178, fev. 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12222>>.

YOO, A. Y. et al. Role of sigma factor E in regulation of Salmonella Agf expression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 430, n. 1, p. 131–136, jan. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X12021857>>.

ZEINER, S. A.; DWYER, B. E.; CLEGG, S. FimA, FimF, and FimH Are Necessary for Assembly of Type 1 Fimbriae on *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 9, p. 3289, set. 2012.

ZERO, R. C.; RODRIGUES, J. D. O. Salmonella: Riscos, Transmissão E Controle Na Cadeia De Produção Suína - Revisão Da Literatura. **Nucleus Animalium**, v. 9, n. 1, p. 129–141, 2017.

ZOU, M.; KEELARA, S.; THAKUR, S. Molecular Characterization of *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis Isolates from Humans by Antimicrobial Resistance, Virulence Genes, and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 3, p. 232–238, mar. 2012. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2011.1012>>.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Investigar os componentes genéticos relacionados aos fatores de virulência e genes ortólogos e compara-los entre os diversos sorovares de *Salmonella* spp. *in silico*.

4.2. Objetivos específicos

1. Comparar o genoma por meio dos grupos e genes ortólogos;
2. Pesquisar as ilhas de patogenicidade de cada isolado de *Salmonella*;
3. Pesquisar os fatores de virulência dos isolados de *Salmonella*;
4. Relacionar e comparar a patogenicidade dos isolados;

**CAPITULO 2: FATORES DE VIRULÊNCIA DE *SALMONELLA* SPP.
ISOLADAS DE LINFONODOS MESENTÉRICO SUINOS: UMA
ABORDAGEM UTILIZANDO O SEQUENCIAMENTO DE GENOMA
COMPLETO**

WEYBER FERREIRA DE SOUZA

Estudo de virulência de *Salmonella* spp. isolados de linfonodos mesentéricos suínos: Uma abordagem utilizando o sequenciamento de genoma completo.

Weyber Ferreira de Souza¹, Fabio Sossai Possebon², Cibeli Viana¹, Luis Augusto Nero¹, Ricardo Seiti Yamatogi¹

¹Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Centro de Ciências Biológica e da Saúde, Departamento de Veterinária, Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Viçosa, Minas Gerais, BraSil

²Universidade Estadual Julio de Mequita Filho (UNESP), Instituto de Biotecnologia de Botucatu – IBTEC, Botucatu, São Paul, Brasil

*Correspondence author: Ricardo Seiti Yamatogi, Universidade Federal de Viçosa, Department of Veterinary Medicine, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. Cep: 36.570-900; Tel: +55 31 38991472. Email: ryamatogi@ufv.br

ABSTRACT

Salmonella spp. é um importante patógeno causador de doenças de origem alimentar, gerando impactos na economia e saúde pública. A distribuição deste patógeno envolve diversos alimentos, em destaque a carne suína e seus derivados. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os componentes genéticos relacionados aos fatores de virulência e genes ortólogos de 10 sorovares. Foram avaliados 27 isolados de *Salmonella* spp. (*S. Derby*, *S. Give*, *S. Cerro*, *S. Typhimurium*, *S. I.4[5],12:i:-*, *S. Panama*, *S. Infantis*, *S. Bredeney*, *S. London* e *S. Bovimorbificans*) coletados em linfonodos mesentéricos de suínos nos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais. A partir do sequenciamento do genoma completo realizado em todos os isolados, os dados brutos foram tratados e realizada análise de genes ortólogos assim como, a presença de 142 fatores de virulência distribuídos em 20 estruturas que compreendem as ilhas de patogenicidade, ilhotas, genes de regulação, adesão, fimbrias, flagelos, entre outros. O resultado da comparação genômica agrupou os isolados em 3 grupos principais, com destaque de um grupo formado somente por *Salmonella* do Estado de Minas Gerais. Além disso, foram preditos um total de 125 genes de virulência, destacando os sorovares *S. Typhimurium* e *S. I.4[5],12:i:-* que apresentaram os maiores quantitativos de fatores de virulência, diferentemente dos sorovares *S. Derby* e *S. Cerro*. Trinta e oito genes (*invA*, *hilA*, *orgA*, *prgK*, *sipA*, *sipB*, *sipC*, *sipD*, *slrP*, *sopA*, *sopD*, *sopE2*, *spaO*, *sptP*, *sifA*, *sseB*, *sseC*, *sseL*, *ssrA*, *ttrC*, *spiC*, *mgtC*, *sopB*, *pagN*, *sodC1*, *phoP*, *phoQ*, *tolC*, *sdiA*, *entF*, *fhuA*, *leuO*, *oxyR*, *slyA*, *fimA*, *flgL*, *flgK*, *fliC*) apresentaram 100% de frequência e 14 genes não foram identificados em nenhum isolado. Os genes relacionados as ilhas de patogenicidade, regulação, fimbrias e flagelos se mostraram bem conservados em todos os genomas estudados. Assim, a constante investigação de *Salmonella* em suínos fornece dados para subsidiar respostas ligados ao aspecto epidemiológico do agente. Além disso, estudo genéticos como, por exemplo, a pesquisa de genes de virulência auxilia em um melhor entendimento da patogenicidade e subsidiam informações para o controle e desenvolvimento de programas relacionados e este agente.

1. Introdução

Salmonella pertence à família *Enterobacteriaceae*, e possuem mais de 2600 sorovares descritos. Trata-se de um problema de saúde pública, devido a sua ampla distribuição na natureza e seu caráter zoonótico, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (FORSYTHE, 2013). *Salmonella* entérica é uma das principais causas de doenças de origem alimentar, responsável por 24,4% dos surtos alimentares. Segundo os dados de Tack et al., (2020), nos anos de 2016 a 2019 foram computados um total de 8.556 infecções, 2.430 hospitalizações e 46 óbitos, colocando este patógeno como o segundo mais importante nos Estados Unidos. Entre as diversas fontes de transmissão, estima-se que 10-20% de todos os casos de salmonelose humana estão associados a carne suína (COTA et al., 2019). Na Europa, por exemplo, 4,5% de todos os surtos de origem alimentar causados por *Salmonella* spp. foram relacionados a produtos suínos (EFSA, 2018).

A patogenicidade entre os sorotipos de *Salmonella* são determinados pela função e número de fatores de virulência dos microrganismos e da susceptibilidade do hospedeiro. Os genes de virulência auxiliam nos processos de invasão, adesão, colonização e replicação dentro das células hospedeiras. Estes são codificados por genes presentes em uma ampla gama de elementos genéticos, incluindo o cromossomo bacteriano, plasmídeos, prófagos e Ilhas de Patogenicidade (SPIs) (MCGHIE et al., 2009).

A pesquisa de genes de virulência e a avaliação da proximidade gênica entre sorovares tem permitido a caracterização e um maior entendimento sobre cepas de *Salmonella* circulantes na cadeia produtiva de suínos e, assim, podendo contribuir com medidas de controle durante o processo produtivo com o objetivo de garantir a segurança dos alimentos disponíveis ao consumidor (PROROGA et al., 2019).

A evolução das ferramentas moleculares propiciou análises mais completas e o estudo do sequenciamento de genoma completo (WGS), tornaram-se pontos fundamentais para o estudo das comunidades microbianas e investigação das características individuais de cada microrganismo patogênico. Assim exposto, esse estudo tem como objetivo avaliar o perfil genético e os fatores de virulência de *Salmonella* spp. provenientes dos estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná por meio do sequenciamento genômico.

2. Materiais e Métodos

2.1 Origem das cepas

O estudo utilizou um total de 27 isolados de *Salmonella* provenientes da coleção do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – InsPOA localizado no Departamento de Veterinária - DVT da Universidade Federal de Viçosa – UFV e do Instituto de Biotecnologia de Botucatu – IBTEC localizados nas UNESP campus Botucatu. Todos os isolados foram obtidos de linfonodos mesentéricos suínos e foram previamente caracterizados quanto ao sorovar e origem de criação e abate (tabela suplementar 1) conforme descrito em De Azevedo et al. (2021), Possebon et al. (2020) e Viana et al (2020).

2.2 Sequenciamento genômico

Cada isolado foi ressuscitado em caldo de infusão de cérebro coração e plaqueados em ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) afim de verificar a pureza dos isolados. Após a verificação, o DNA bacteriano foi purificado utilizando-se o kit de extração Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) de acordo com recomendações do fabricante. O conteúdo genético foi enviado a empresas terceirizadas para a realização do sequenciamento do genoma completo.

O sequenciamento foi realizado em diversas etapas. A primeira delas foi a mensuração da quantidade do DNA utilizando o equipamento e kit Qubit dsDNA BR assay kit (Invitrogen, Carlsbad, California, USA). Após esta etapa, cada amostra obteve a inserção dos adaptadores (index) e o posteriormente o preparo da biblioteca utilizando o kit SureSelectQXT library preparation kit (Agilent 20 Technologies, Santa Clara, CA, USA) seguindo as recomendações do fabricante. Previamente ao sequenciamento, as amostras foram quantitativamente normalizadas a 2 nM e as bibliotecas de cada amostra agrupadas, diluídas e desnaturadas seguindo o protocolo da empresa relacionado a plataforma NextSeq platform (Illumina, San Diego, CA, 3 USA). Utilizou-se o kit 500-cycle V2 reagent kit, com a corrida para sequenciamento em *paired-end*.

2.3 Análises de bioinformática

Os dados brutos (*Reads*) obtidos foram trabalhados na Universidade Federal de Viçosa – UFV, Departamento de Veterinária, especificamente no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – INSPOA. Inicialmente, os dados brutos foram avaliados pelo software *FastQC* (ANDREWS, 2017), afim de verificar a qualidade das *reads* agrupando por

tamanho e classificando conforme seu índice *Phred*. A quantidade de GC foi investigado para averiguar contaminação por outras espécies bacterianas. Posteriormente, os dados brutos foram trimados utilizando o software *Trimmomatics* (BOLGER; LOHSE; USADEL, 2014) com um ponto de corte 25 (índice *Phred* 25).

A etapa de montagem e obtenção dos *contigs/scaffolds* seguiu o método *De novo* e por meio dos softwares *Spades*, *Mira*, *A5* e *Unicycler*. A melhor montagem foi escolhida para a anotação (BESEMER, 2001; CHEVREUX et al., 2004; MCARTHUR et al., 2013; NURK et al., 2013; OVERBEEK et al., 2014; FOUNOU; FOUNOU; ESSACK, 2016; CONSORTIUM, 2019) e sequências menores que 500 pares de bases foram eliminadas. A anotação do genoma foi realizada por meio do software PROKKA 1.14.5 (SEEMANN, 2014) e posteriormente, os genomas foram comparados pela avaliação dos genes ortólogos utilizando software OrthoFinder (EMMS; KELLY, 2019)

A segunda etapa do trabalho foi realizar uma análise comparativa dos fatores de virulência entre os isolados de *Salmonella*. Os isolados foram testados a presença de diversos genes de virulência divididos em vários grupos conforme sua função e região (FIGUEIREDO et al., 2015), perfazendo um total de 142 genes avaliados. Os genes foram escolhidos considerando a literatura científica (Tabela suplementar 2). Os genes completos foram procurados no National Center for Biotechnology Information (NCBI) e utilizados como banco de dados para as buscas nos genomas em estudo.

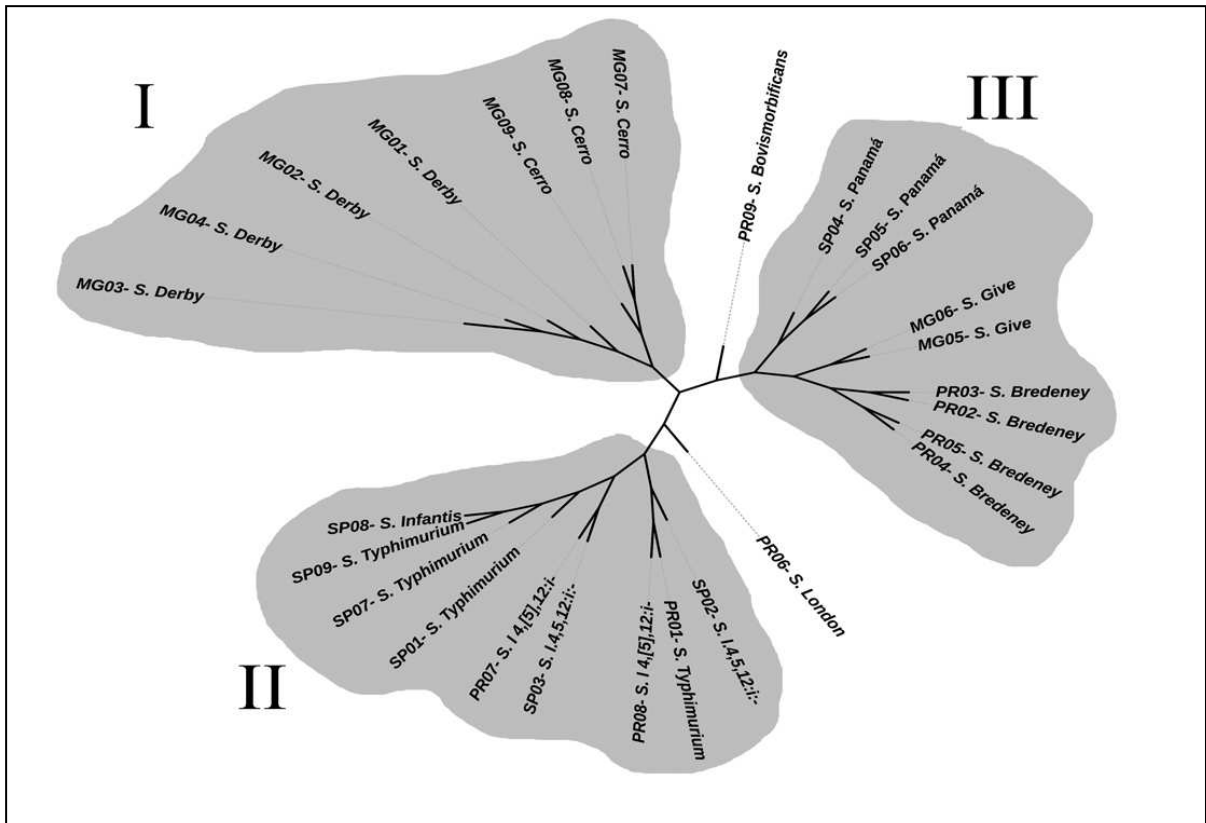
A busca foi realizada utilizando a ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) contida no software Geneious Prime, utilizando uma identidade acima de 80% e por meio dos arquivos de anotação fornecidos pelos resultados do PROKKA. A verificação foi realizada pelo sistema do UniProt (BATEMAN et al., 2021). Os resultados foram mapeados em uma tabela binária e analisados utilizando o software Bionumerics 6.6, coeficiente de Dice 50% (Binary analysis) e gerado um dendrograma Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA).

3. Resultados

A comparação dos 27 genomas de *Salmonella* está apresentado na Figura 1. Os dados resultaram em uma análise por identidade de genes e está dividida em 3 grupos: I – Isolados de Minas Gerais, compreendendo os sorovares *S. Cerro* e *S. Derby*, II – isolados de São Paulo e Paraná, com os sorovares *S. Typhimurium*, *S. I 4,[5],12:i:-* e *S. Infantis* e III – isolados dos

três estados e sorovares *S. Panamá*, *S. Give* e *S. Bredeney*. Os sorovares *S. London* (PR06) e *S. Bovimorbificans* (PR09) não foram agrupados em nenhum grupo.

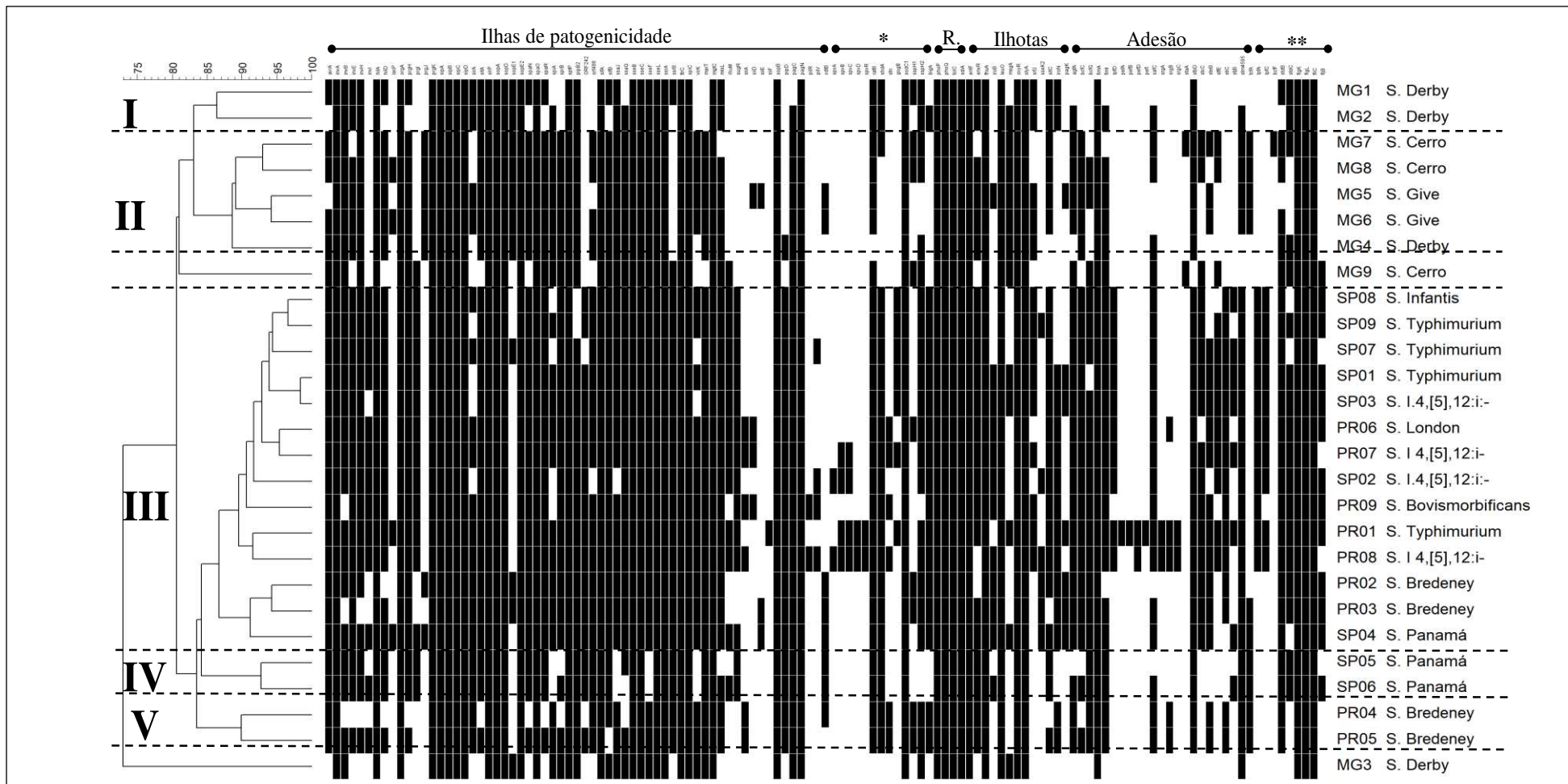
Figura. 1 – Comparação dos genomas de *Salmonella* e os 10 sorovares identificados (*S. Derby*, *S. Bredeney*, *S. Typhimurium*, *S. I.4,5,12:i:-*, *S. Panama*, *S. Cerro*, *S. Give*, *S. Bovismorbificans*, *S. London*, *S. Infantis*) por meio dos ortogrupos e os genes ortólogos identificados no software Orthfinder (Emms, D.M. and Kelly, S. 2015) e árvore configurada utilizando o software Interactive Tree Of Life - ITOL (LETUNIC; BORK, 2021)



A investigação dos fatores de virulência e a comparação dos 27 isolados está apresentando Figura 2. A partir desta comparação, os isolados foram divididos em 5 cluster considerando uma similaridade de 85%. O cluster III agregou o maior número de isolados sendo estes originários principalmente do estado do Paraná e São Paulo, sorovares (*S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. I 4,[5],12:i:-*, *S. London* *S. Bovimorbificans*, *S. Bredeney* e *S. Panamá*) e o maior contingente gênico.

Os isolados de Minas Gerais permaneceram nos clusters I/II e apresentaram o menor número de genes quando comparado aos outros clusters. Além disso, MG03 e MG09 não foram agrupados..

Figura 2 – Comparação dos fatores de virulência (Presença/Ausência) em relação os 27 isolados investigados (*S. Derby*, *S. Bredeney*, *S. Typhimurium*, *S. I.4,5,12:i:-*, *S. Panama*, *S. Cerro*, *S. Give*, *S. Bovismorbificans*, *S. London*, *S. Infantis*) utilizando o software Bionumerics 6.6, Dice 50%, UPGMA.



Ilhas de patogenicidade: SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4, SPI-5, SPI-6, SPI-8, SPI-11; * - compreende os grupos: Plasmídeos de virulência, CS54 Island, Enterotoxina, Gifsy 1, Gifsy 2, Gifsy 3 e Putative Virulence; R: Genes de regulação, ** - compreende os grupos: Genes de Fimbrias e Flagelos.

Em relação aos genes e suas estruturas, os genes da SPI-1 (*invA*, *hilA*, *orgA*, *prgK*, *sipA*, *sipB*, *sipC*, *sipD*, *slrP*, *sopA*, *sopD*, *sopE2*, *spaO*, *sptP*), SPI-2 (*sifA*, *sseB*, *sseC*, *sseL*, *ssrA*, *ttrC*, *spiC*), SPI-3 (*mgtC*), SPI-5 (*sopB*), SPI-6 (*pagN*), Gifsy-2 (*sodC1*), Regulação (*phoP*, *phoQ*, *tolC*, *sdiA*), Ilhota (*entF*, *fhuA*, *leuO*, *oxyR*, *slyA*), Adesão (*fimA*) e Flagelos (*flgL*, *flgK*, *fliC*) apresentaram 100% de frequência.

Em contrapartida, os genes relacionados a SPI-4 (*siiF*), adesão (*pefA*, *pefB*, *pefI*) e fimbrias (*bcfF*) apresentaram as menores frequências, em torno de 3,7%. Quatorze genes (*eacI*, *gene8*, *grvA*, *hldD_DT104*, *STMMW_3478*, *SU5_0826*, *sefA*, *sefC*, *ST313_td*, *vexA*, *vexE*, *sefR*, *stgA* e *sieB*) não foram localizados em nenhum dos isolados.

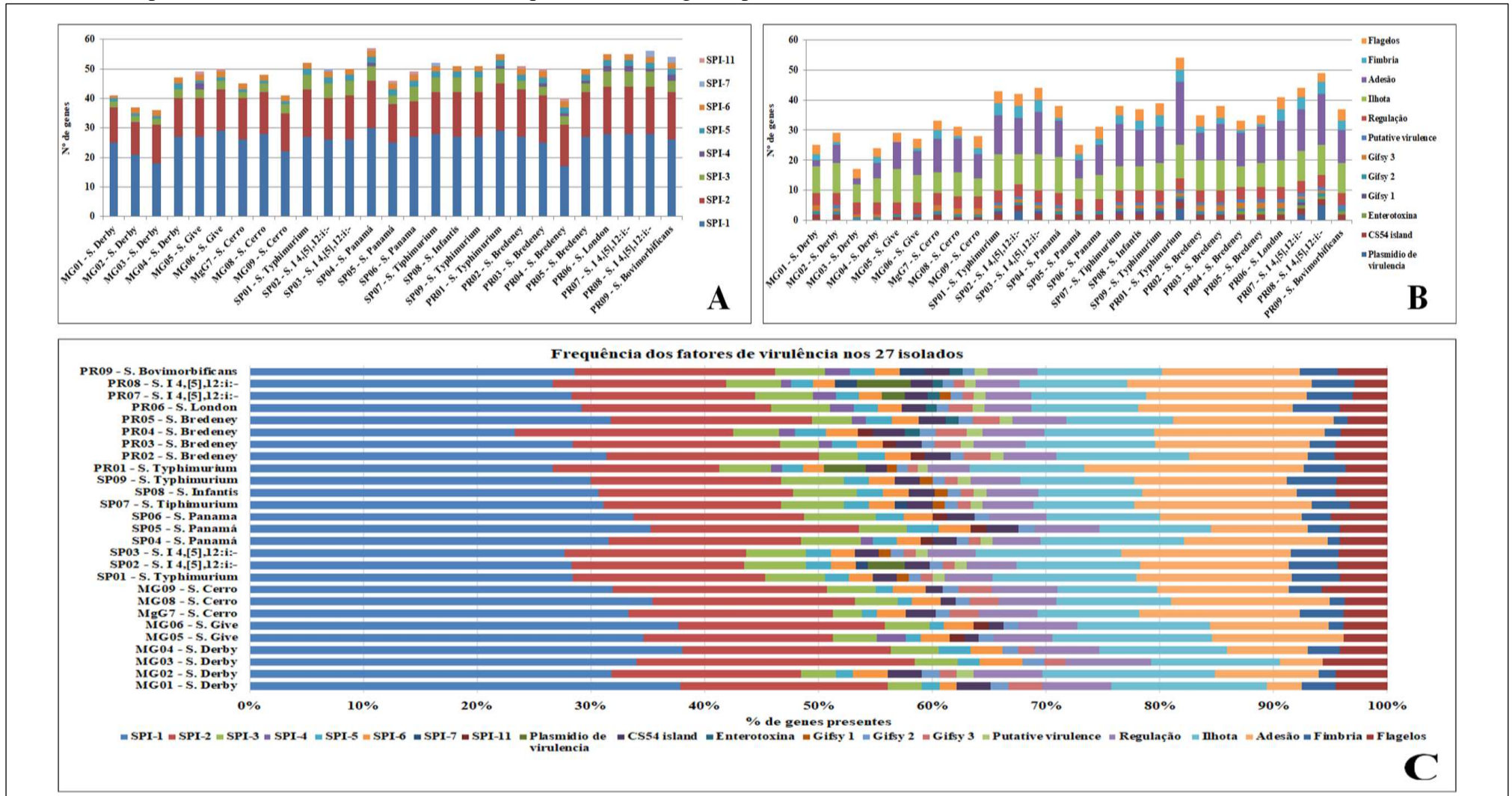
A figura 3 apresenta um panorama da quantidade de genes por isolados e por estrutura. Especificamente sobre os 63 genes das 8 ilhas de patogenicidade (SPI 1 a SPI 11), o cluster III apresentou os isolados com o conteúdo gênico mais conservado, destacando SP04 (*S. Panama*), PR08 (*S. I.4,5,12:i:-*) e PR01 (*S. Typhimurium*), PR07 (*S. I.4,5,12:i:-*), PR09 (*S. Bovimorbificans*), PR10. Já os patógenos MG02 e MG03 (*S. Derby*), apresentaram o menor quantitativo de genes. As ilhas SPI-4, SPI-7 e SPI-11 foram as estruturas menos presentes.

O gene *cdtB* codificado na SPI-11, foi identificado apenas nos sorovares *S. Give*, *S. Panamá* e três isolados de *S. Bredeney*. Estruturas relacionadas com a adesão, fimbrias e flagelos estavam em sua maioria presentes nos isolados investigados. Especificamente os genes *stm4595*, *stdB*, *stbD* e *fimA* e todos os flagelares estavam conservados. Somente o gene *bcfF*, um gene relacionado a estrutura fimbria, foi identificado apenas no isolado MG07 – *S. Cerro*.

Cabe ressaltar que os isolados PR01 e PR08 foram os que apresentaram o maior número de genes de virulência, totalizando 76,76% e 73,94% respectivamente, apresentando as principais estruturas como ilhas de patogenicidade, fimbrias, adesão e flagelos conservados. Em contrapartida, o isolado MG03 apresentou o menor número de genes.

Em relação à localidade, os isolados de Minas Gerais permaneceram em grupos ortólogos e cluster bem definidos. Diferentemente *Salmonella* do estado do Paraná e São Paulo se misturaram. Quanto aos sorovares fica evidente uma maior similaridade do

Figura 3 – Frequência dos fatores de virulência em relação os 27 isolados investigados (*S. Derby*, *S. Bredeney*, *S. Typhimurium*, *S. I.4,5,12:i:-*, *S. Panamá*, *S. Cerro*, *S. Give*, *S. Bovismorbificans*, *S. London*, *S. Infantis*). A – Genes presentes nas ilhas de patogenicidade (SPIs); B – Genes presentes nas outras estruturas; C – Frequência total de genes por isolado.



S. Typhimurium e *S. I.4,[5],12:i:-* dos demais sorovares, tanto em relação aos grupos ortólogos assim como os principais fatores de virulência investigado.

4. Discussão

A comparação dos genes ortólogos neste estudo dividiram os isolados de *Salmonella* em 3 grupos, apresentando uma divisão dos isolados do Estado de Minas Gerais quando comparados aos isolados do Paraná e São Paulo. Além disso, os dados de virulência foram em sua maioria presente, principalmente os genes relacionados as ilhas de patogenicidade. No total, 25% dos genes investigados estavam presentes em todos isolados, sendo eles relacionados as ilhas de patogenicidade (SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-5, SPI-6), ilhotas, genes regulatórios, genes de adesão e flagelares.

A presença desses genes que compõem tais estruturas reforça a necessidade desse mecanismo para o patogenicidade e infecção da bactéria. A presença da SPI-1, por exemplo, possui o sistema de secreção tipo-3, maquinário este que controla a regulação de diversos genes relacionados à virulência e consequentemente regula as ações relacionados a invasão, colonização e supressão do sistema imunológico (LOU et al., 2019). Outra estrutura bem conservada foi a presença da SPI-2, responsável pela presença no interior dos macrófagos e regulada pelo T3SS (ILYAS; TSAI; COOMBES, 2017). A presença desse conjunto é tão importante que segundo Grant et al., (2012), a ausência da SPI-2 torna a bactéria menos virulentas, impossibilitando a replicação em células infectadas e como consequência impedindo a propagação do organismo.

No geral, estruturas como ilhas de patogenicidade estão presentes na maioria das *Salmonella*, porém a quantidade de genes presente e o modo como são expressos é o que define os hospedeiros alvos e o fenótipo da doença (ILYAS; TSAI; COOMBES, 2017). Um ponto a ser destacado são os genes como, por exemplo, *invA*, *sipA*, *sipB* - relacionados com o processo de invasão e modificação da membrana, *sseB*, *sseC*, *sseL* - relacionados com a sobrevivência do patógeno intracelular ou em vacúolos, *mgtC* - gene regulador da SPI, *sopB* - relacionado a múltiplas ações como invasão e a ativação pró - inflamatória, *pagN* - codificador de proteína, *sodC1* - resistência ao estresse oxidativo, *tolC* - regulação e *fimA* - gene crítico para que ocorra a adesão na célula eucariótica e *fliC* - relacionado a movimentação (ZEINER; DWYER; CLEGG, 2012; BURNS et al., 2015; ILYAS; TSAI; COOMBES, 2017; DE MELO et al., 2021), todos eles são genes que foram presentes em

100% dos isolados e possuem papéis fundamentais para a sobrevivência do patógeno e são bem relatados na literatura.

A análise filogenética do genoma apresentou três agrupamentos. O agrupamento II foi formado predominantemente por *S. Typhimurium* e monofásica *S. I.4,[5],12:i:-* enquanto os outros grupos foram formados pela soma de diversos sorovares. O porquê dessa arquitetura está relacionado a alta similaridade do genoma desses sorovares quando comparado aos demais e tal situação foi perceptíveis com o estudo de Jacobsen et al., (2011), que após uma análise pan-genômica de diversos sorovares, *S. Typhimurium* e *S. I.4,[5],12:i:-* apresentaram um homologia próxima a 100%. Além disso, o sorovar monofásico *S. I.4,[5],12:i:-* está associado evolutivamente a *S. Typhimurium* (PROROGA et al., 2019).

Outro fator que reforça esta configuração está no trabalho de Pornsukarom et al., (2018) que comparou um total de 200 *Salmonella* de diferentes sorovares, e em sua análise filogenética ficou perceptível um distância genética entre o sorovar *S. Derby* quando comparado a *S. Typhimurium* e a variante monofásica. Tal situação foi visível na figura 1 desse estudo, corroborando os dados.

A investigação dos fatores de virulência mostrou-se bem definido, principalmente os isolados do Estado Minas Gerais (*S. Cerro*, *S. Derby* e *S. Give*). Em contrapartida, os demais sorovares se misturaram entre os outros clusters prevalecendo o cluster III com o maior número de isolados. Tal configuração dos isolados pode estar relacionada a duas situações, o sorovar e a distribuição regional.

Os 10 sorovares deste estudo já foram relatados como causadores surtos ao redor do mundo (SCHROEDER et al., 2016; TEJADA et al., 2016; GYMOESE et al., 2017; BRANDWAGT et al., 2018; DONACHIE et al., 2018; SIMON et al., 2018; NAGOETTE et al., 2019; DE MELO et al., 2021) e especificamente *S. Typhimurium* e *S. Derby* são bem relatados na cadeia suína, no Brasil (LIMA et al., 2016).

A diferença entre esses dois sorovares está no potencial de infecção e permanecer dentro do hospedeiro como, no caso sorovar *S. Derby*, a capacidade de contaminação de lotes animais é inferior quando comparada com *S. Typhimurium*. Além disso, a virulência das cepas *S. Cerro* e *S. Derby* são menores e pouco associado a infecções humanas quando comparadas a *S. Typhimurium* (COHN et al., 2021; ÖSTERBERG et al., 2010) e esclarece a formação de um grupo somente com os sorovares *S. Cerro*, *S. Derby*.

Outros fatores são as características individuais dos sorovares *S. Typhimurium* e monofásica *S. I.4,5,12:i:-*. Os dados desse trabalho apresentam esses dois sorovares como os maiores albergadores de genes de virulência, possibilitando uma maior quantidade de infecção e surtos. Tal situação poder ser confirmado por fatos históricos sobre os dados epidemiológicos dessas bactérias. Segundo dados do CDC (2013), *S. Typhimurium* apresentou de 1968 a 2011, em torno de 366 mil casos relatados deste sorovar nos Estados Unidos, enquanto *S. Derby* se aproximou de 12 mil casos. A variante monofásica *S. I.4,5,12:i:-* apresentou aproximadamente 10 mil casos em um período de 17 anos (1994-2011) sendo similar aos 43 anos relacionados aos casos de *S. Derby*.

O segundo ponto é as características do patógeno. Segundo Ilyas et al., (2017), esses sorovares são bactérias geneticamente bem estudadas, eficientes quanto a infecção de múltiplos hospedeiros e capazes de gerar gastroenterite em diversos modelos animais, caracterizando seu potencial virulento. Essas informações corroboram o fato desses sorovares serem o grupo com a maior presença de genes de virulência como os isolados PR01 e PR08.

A origem desses isolados talvez tenha relação com a variabilidade do sorovar e conseqüentemente ao seu potencial de virulência. Neste estudo, os isolados de MG apresentaram os menores números de genes de virulência, mesmo em sorovares diferentes, quando comparados aos isolados de SP e PR. Uma das explicações para os isolados de SP e PR serem similares é o abate de animais em São Paulo originários de granjas da região sul do país (tabela suplementar 1).

Outro ponto a ser detalhado está relacionado a cadeia produtiva. O suíno é um reservatório de *Salmonella* bem relatado na literatura (ADDIS; SISAY, 2015) e envolvido na contaminação de alimentos (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020). ADDIS E SISAY, (2015) relatam a presença de *Salmonella* em diversos animais silvestres, roedores e inseto que podem ter contato direto ou indireto com os suínos.

Além disso, o fornecimento de uma ração contaminada pode ser uma hipótese. A ração possui uma grande importância na veiculação de *Salmonella* spp. e embora os índices pareçam baixos, em torno de 2,5% de prevalência, esse produto é geralmente distribuído a diversas granjas, ampliando os fatores de risco, contaminando as instalações e dificultando o manejo sanitário entre lotes (PELLEGRINI et al., 2015). Estudos como Rönnqvist et al., (2018) relatam a importância do fornecedor como fonte de uma cepa circulante em uma mesma região.

Por último, o manejo da granja é multifatorial, sendo a etapa de terminação a que propicia a maior possibilidade de contaminação cruzada (MAPA, 2004; MACHADO et al., 2016). O comportamento do próprio animal amplifica a contaminação cruzada, gerando animais reservatórios que podem disseminar o agente a diversas outras fases da cadeia produtiva como, por exemplo, o transporte, abatedouros e produto final (NEITZKE; ROZA; WEBER, 2017). Nesse contexto, este patógeno é caracterizado em toda cadeia de produção, tornando um importante problema de Saúde Pública.

5. Conclusão

Todos os 10 sorovares desse estudo apresentaram os genes básicos para uma possível infecção e alguns sorovares como *S. Typhimurium* e a variante monofásica *S. I.4,[5],12:i:-* apresentaram uma maior quantidade de fatores de virulência em seu genoma. Fatores extrínsecos como a região, manejo local e fornecimento da alimentação destinada aos animais são pontos que podem determinar o sorovar circulante e por isso devem ser melhor estudados.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES (Financial Code 001), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG e CNPq.

REFERENCIAS

ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. **Journal of tropical medicine**, v. 2020, p. 4674235, 2020. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32684938>>.

ADDIS, M.; SISAY, D. A Review on Major Food Borne Bacterial Illnesses. **Journal of Tropical Diseases & Public Health**, v. 3, n. 4, p. 1–7, 2015.

ADLEY, C. C.; RYAN, M. P. The Nature and Extent of Foodborne Disease. In: **Antimicrobial Food Packaging**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 1–10.

AKIBA, M.; KUSUMOTO, M.; IWATA, T. Rapid identification of *Salmonella enterica* serovars, Typhimurium, Choleraesuis, Infantis, Hadar, Enteritidis, Dublin and Gallinarum, by multiplex PCR. **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, n. 1, p. 9–15, abr. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701211000534>>.

ANDREWS, S. **FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data**. 2010, 2017. .

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, A. Relatório Anual. **Associação Brasileira de Proteína Animal**, p. 160, 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>.

- BANDEIRA, R.; PELLEGRINI, D. da C. P.; CARDOSO, M. Ocorrência de Salmonella sp. em cortes de pernil provenientes de lotes suínos; portadores ao abate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 2, p. 203, 30 mar. 2018. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/15972>>.
- BATEMAN, A. et al. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D480–D489, 8 jan. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article/49/D1/D480/6006196>>.
- BERTELLONI, F. et al. Some pathogenic characters of paratyphoid Salmonella enterica strains isolated from poultry. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 12, p. 1161–1166, dez. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1995764517313585>>.
- BESEMER, J. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 12, p. 2607–2618, 15 jun. 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/29.12.2607>>.
- BESSA, M. C.; COSTA, M. da; CARDOSO, M. Prevalência de Salmonella sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 80–84, jun. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2004000200006&lng=pt&tlng=pt>.
- BLANC-POTARD, A.-B. et al. The SPI-3 Pathogenicity Island of Salmonella enterica. **Journal of Bacteriology**, v. 181, n. 3, p. 998–1004, fev. 1999. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JB.181.3.998-1004.1999>>.
- BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, ago. 2014.
- BRANDWAGT, D. et al. Outbreak of Salmonella Bovismorbificans associated with the consumption of uncooked ham products, the Netherlands, 2016 to 2017. **Eurosurveillance**, v. 23, n. 1, 4 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.1.17-00335>>.
- BRASIL. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da Salmonella spp.** [s.l: s.n.]
- BRASIL. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, p. 16, 2018a.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 60, de 20 de dezembro de 2018. **Diário Oficial da União**, v. I, p. 4–6, 2018b.
- BURNS, A. M. et al. Salmonella occurrence and Enterobacteriaceae counts in pig feed ingredients and compound feed from feed mills in Ireland. **Preventive veterinary medicine**, v. 121, n. 3–4, p. 231–9, 1 out. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26211839>>.
- CAPALONGA, R. et al. Salmonella serotypes, resistance patterns, and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 07, p. 811–817, 14 jul. 2014. Disponível em: <<https://jidc.org/index.php/journal/article/view/25022289>>.
- CDC. An atlas of Salmonella in the United States , 1968-2011. **National Center for**

Emerging Zoonotic Infectious Diseases. Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases, v. 1, n. 1, p. 1–248, 2013. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/>>.

CHAUDHARY, J. H. et al. Virulence genes detection of Salmonella serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. **Veterinary World**, v. 8, n. 1, p. 121–124, jan. 2015. Disponível em: <<http://www.veterinaryworld.org/Vol.8/January-2015/23.html>>.

CHEN, S. et al. A DNA microarray for identification of virulence and antimicrobial resistance genes in Salmonella serovars and Escherichia coli. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, n. 3, p. 195–201, jun. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890850804001082>>.

CHEVREUX, B. et al. Using the miraEST assembler for reliable and automated mRNA transcript assembly and SNP detection in sequenced ESTs. **Genome Research**, v. 14, n. 6, p. 1147–1159, jun. 2004.

CHLEBICZ, A.; ŚLIŻEWSKA, K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 5, p. 863, 26 abr. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1660-4601/15/5/863>>.

CONSORTIUM, U. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. **Nucleic acids research**, v. 47, n. D1, p. D506–D515, 2019.

COTA, J. B. et al. Pheno and genotyping of Salmonella from slaughtered pigs in a Portuguese abattoir reveal differential persistence ability. **Veterinary Microbiology**, v. 239, n. October, p. 108457, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108457>>.

CRAWFORD, R. W. et al. Gallstones play a significant role in Salmonella spp. gallbladder colonization and carriage. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 9, p. 4353–4358, 2 mar. 2010. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1000862107>>.

DE CESARE, A. Salmonella in Foods: A Reemerging Problem. **Advances in food and nutrition research**, v. 86, p. 137–179, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30077221>>.

DE MELO, A. N. F. et al. Genomic investigation of antimicrobial resistance determinants and virulence factors in Salmonella enterica serovars isolated from contaminated food and human stool samples in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 343, p. 109091, abr. 2021.

DESTA SISAY, M. A. A Review on Major Food Borne Bacterial Illnesses. **Journal of Tropical Diseases**, v. 03, n. 04, 2015. Disponível em: <<http://www.esciencecentral.org/journals/a-review-on-major-food-borne-bacterial-illnesses-2329-891X-1000176.php?aid=59714>>.

DONACHIE, A. et al. National outbreak of Salmonella Give linked to a local food manufacturer in Malta, October 2016. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 11, p. 1425–1432, 26 ago. 2018. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268818001656/type/journal_article>.

- EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 12, dez. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2018.5500>>.
- EFSA AND ECDC. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 19, n. 2, p. 286, fev. 2021. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2021.6406>>.
- ELDER, J. R. et al. Genomic organization and role of SPI-13 in nutritional fitness of Salmonella. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, n. 8, p. 1043–1052, dez. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422118303400>>.
- EMMS, D. M.; KELLY, S. OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics. **Genome Biology**, v. 20, n. 1, p. 238, 14 dez. 2019. Disponível em: <<https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-019-1832-y>>.
- ENG, S.-K. et al. Salmonella : A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284–293, 3 jul. 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21553769.2015.1051243>>.
- FARDSANEI, F. et al. Antimicrobial resistance, virulence genes and genetic relatedness of Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates recovered from human gastroenteritis in Tehran, Iran. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 12, p. 220–226, mar. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213716517301923>>.
- FIERER, J.; GUINEY, D. G. Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of Salmonella infection. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 7, p. 775–780, 1 abr. 2001. Disponível em: <<http://www.jci.org/articles/view/12561>>.
- FIGUEIRA, R.; HOLDEN, D. W. Functions of the Salmonella pathogenicity island 2 (SPI-2) type III secretion system effectors. **Microbiology (Reading, England)**, v. 158, n. Pt 5, p. 1147–1161, maio 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22422755>>.
- FIGUEIREDO, R. et al. Virulence characterization of Salmonella enterica by a new microarray: Detection and evaluation of the cytolethal distending toxin gene activity in the unusual host S. Typhimurium. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–14, 5 ago. 2015. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0135010>>.
- FIGUEROA OCHOA, I. M.; VERDUGO RODRÍGUEZ, A. Mecanismos moleculares de patogenicidad de Salmonella sp. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 47, n. 1–2, p. 25–42, 2005.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. [s.l: s.n.]
- FOUNOU, L. L.; FOUNOU, R. C.; ESSACK, S. Y. Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country-Perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 23 nov. 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01881/full>>.
- FRAGA, N. C.; CAVATORTA, M. G.; GONÇALVES, C. TROPEIROS DE PORCOS: A IMPORTÂNCIA DOS PORCADEIROS E DA SUINOCULTURA NA FORMAÇÃO SOCIOESPACIAL DE PITANGA (PR). **Revista Tamoios**, v. 13, n. 1, 4 jul. 2017. Disponível em: <<http://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/tamoios/article/view/25257>>.
- GONZALEZ-ESCOBEDO, G.; MARSHALL, J. M.; GUNN, J. S. Chronic and acute infection of the gall bladder by Salmonella Typhi: understanding the carrier state. **Nature**

Reviews Microbiology, v. 9, n. 1, p. 9–14, 29 jan. 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrmicro2490>>.

GRANT, A. J. et al. Attenuated Salmonella Typhimurium Lacking the Pathogenicity Island-2 Type 3 Secretion System Grow to High Bacterial Numbers inside Phagocytes in Mice. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 12, p. e1003070, 6 dez. 2012. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1003070>>.

GYMOESE, P. et al. Investigation of Outbreaks of Salmonella enterica Serovar Typhimurium and Its Monophasic Variants Using Whole-Genome Sequencing, Denmark. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 10, p. 1631–1639, out. 2017. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/10/16-1248_article.htm>.

HENSEL, M. Evolution of pathogenicity islands of Salmonella enterica. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 294, n. 2–3, p. 95–102, set. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422104000566>>.

HOFFMANN, M. et al. Comparative Genomic Analysis and Virulence Differences in Closely Related Salmonella enterica Serotype Heidelberg Isolates from Humans, Retail Meats, and Animals. **Genome Biology and Evolution**, v. 6, n. 5, p. 1046–1068, maio 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/gbe/article-lookup/doi/10.1093/gbe/evu079>>.

HOOTON, S. P. T. et al. The complete plasmid sequences of Salmonella enterica serovar Typhimurium U288. **Plasmid**, v. 76, p. 32–39, nov. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147619X14000614>>.

HSU, Y.-M. et al. Comparative study of class 1 integron, ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole, tetracycline (ACSSuT) and fluoroquinolone resistance in various Salmonella serovars from humans and animals. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 1, p. 9–16, jan. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147957112001002>>.

IBRAHIM, G. M.; MORIN, P. M. Salmonella Serotyping Using Whole Genome Sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 13 dez. 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02993/full>>.

ILYAS, B.; TSAI, C. N.; COOMBES, B. K. Evolution of Salmonella-Host Cell Interactions through a Dynamic Bacterial Genome. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 0, n. SEP, p. 428, set. 2017.

INNS, T. et al. Prospective use of whole genome sequencing (WGS) detected a multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 2, p. 289–298, 26 jan. 2017. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268816001941/type/journal_article>.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S. et al. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in microbiology**, v. 165, n. 7, p. 526–30, set. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25049166>>.

JACOBSEN, A. et al. The Salmonella enterica Pan-genome. **Microbial Ecology** 2011 62:3, v. 62, n. 3, p. 487–504, jun. 2011.

JAJERE, S. M. A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug

resistance. **Veterinary World**, v. 12, n. 4, p. 504–521, 6 abr. 2019. Disponível em: <<http://www.veterinaryworld.org/Vol.12/April-2019/5.html>>.

KIM, S. et al. Genomic Approaches for Understanding the Characteristics of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhimurium ST1120, Isolated from Swine Feces in Korea. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 11, p. 1983–1993, 28 nov. 2017. Disponível em: <<http://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1708.08027>>.

LAN, T. T. Q. et al. Distribution of Virulence Genes among *Salmonella* Serotypes Isolated from Pigs in Southern Vietnam. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 9, p. 1459–1466, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/81/9/1459/175057/Distribution-of-Virulence-Genes-among-Salmonella>>.

LEDERMANN D., W. Una historia del bacilo de Eberth desde Junker hasta Germanier. **Revista chilena de infectología**, v. 20, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182003020200020&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

LEE, J.-W.; LEE, E.-J. Regulation and function of the *Salmonella* MgtC virulence protein. **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 10, p. 667–672, 1 out. 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12275-015-5283-1>>.

LETUNIC, I.; BORK, P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W293–W296, 2 jul. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article/49/W1/W293/6246398>>.

LIMA, A. L. et al. Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella* spp. isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 39–47, fev. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352016000100039&lng=pt&tlng=pt>.

LOU, L. et al. *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 31 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2019.00270/full>>.

MACHADO, G. B. et al. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572016000100402&lng=pt&tlng=pt>.

MAPA. Fontes importantes de contaminação por *Salmonella* em granjas terminadoras de Suínos. **Comunicado Técnico 389**, p. 5, 2004.

MASSARA BRASILEIRO, A. C. et al. National prevalence of *Salmonella* spp. In pork slaughterhouses under federal inspection in Brazil, 2014/2015. In: International Conference on the Epidemiology and Control of Biological, Chemical and Physical Hazards in Pigs and Pork, **Anais...** Iowa State University, Digital Press, 2017. Disponível em: <<https://lib.dr.iastate.edu/safepork/2017/allpapers/4/>>.

MCARTHUR, A. G. et al. The comprehensive antibiotic resistance database. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 57, n. 7, p. 3348–3357, 2013.

MCDERMOTT, P. F. et al. Whole-Genome Sequencing for Detecting Antimicrobial

Resistance in Nontyphoidal Salmonella. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 9, p. 5515–5520, set. 2016. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01030-16>>.

MCGHIE, E. J. et al. *Salmonella* takes control: effector-driven manipulation of the host. **Current Opinion in Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 117–124, fev. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136952740800180X>>.

MCKEAN, J. D. et al. The Prevalence of Food-borne Pathogenic Organisms in Swine and Pork : A Pilot Survey and Demonstration Project from Production Farm to Dressed Carcasses. **Iowa State University Animal Industry Report**, n. 2, p. 202–207, 2001.

MENDONÇA, E. P. et al. Characteristics of virulence, resistance and genetic diversity of strains of *Salmonella* Infantis isolated from broiler chicken in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 29–38, jan. 2020. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2020000100029&tlng=en>.

MOHAMED, T. et al. Molecular characterization of antibiotic resistant *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Kentucky isolated from pre- and post-chill whole broilers carcasses. **Food Microbiology**, v. 38, p. 6–15, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.08.002>>.

MOHAMMED, M. et al. The invasome of *Salmonella* Dublin as revealed by whole genome sequencing. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 544, 4 dez. 2017. Disponível em: <<http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-017-2628-x>>.

MONTE, D. F. et al. Genomic Features of High-Priority *Salmonella* enterica Serovars Circulating in the Food Production Chain, Brazil, 2000–2016. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 11058, 30 dez. 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-019-45838-0>>.

NAGOETTE, M. et al. Detection and Characterization of *Salmonella* spp. in Raw Commingled Bulk Tank Milk from Dairies in Pennsylvania. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 16, n. 6, p. 434–437, jun. 2019. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2018.2552>>.

NAKAO, J. H. et al. Unusually high illness severity and short incubation periods in two foodborne outbreaks of *Salmonella* Heidelberg infections with potential coincident *Staphylococcus aureus* intoxication. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 1, p. 19–27, 6 jan. 2018. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268817002655/type/journal_article>.

NEITZKE, D. C.; ROZA, C. R. da; WEBER, F. H. Segurança dos alimentos: contaminação por *Salmonella* sp. no abate de suínos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232017000100418&lng=pt&tlng=pt>.

NURK, S. et al. Assembling genomes and mini-metagenomes from highly chimeric reads. In: Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics), **Anais...Springer**, Berlin, Heidelberg, 2013.

OLIVEIRA, A. P.; SOLA, M. C.; FEI0STEL, J. C.; MOREIRA, N. M.; OLIVEIRA, J. J. *Salmonella* enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. **Enciclopedia Biosfera**, v.

9, n. 16, p. 1947–1972, 2013. Disponível em:

<<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3503>>.

OVERBEEK, R. et al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). **Nucleic acids research**, v. 42, n. D1, p. D206–D214, 2014.

PAIM, D. S. et al. Enumeration, antimicrobial resistance and typing of salmonella enterica: Profile of strains carried in the intestinal contents of pigs at slaughter in Southern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, p. 1–11, 2019.

PELLEGRINI, D. da C. P. et al. Distribution of Salmonella clonal groups in four Brazilian feed mills. **Food Control**, v. 47, p. 672–678, jan. 2015. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713514004629>>.

PORNSUKAROM, S.; VAN VLIET, A. H. M.; THAKUR, S. Whole genome sequencing analysis of multiple Salmonella serovars provides insights into phylogenetic relatedness, antimicrobial resistance, and virulence markers across humans, food animals and agriculture environmental sources. **BMC Genomics** 2018 **19:1**, v. 19, n. 1, p. 1–14, nov. 2018.

PROROGA, Y. T. R. et al. Characterization of Salmonella Typhimurium and its monophasic variant 1,4, [5],12:i:- isolated from different sources. **Folia Microbiologica**, v. 64, n. 6, p. 711–718, 2019.

RAU, R. B. et al. Emergence of mcr- 1 Producing Salmonella enterica serovar Typhimurium from Retail Meat: First Detection in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 1, p. 58–59, jan. 2018. Disponível em:

<<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2017.2346>>.

RISTORI, C. A. et al. Assessment of Consumer Exposure to Salmonella spp., Campylobacter spp., and Shiga Toxin–Producing Escherichia coli in Meat Products at Retail in the City of Sao Paulo, Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 8, p. 447–453, ago. 2017. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2016.2270>>.

RÖNNQVIST, M. et al. Salmonella risk to consumers via pork is related to the Salmonella prevalence in pig feed. **Food Microbiology**, v. 71, p. 93–97, 2018.

RYAN, M. P.; O'DWYER, J.; ADLEY, C. C. Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen Salmonella. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–6, 2017. Disponível em:

<<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/3782182/>>.

RYCHLIK, I. et al. Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of Salmonella enterica serovar Enteritidis for chickens. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 268, 2009. Disponível em: <<http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-9-268>>.

SANTOS, K. P. O. dos et al. Salmonella spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **Pubvet**, v. 14, n. 10, p. 1–9, out. 2020. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/artigo/7420/salmonella-spp-como-agente-causal-em-doencas-transmitidas-por-alimentos-e-sua-importancia-na-saude-publica-revisao>>.

SANTOS, R. L. et al. Pathogenesis of Salmonella-induced enteritis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 1, p. 03–12, jan. 2003. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-

879X2003000100002&lng=en&tlng=en>.

SCHMIDT, H.; HENSEL, M. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 1, p. 14–56, jan. 2004. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.17.1.14-56.2004>>.

SCHROEDER, S. et al. A prolonged outbreak of Salmonella Infantis associated with pork products in central Germany, April–October 2013. **Epidemiology and Infection**, v. 144, n. 7, p. 1429–1439, 23 maio 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268815002629/type/journal_article>.

SEEMANN, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 30, n. 14, p. 2068–9, 15 jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24642063>>.

SETH-SMITH, H. M. B. SPI-7: Salmonella's Vi-Encoding Pathogenicity Island. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 2, n. 04, 1 ago. 2008. Disponível em: <<http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/220>>.

SHAH, D. H. et al. Identification of Salmonella gallinarum virulence genes in a chicken infection model using PCR-based signature-tagged mutagenesis. **Microbiology**, v. 151, n. 12, p. 3957–3968, 1 dez. 2005. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.28126-0>>.

SILVA, M. C. da et al. Prevalência de Salmonella sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 266–268, 23 jul. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000100045&lng=pt&tlng=pt>.

SILVA, P. L. A. P. A. et al. Biofilm Formation in Different Salmonella Serotypes Isolated from Poultry. **Current Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 124–129, 17 jan. 2019. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00284-018-1599-5>>.

SIMON, S. et al. Evaluation of WGS based approaches for investigating a food-borne outbreak caused by Salmonella enterica serovar Derby in Germany. **Food Microbiology**, v. 71, p. 46–54, maio 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002016309194>>.

SPRICIGO, D. A. et al. Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de Salmonella isolados de lingüiça frescal suína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 779–785, dez. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000400003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

STUBER, K. et al. Detection of type III secretion genes as a general indicator of bacterial virulence. **Molecular and cellular probes**, v. 17, n. 1, p. 25–32, fev. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12628591>>.

TACK, D. M. et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2015–2018. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 16, p. 369–373, abr. 2019.

TACK, D. M. et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens

Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2019. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 69, n. 17, p. 509–514, maio 2020.

TANNER, J. R.; KINGSLEY, R. A. Evolution of Salmonella within Hosts. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 12, p. 986–998, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.001>>.

TARABEES, R. et al. Isolation and characterization of Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium from chicken meat in Egypt. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 11, n. 04, p. 314–319, 30 abr. 2017. Disponível em: <<https://jidc.org/index.php/journal/article/view/28459222>>.

TASMIN, R. et al. Genotypic and phenotypic characterization of multidrug resistant Salmonella Typhimurium and Salmonella Kentucky strains recovered from chicken carcasses. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. e0176938, 8 maio 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0176938>>.

TEJADA, T. et al. DNA Profiles of Salmonella Spp. Isolated from Chicken Products and From Broiler and Human Feces. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 18, n. 4, p. 693–700, dez. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-635X2016000400693&lng=en&tlng=en>.

VAN DEN BERG, R. R. et al. Characterization and whole genome sequencing of closely related multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Heidelberg isolates from imported poultry meat in the Netherlands. **PLoS ONE**, v. 14, n. 7, p. 1–20, 2019.

VAN DER GAAG, M. A. et al. A state-transition simulation model for the spread of Salmonella in the pork supply chain. **European Journal of Operational Research**, v. 156, n. 3, p. 782–798, ago. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377221703001413>>.

WALKER, T. M. et al. Whole-genome sequencing to delineate Mycobacterium tuberculosis outbreaks: a retrospective observational study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 2, p. 137–146, fev. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309912702773>>.

WEBBER, B. et al. Detection of virulence genes in Salmonella Heidelberg isolated from chicken carcasses. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652019005000218&tlng=en>.

WHO. **Estimating the burden of foodborne diseases: A practical handbook for countries**. [s.l.: s.n.]

WILLE, T. et al. SiiA and SiiB are novel type I secretion system subunits controlling SPI4-mediated adhesion of Salmonella enterica. **Cellular Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 161–178, fev. 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12222>>.

YOO, A. Y. et al. Role of sigma factor E in regulation of Salmonella Agf expression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 430, n. 1, p. 131–136, jan. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X12021857>>.

ZEINER, S. A.; DWYER, B. E.; CLEGG, S. FimA, FimF, and FimH Are Necessary for

Assembly of Type 1 Fimbriae on Salmonella enterica Serovar Typhimurium. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 9, p. 3289, set. 2012.

ZERO, R. C.; RODRIGUES, J. D. O. Salmonella: Riscos, Transmissão E Controle Na Cadeia De Produção Suína - Revisão Da Literatura. **Nucleus Animalium**, v. 9, n. 1, p. 129–141, 2017.

ZOU, M.; KEELARA, S.; THAKUR, S. Molecular Characterization of Salmonella enterica Serotype Enteritidis Isolates from Humans by Antimicrobial Resistance, Virulence Genes, and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 3, p. 232–238, mar. 2012. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2011.1012>>.

ANEXOS

Tabela Suplementar 1. Origem e sorovares dos 27 isolados de *Salmonella* utilizados nas análises genômicas e fatores de virulência por meio da bioinformática.

Isolado	Laboratório	Abatedouro	Granja	Sorovar	Referência
MG01	INSPOA	Ponte Nova - MG	Piranga - MG	Derby	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG02	INSPOA	Ponte Nova - MG	Piranga - MG	Derby	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG03	INSPOA	Ponte Nova - MG	Piranga - MG	Derby	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG04	INSPOA	Ponte Nova - MG	Piranga - MG	Derby	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG05	INSPOA	Ponte Nova - MG	Urucânia - MG	Give	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG06	INSPOA	Ponte Nova - MG	Urucânia - MG	Give	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG07	INSPOA	Ponte Nova - MG	Raul Soares - MG	Cerro	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG08	INSPOA	Ponte Nova - MG	Raul Soares - MG	Cerro	(DE AZEVEDO et al., 2021)
MG09	INSPOA	Ponte Nova - MG	Raul Soares - MG	Cerro	(DE AZEVEDO et al., 2021)
PR01	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 1	Typhimurium	(VIANA et al., 2020)
PR02	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 3	Bredeney	(VIANA et al., 2020)
PR03	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 3	Bredeney	(VIANA et al., 2020)
PR04	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 4	Bredeney	(VIANA et al., 2020)
PR05	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 4	Bredeney	(VIANA et al., 2020)
PR06	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 6	London	(VIANA et al., 2020)
PR07	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 8	I 4,[5],12:i:-	(VIANA et al., 2020)
PR08	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 10	I 4,[5],12:i:-	(VIANA et al., 2020)
PR09	INSPOA	Itaipulândia - PR	Região Oeste 10	Bovismorbificans	(VIANA et al., 2020)
SP01	UNESP	Lençóis Paulista/SP	Quatiguá - PR	Typhimurium	(POSSEBON et al., 2020)
SP02	UNESP	Lençóis Paulista - SP	Quatiguá - PR	I 4,[5],12:i:-	(POSSEBON et al., 2020)
SP03	UNESP	Cerqueira César - SP	Cerqueira César - SP	I 4,[5],12:i:-	(POSSEBON et al., 2020)
SP04	UNESP	Cerqueira César - SP	Cerqueira César - SP	Panamá	(POSSEBON et al., 2020)
SP05	UNESP	Cerqueira César - SP	Cerqueira César - SP	Panamá	(POSSEBON et al., 2020)
SP06	UNESP	Cerqueira César - SP	Cerqueira César - SP	Panamá	(POSSEBON et al., 2020)
SP07	UNESP	Suzano - SP	Juquiá - SP	Typhimurium	(POSSEBON et al., 2020)
SP08	UNESP	Suzano - SP	Rondinha - RS	Infantis	(POSSEBON et al., 2020)
SP09	UNESP	Suzano - SP	Rondinha - RS	Typhimurium	(POSSEBON et al., 2020)

Tabela suplementar 2. Identificação dos 142 genes de virulência investigados nos isolados de *Salmonella*

Estrutura	Gene	Acesso NCBI	Função
	avrA	QKX35995.1	T3SS effector protein-regulator of <i>Salmonella</i> -induced inflammatory response
	hilA	QVZ52849.1	Invasion genes transcription activator
	hilD	QKX36004.1	Regulatory helix-turn-helix proteins, araC family
	iacP	CP055130.1	Acyl carrier protein
	invA	QKX36025.1	Secretory apparatus of type III secretion system
	invB	LT904777.2	Secretory proteins; surface presentation of antigens protein SPAK
	invE	QKG16282.1	Invasion protein
	invH	QKX36028.1	Needle complex outer membrane lipoprotein precursor
	invI	CP075134.1	Surface presentation of antigens
SPI-1	orgA	QWO08749.1	Needle complex assembly protein
	prgI	UAI72010.1	type III secretion system apparatus
	prgK	CBW18949.1	type III secretion system apparatus
	prgH	QKX36003.1	Cell invasion protein
	prgJ	QWV88106.1	Type III secretion system apparatus
	sipA	QOT90037.1	SPI-1 T3SS effector protein-involved in actin bundling and polymerisation leading to epithelial cell invasion and formation of the SCV
	sipB	UAI78481.1	<i>Salmonella</i> invasion protein B
	sipC	UAI78481.1	<i>Salmonella</i> invasion protein C
	sipD	QKW84060.1	Cell invasion protein
	sirA	QKX35133.1	Invasion response-regulator

	sitA	QKG16247.1	Iron transport protein, periplasmic-binding protein
	slrP	QKG14273.1	Type III secretion system effector protein, leucine rich repeat-Acts as a ubiquitin ligase for thioredoxin.
	sopA	QKG15475.1	Secreted effector protein
	sopD	QKX31743.1	T3SS effector protein-involved in bacterial invasion, also promotes secretion or accumulation of fluid
	sopE1	QKX96736.1	T3SS effector protein, invasion-associated secreted protein-by rearranging the actin cytoskeleton and disrupting tight junctions
	sopE2	QVZ99420.1	T3SS effector protein, protein-causes membrane ruffling and disrupts tight junctions
	spaO	QKX36020.1	Surface presentation of antigens protein SpaO
	spaN	CP076092	involved in invasion
	spaR	QKX36017.1	Surface presentation of antigens protein SpaR
	sprB	CP055130.1	Transcriptional regulator
	spiA	<u>QKX34627.1</u>	Survival within macrophage
	sptP	QKX36007.1	T3SS effector protein, Inhibition
	pipB2	QKX35916.1	Secreted effector protein
	ORF242	CP050753.1	Hypothetical transcriptional regulator
	orf408	CP055130.1	Hypothetical ribokinase/regulatory protein
	sifA	QKX34468.1	Lysosomal glycoprotein (lgp)-containing structures, replication in macrophages; SIFA protein
SPI-2	sifB	QKX34818.1	Secreted effector protein
	ssaJ	QKX34641.1	Needle complex inner membrane lipoprotein
	ssaQ	QKX34648.1	Type III secretion system protein
	sseB	QKX35735.1	Translocation machinery component
	sseC	AZR50971.1	Translocation machinery component

	sseL	QJH39726.1	inhibiting the cellular inflammatory pathway
	sseF	QKX34637.1	Secreted effector protein
	ssrA	CP075141.1	protein autophosphorylation
	ssrB	CP055130.1	Transcriptional activator
	ttrC	QIU30231.1	Tetrathionate reductase subunit C
	spiC	<u>QKX34626.1</u>	Secretion system apparatus protein B
	virK	<u>QKX98777.1</u>	cellular response to DNA damage stimulus
	marT	CP055130.1	Hypothetical transcriptional regulator
	mgtC	QKX32566.1	Mg(2+) transport ATPase protein C
SPI-3	misL	QKX32559.1	Hypothetical autotransported protein
	rhuM	QKX32557.1	Hypothetical DNA-binding protein
	sugR	CP055130.1	Hypothetical ATP binding protein
	siiF	CP055130.1	Hypothetical type-I secretion protein
SPI-4	siiA	QJH37300.1	<i>Salmonella</i> intestinal infection
	siiD	AP020332.1	Hypothetical type-I secretion protein
	siiE	CP050753.1	Large repetitive protein
SPI-5	pipD	CP053865.1	Hypothetical secreted peptidase
	sopB	QKX34343.1	Type III secretion system effector protein
SPI-6	pagN	QIU31248.1	Possible outer membrane adhesin
	pagC	QVZ95745.1	involved in bacterial virulence and macrophage survival
SPI-7	pilV	QOT91646.1	Type IV prepilin

	pilR	AXA99246.1	Pilus integral membrane protein
SPI-11	cdtB	QKX98004.1	Putative toxin-like protein
	spvC	QKX36244.1	<i>Salmonella</i> plasmid virulence protein
	spvB	CAB4119131.1	is associated with <i>Salmonella</i> proliferation in macrophages
PL. Virulencia	spvA	QKX36283.1	Virulence protein
	spvD	QKX36287.1	effector SpvD suppresses proinflammatory immune responses
	spvR	QGR44630.1	<i>Salmonella</i> plasmid virulence lysR family regulator
CS54 island	ratB	QOT90299.1	Hypothetical outer membrane protein
	shdA	QOT90300.1	Host colonisation factor
Enterotoxin	stn	CP055130.1	production of enterotoxin
Gifsy-1	gogB	QKX35782.1	Type III secretion system effector protein
Gifsy-2	sodC1	CP041005.1	Bacteriophage encoded superoxide dismutase
Gifsy-3	sspH1	QDG12582.1	Hypothetical protein
	sspH2	QDG11623.1	Type III secretion system effector protein-E3 ubiquitin ligase
Putative virulence	bigA	QDB84918.1	Hypothetical surface-exposed virulence protein
	phoP	QVZ99930.1	Transcriptional regulatory protein PhoP, regulator of virulence determinants
Regulation	phoQ	QKX34475.1	Sensor protein PhoQ, regulator of virulence determinants
	tolC	<u>QKX31975.1</u>	Multidrug efflux pump subunit TolC
	sdiA	<u>QKX35136.1</u>	quorum-sensing genes
Ilhota	entF	QKX33921.1	Enterobactin synthetase component F
	envR	QVZ98086.1	TetR-family transcriptional regulator

	fhuA	QKX33502.1	Ferrichrome-iron receptor
	iroB	QKX35910.1	Hypothetical glycosyltransferase
	leuO	QKX33429.1	Probable activator protein in leuABCD operon
	msgA	QWO06182.1	Hypothetical virulence protein
	oxyR	QKX32887.1	Hydrogen peroxide-inducible regulon activator
	slyA	QKX34673.1	Transcriptional regulator slyA
	srfJ	QKG17706.1	A virulence factor, a glycoside hydrolase family enzyme
	sseK2	QIU29462.1	Type III secretion system effector protein
	sitC	<u>QKX35993.1</u>	<i>Salmonella</i> iron transporter C
	iroN	<u>QKX35914.1</u>	<u>Iron regulatory proteins</u>
	pagK	QWO09615.1	Bacteriophage encoded pagK
	agfA	QVZ95896.1	Major curlin subunit precursor
	bfcC	QKX33340.1	Fimbrial usher protein
	bfcG	QKX33344.1	Fimbrial chaperone
	fimA	QKG14048.1	Type-1 fimbrial protein, a chain precursor
	fimI	QKX33885.1	Major pilin protein
adesão	lpfD	QJH38512.1	Hypothetical fimbrial protein
	pefB	QKX36301.1	Kappa-fimbriae regulatory protein
	pefA	CP050718.1	Plasmid-encoded major fimbrial subunit
	pefD	QKG18138.1	Kappa-fimbriae chaperone protein
	pefI	QKX36307.1	Putative regulatory protein

	safC	QKX33600.1	<i>Salmonella</i> atypical fimbria outer membrane usher
	srgA	CP050718.1	Thiol:disulfide interchange protein dsbA precursor
	srgB	CP040646.1	Outer membrane protein
	srgC	CP050718.1	Porin thermoregulatory protein envY
	staA	CP053702.1	Putative fimbrial protein
	stbD	QKX33689.1	Hypothetical outer membrane usher protein
	stcC	QKG15556.1	Hypothetical fimbrial protein
	steB	QVZ99697.1	Type III secretion system effector protein
	stfE	QKX33508.1	Minor fimbrial subunit stfe (putative minor fimbrial subunit)
	stiC	QOT88273.1	Fimbrial usher
	stjB	QKX33290.1	Fimbrial usher protein
	stm4595	QKX33313.1	Putative fimbrial chaparone protein
	tcfA	QIY48859.1	Fimbrial protein
	lpfA	QKX32446.1	Fimbrial protein
Fimbria	bcfF	CP055130.1	interfere na expressão ou função de outras fímbrias.
	lpfC	QJH38511.1	Encodes fimbrial usher protein
	stdB	QKG16409.1	Probable outer membrane fimbrial usher protein
	stdC	QKX31823.1	Probable fimbrial chaperone protein
Flagelos	flgK	QKX34428.1	gene codes for a hook-associated protein
	flgL	QKX34429.1	gene codes for a hook-associated protein
	fljB	QJH54739.1	mechanism to enable escape from the host immune system

	fliC	<u>QKX35145.1</u>	mechanism to enable escape from the host immune system
	eacI	CP003416.1	Phage EaC protein
	gene8	AY052766.1	Scaffold protein, similar to bacteriophage P22 gp8
	grvA	AF266469.1	Gifsy related virulence gene
	hldD_DT104	AY462995.1	HldD-like protein
	rck	CP003387.1	Resistance to complement killing
	STM14_1441	CP001363.1	Protein of unknown function
	STMMW_34781	FN424405.1	Type II secretion system protein
	SU5_0826	CP003416.1	Outer membrane usher protein HtrE
Outros	sefA	CP000026.1	Fimbrial structural protein
	sefC	CP053702.1	an important step in the <i>Salmonella</i> infection process
	ST313_td	LS997973.1	associated with the virulence and systemic infection in invasive <i>S. Typhimurium</i>
	vexA	AL627283.1	Vi polysaccharide export protein
	vexE	AL627283.1	Vi polysaccharide export protein
	SPI4R	CP053865.1	<u>predicted to encode a type I secretion system</u>
	sefR	CP000026.1	Fimbrial regulator
	stgA	AL627280.1	Probable fimbrial subunit protein
	sieB	CP000026.1	Superinfection exclusion protein [Enterobacteria phage P22]
	stmmw_34781	CP050753.1	Type II secretion system protein